

## Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren - Teilprojekt: Graufäule und Echter Mehltau

**Application of biocontrol agents to regulate diseases on strawberries - Part: Grey Mould and Powdery Mildew**

**FKZ: 06OE354**

**Projektnehmer:**

Forschungsanstalt Geisenheim  
Fachgebiet Phytomedizin  
Von-Lade-Straße 1, 65366 Geisenheim  
Tel.: +49 6722 502-411  
Fax: +49 6722 502-410  
E-Mail: [phyto-sekr@fa-gm.de](mailto:phyto-sekr@fa-gm.de)  
Internet: <http://www.fa-gm.de>

**Autoren:**

Sylla, Justine; Wohanka, Walter; Krüger-Steden, Erika

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz  
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft (BÖLN)

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

**Zuwendungsempfänger:**

Forschungsanstalt Geisenheim  
Fachgebiete Phytomedizin und Obstbau  
Von-Lade-Straße 1  
65366 Geisenheim

**Förderkennzeichen:**

06OE354

**Schlussbericht zum Vorhaben:**

*Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren*  
- *Teilprojekt: Graufäule und Echter Mehltau*

**Laufzeit des Vorhabens:**

15.12.2008 bis 31.12.2011

**Berichtszeitraum:**

15.12.2008 bis 31.12.2011

**Zusammenarbeit mit:**

Julius Kühn Institut  
Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt

## Inhaltsverzeichnis:

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes .....                                                                                          | 3  |
| 1.1. Gesamtziel des Vorhabens .....                                                                                                       | 3  |
| 1.2. Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen .....                                                                            | 3  |
| 1.3. Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele des Vorhabens .....                                                                    | 4  |
| 1.4. Planung und Ablauf des Projekts .....                                                                                                | 4  |
| 1.5. Darstellung vorhandener Schnittpunkte und Synergieeffekte im Verbundprojekt .....                                                    | 6  |
| 1.6. Wissenschaftlicher und technischer Stand .....                                                                                       | 7  |
| 2 Material und Methoden .....                                                                                                             | 14 |
| 2.1. Allgemeine Informationen .....                                                                                                       | 14 |
| 2.2. Laborversuche .....                                                                                                                  | 16 |
| 2.2.1. Dualkulturtests .....                                                                                                              | 16 |
| 2.2.2. Blattscheibentests .....                                                                                                           | 21 |
| 2.2.3. Blütentests .....                                                                                                                  | 23 |
| 2.3. Gewächshausversuche .....                                                                                                            | 24 |
| 2.3.1. Allgemeine Informationen zu den Gewächshausversuchen .....                                                                         | 24 |
| 2.3.2. Graufäule-Versuch I (2009) .....                                                                                                   | 25 |
| 2.3.3. Graufäule-Versuch II (2011) .....                                                                                                  | 27 |
| 2.3.4. Auswertungen der Graufäuleversuche im Gewächshaus .....                                                                            | 29 |
| 2.3.5. Mehltauversuche I + II .....                                                                                                       | 32 |
| 2.4. Freilandversuche .....                                                                                                               | 35 |
| 2.4.1. Allgemeine Informationen zu den Freilandversuchen .....                                                                            | 35 |
| 2.4.2. Graufäule-Versuch I (2010) .....                                                                                                   | 36 |
| 2.4.3. Graufäule-Versuch II (2011) .....                                                                                                  | 42 |
| 3 Ergebnisse .....                                                                                                                        | 45 |
| 3.1. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit von BCAs im Laborversuch .....                                                                      | 45 |
| 3.1.1. Dualkulturtests .....                                                                                                              | 45 |
| 3.1.2. Blattscheibentests .....                                                                                                           | 49 |
| 3.1.3. Blütentests .....                                                                                                                  | 54 |
| 3.2. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit ausgewählter BCAs gegenüber Graufäule und Echten Mehltau unter Gewächshausbedingungen .....         | 54 |
| 3.2.2. Graufäule-Versuch I (2009) .....                                                                                                   | 54 |
| 3.2.3. Graufäule-Versuch II (2011) .....                                                                                                  | 56 |
| 3.2.4. Mehltauversuche I + II (Gewächshaus) .....                                                                                         | 60 |
| 3.3. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit ausgewählter BCAs gegenüber Graufäule unter Freilandbedingungen .....                               | 62 |
| 3.3.1. Graufäule-Versuch I (2010) .....                                                                                                   | 62 |
| 3.3.2. Graufäule-Versuch II (2011) .....                                                                                                  | 72 |
| 3.4. Diskussion der Ergebnisse .....                                                                                                      | 78 |
| 3.5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse .....  | 83 |
| 4 Zusammenfassung .....                                                                                                                   | 85 |
| 5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und Hinweise auf weiterführende Fragestellungen ..... | 86 |
| 6 Literaturverzeichnis .....                                                                                                              | 88 |
| 7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt ...                               | 93 |
| ANHANG .....                                                                                                                              | 96 |

# **1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes**

## ***1.1. Gesamtziel des Vorhabens***

Wichtige Krankheitserreger der Erdbeere können im ökologischen Anbau nur sehr begrenzt mit chemischen Pflanzenschutzmitteln bekämpft werden. Neben kulturtechnischen Maßnahmen und einer zielgerichteten Sortenwahl kommt somit dem Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln, insbesondere mikrobiologischen Präparaten, eine besondere Bedeutung zu.

In verschiedenen Forschungsprojekten bzw. Forschungszentren (z.B. BLE-Projekt 02OE093 "Biologische Regulierung von bodenbürtigen *Phytophthora*-Krankheiten an Erdbeeren", SafeCrop-Centre, S.'Michele, Trentino, Italien) wurde intensiv der Einsatz von Mikroorganismen zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren bearbeitet. Allerdings konzentrierten sich die Arbeiten meist nur auf einen Schaderreger bzw. auf wenige antagonistische Mikroorganismen. Der mögliche Einfluss auf einen Schaderregerkomplex und die Interaktionen verschiedener Mikroorganismen untereinander wurden nicht berücksichtigt.

Meist treten an Erdbeerkulturen mehrere Schaderreger gleichzeitig auf, so dass auch verschiedene Regulierungsmaßnahmen gleichzeitig durchgeführt werden müssen. Wünschenswert wären klare Empfehlungen für einen kombinierten Einsatz von mikrobiellen Pflanzenstärkungsmitteln einerseits und möglichen Wechselwirkungen mit den verschiedenen Präparaten auf organischer und anorganischer Basis andererseits. Dies wird auch von den Herstellern mikrobiologischer Produkte gefordert (Junge 2008). Hauptziel des Forschungsprojektes ist die Entwicklung von Applikationssystemen, die für eine optimierte Schaderregerregulierung bei Erdbeeren im ökologischen Anbau geeignet sind.

## ***1.2. Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen***

Wichtiges Hemmnis bei der Umstellung zum ökologischen Anbau von Erdbeeren und dessen Flächenausweitung ist unter anderem die Befürchtung der Obstbauern vor erhöhten Ertragsausfällen durch Krankheiten und Schädlinge. Die Erarbeitung von Konzepten zur Regulierung von Schaderregern kann somit dazu beitragen, die Rahmenbedingungen für eine weitere Stärkung und Ausdehnung des ökologischen Erdbeeranbaus dauerhaft zu verbessern. Das Forschungsprojekt leistet somit einen wichtigen Beitrag für die Ertrags- und Qualitätssicherung im biologischen Erdbeeranbau.

### ***1.3. Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele des Vorhabens***

Hauptziel des beantragten Forschungsprojektes war die Entwicklung von Applikationssystemen für mikrobiologische Präparate, die für eine optimierte Schaderregerregulierung bei Erdbeeren im ökologischen Anbau geeignet sind. Im Einzelnen sollten folgende Fragen bearbeitet werden:

- Können Echter Mehltau und die Grauschimmelfäule der Erdbeere mit mikrobiologischen Präparaten (Pflanzenstärkungs- und Pflanzenschutzmittel) effektiv reguliert werden?
- Beeinflussen (positiv wie negativ) solche Präparate unter Umständen das Auftreten anderer Schaderreger?
- Gibt es Wechselwirkungen zwischen den ausgebrachten Nutzorganismen und der indigenen Phyllosphärenmikroflora?
- Können mikrobiologische Präparate so kombiniert werden, dass ein Schaderregerkomplex effektiv reguliert werden kann?

### ***1.4. Planung und Ablauf des Projekts***

Das Projekt begann am 1.12.2008 mit vorbereitenden Arbeiten zur Durchführung der Labortests. Im Projektjahr 2009 lag der Schwerpunkt der Arbeiten auf Labortests zur Wirkung und zur Kompatibilität der Mikroorganismen. In den Projektjahren 2010 und 2011 wurden insbesondere Gewächshausversuche zur Erfassung von Interaktionen im Komplex "Präparat-Schaderreger-Wirtspflanze" durchgeführt. Außerdem wurden in diesen Jahren auch erste Freilandversuche in Geisenheim durchgeführt. In 2011 wurden einige mikrobiologische Präparate auch in einem Praxisversuch eingesetzt. Schließlich erfolgten 2011 noch die Endauswertung und die Erstellung des Abschlussberichtes. Wegen der vor allem witterungsbedingten Probleme bei der Durchführung der Freilandversuche erschien eine Wiederholung in 2012 sinnvoll und wünschenswert. Im Mai 2011 wurde deshalb bereits ein Antrag auf Projektverlängerung gestellt, der im August 2011 für die Haushaltsjahre 2012 und 2013 bewilligt wurde.

**Tabelle 1: Zeitlicher Ablaufplan für das Projekt von 2008 bis 2011**

| zeitliche Arbeitsplanung                                                     | 2008 |   |   |   | 2009 |   |   |   | 2010 |   |   |   | 2011 |   |   |   |
|------------------------------------------------------------------------------|------|---|---|---|------|---|---|---|------|---|---|---|------|---|---|---|
|                                                                              | 1    | 2 | 3 | 4 | 1    | 2 | 3 | 4 | 1    | 2 | 3 | 4 | 1    | 2 | 3 | 4 |
| Wirksamkeitstests (Labor)                                                    |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Kompatibilität versch. Mikroorganismen<br>in vitro<br>ad planta              |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Interaktionen "Präparat-Schaderreger-<br>Wirtspflanze" (Gewächshausversuche) |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Wirksamkeit - Freilandversuche                                               |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Erprobung unter Praxisbedingungen                                            |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Endauswertung und Endbericht                                                 |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |
| Meilensteine                                                                 |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |      |   |   |   |

**Meilensteine:**

**M1:** Auswahl von Präparaten für weitergehende Versuche auf der Basis der Wirksamkeitsprüfungen *in vitro*

**M2:** Bewertung der Kompatibilität verschiedener Mikroorganismen bzw. Präparate oder anderer Pflanzenschutz- bzw. Stärkungsmittel zur Planung der Gewächshaus- und Freilandversuche

**M3:** Ergebnisse der Freilandversuche zur Erstellung eines Applikationssystems für die abschließende Anwendung in Praxisbetrieben

**M4:** Endauswertung und Endbericht

Labortests zur Wirksamkeit mikrobiologischer Präparate

Im Agar-Platten-Test (gegen *Botrytis cinerea*) bzw. an abgetrennten Erdbeerblättern oder Blüten (gegen *Podosphaera aphanis*) sollten mehrere Mikroorganismen im Laborversuch getestet werden, gegebenenfalls weitere Mikroorganismen oder Präparate, die sich noch in der Entwicklung befinden.

Kompatibilität ausgewählter Mikroorganismen und Präparate

In Absprache mit dem Projektpartner JKI sollte in weiteren Untersuchungen geprüft werden, in welcher Form wirksame Präparate untereinander kombinierbar sind. In *in vitro* Tests (Dualkultur) sollte die gegenseitige Hemmung ausgewählter Präparate untersucht und in *ad planta* Versuchen sollten Präparatkombinationen auf ihre Wirksamkeit hin geprüft werden. Diese *ad planta* Tests sollten an ganzen Pflanzen (Gewächshausversuche) und an abgetrennten Pflanzenteilen (Blätter, Früchte) durchgeführt werden.

### Interaktionen im System „Präparat-Schaderreger-Wirtspflanze“

In Labor- und Gewächshausversuchen sollte der Einfluss (positiv wie negativ) eines Präparates auf den Schaderreger und bestimmte Begleitschaderreger an der Wirtspflanze untersucht werden. Als Begleitschaderreger wurden die Schaderreger bezeichnet, die nicht direkt von dem Präparat reguliert werden sollten.

### Wirksamkeit ausgewählter Präparate im Freiland

An mehreren Standorten (Geisenheim; Verbundpartner: Weinsberg, Köln-Auweiler) sollte die Wirksamkeit ausgewählter Präparate bzw. Kombinationen im Freiland untersucht werden. Neben der Graufäule und dem Echten Mehltau sollten über den Vegetationsverlauf die Entwicklung weiterer Krankheiten und Schädlinge sowie das Nachernteverhalten dokumentiert werden. Außerdem sollte mindestens an einem Standort mit molekularbiologischen Methoden ein möglicher Einfluss der Behandlung auf die natürliche Phyllosphärenflora (z.B. genetic fingerprinting) und den Verbleib der ausgebrachten Mikroorganismen dokumentiert werden. Diese Versuche sollten über zwei Vegetationsperioden durchgeführt werden.

### Erprobung unter Praxisbedingungen

Basierend auf den Ergebnissen der Teilziele sollte ein Applikationsschema für mikrobiologische Produkte erarbeitet und an mehreren Standorten mit unterschiedlichem Schaderregerdruck angewendet werden. Neben dem Ertrag und dem Nachernteverhalten sollte in diesen Versuchen auch der jeweilige Schaderregerkomplex über den Vegetationsverlauf erfasst werden.

## ***1.5. Darstellung vorhandener Schnittpunkte und Synergieeffekte im Verbundprojekt***

Im Rahmen von vier BÖL-Projektanträgen zum ökologischen Erdbeeranbau sollten Strategien zur Regulierung von Schaderregern im Erdbeeranbau erarbeitet werden. Im Bioland/Föko-Projekt (FKZ 06OE148) stand der Freilandanbau im Vordergrund, hingegen konzentrierte sich das Projekt der Landwirtschaftskammer NRW (FKZ 06OE262) auf den geschützten Erdbeeranbau. Das JKI/FAG Projekt "Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren" mit ihren Teilprojekten „Bodenbürtige Krankheitserreger“

(JKI, FKZ 06OE155) und "Graufäule und Echter Mehltau" (Forschungsanstalt Geisenheim, FKZ 06OE354) befasste sich mit der Anwendbarkeit mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Schaderregerkomplexen. Das von JKI und FAG gemeinsam getragene Projekt sollte beiden anderen Projekten (FKZ 06OE148 und FKZ 06OE262) Empfehlungen zur Integration mikrobiologischer Präparate in Freiland- und Gewächshauskulturen geben. Die Einbeziehung dieser Empfehlungen in die Versuche der übrigen Projektpartner stellten wiederum wichtige Entscheidungshilfen für die Umsetzbarkeit der Versuchsergebnisse dar. Unter Einbeziehung der Produzenten/Vertreiber mikrobiologischer Produkte, der Erdbeeranbauer und des beratenden Dienstes wurden im Rahmen von Verbundtreffen die erzielten Ergebnisse diskutiert und Versuchsansätze abgestimmt um eine praxisnahe Umsetzbarkeit der Versuchsergebnisse zu gewährleisten.

### ***1.6. Wissenschaftlicher und technischer Stand***

Erdbeeren stellen für den Verbraucher nach dem Apfel die beliebteste Frucht der Deutschen dar. Sie sind reich an Inhaltsstoffen, sind aber auch leicht verderblich und anfällig für Pilzkrankheiten. Pilzliche Krankheitserreger kommen sowohl an der Frucht, am Blatt wie an unterirdischen Pflanzenteilen vor. Mangels wirksamer Alternativen beschränkt man sich im ökologischen Erdbeeranbau bei Regulierung von Schaderregern vornehmlich auf pflanzenbauliche Maßnahmen und die Wahl weniger anfälliger Sorten. So wird z.B. versucht, über die Reduktion des organischen Düngereinsatzes oder veränderte Standweiten die Anfälligkeit gegenüber pilzlichen Krankheitserregern zu reduzieren (Zimmer 2008). Grundsätzlich wäre auch der Einsatz von mikrobiologischen Präparaten (BCAs = biocontrol agents) bei Erdbeeren möglich. Zahlreiche kommerzielle und semi-kommerzielle BCAs sind für verschiedene Krankheiten und Schädlinge an Erdbeere verfügbar (Moser et al. 2008).

In der Praxis beobachtet man jedoch eine geringe Akzeptanz der BCAs. Einer umfassenden Studie zufolge (Moser et al. 2008) sind es vor allem drei Gründe, die dem Einsatz von BCAs aus der Sicht der Anbauer entgegenstehen: a) unzureichende Befallsreduzierung, b) hohe Empfindlichkeit gegenüber Witterungsbedingungen und c) zeitspezifische Applikation.

Da im vorgesehenen Teilprojekt spezifisch die Graufäule und der Echte Mehltau an Erdbeeren untersucht werden sollten, wird im Folgenden der Stand des Wissens für die biologische Bekämpfung dieser besonders wichtigen Erdbeerkrankheiten erläutert.

Die **Graufäule** (Erreger: *Botrytis cinerea* (Pers.)) zählt weltweit zu den wichtigsten Krankheiten der Erdbeere und führt besonders im ökologischen Anbau zu gravierenden Ertragseinbußen. Die typische Fruchtfäule beginnt meist mit einer Infektion der Blüte. Die alternden Blütenblätter scheinen besonders empfindlich. Erst bei zunehmender Fruchtreife erfolgt dann die typische Fäulnis- und Grauschimmelbildung. Später kommt es oft durch direkten Kontakt mit bereits befallenen Organen und bei entsprechenden kleinklimatischen Bedingungen zu einer raschen Ausbreitung im gesamten Blüten- bzw. Fruchtstand. Spätinfektionen können dazu führen, dass die Fäulnis erst auf dem Weg zum oder beim Konsumenten auftritt. Von Bedeutung sind auch die Besiedlung abgestorbener Pflanzenteile und die darauf stattfindende, oft sehr starke Sporulation. Auf dem abgestorbenen Pflanzenmaterial erfolgt im Wesentlichen die Überwinterung des Schaderregers. Eine umfassende Darstellung zur Biologie und Pathogenese von *Botrytis cinerea* ist dem Werk von Elad et al. (2004) zu entnehmen.



**Abbildung 1:** Charakteristische Symptome an Erdbeeren verursacht durch *B. cinerea*.  
A: Abgestorbene Erdbeerblüte bei hohem Pathogendruck. B: Graufäule an einer Frucht im Bestand. C: Graufäule auf geernteten Früchten

Im ökologischen Erdbeeranbau sind keine Pflanzenschutzmittel gegen die Graufäule zugelassen. Zur Befallsregulierung kommen deshalb in erster Linie kulturtechnische Maßnahmen zum Einsatz (z.B. weiter Stand, Strohunterlage, Sortenwahl, Entfernen von Infektionsquellen wie alte Blätter, usw.). Als besonders wichtige Maßnahme wird ein im Vergleich zum konventionellen Anbau deutlich weiterer Pflanzenabstand mit besserer Bestandesdurchlüftung angesehen. Dies hat jedoch eine geringere Flächenproduktivität zur Folge (Legard et al. 2000). Eine Befalls reduzierende Veränderung der kleinklimatischen Bedingungen lässt sich auch durch den Anbau in Folientunneln erreichen (Xiao et al. 2001; Evenhuis and Wanten 2006), ohne Einbußen bei der Flächenproduktivität in Kauf nehmen zu müssen.

Das Entfernen des abgestorbenen Laubes und vor allem das kontinuierliche Auspflücken befallener Früchte bedeuten einen enormen arbeitswirtschaftlichen Nachteil des ökologischen Anbaues von Erdbeeren. Es gibt erheblich Sortenunterschiede in der Anfälligkeit der Erdbeeren gegenüber *Botrytis cinerea* (Daugaard and Lindhard 2000); allerdings stehen Sorten mit vollständiger Resistenz gegen die Graufäule nicht zur Verfügung. Die weniger anfälligen Sorten entsprechen nicht immer den Markterfordernissen, so dass eine gezielte Sortenwahl zur Reduzierung der Graufäule nur bedingt möglich ist. Eine weitere Möglichkeit zur Reduzierung der Graufäule wäre der Einsatz von Pflanzenstärkungsmitteln einschließlich mikrobiologischer Präparate. Zahlreiche Präparate bzw. Isolate wurden bereits gegen *Botrytis cinerea*, insbesondere auch an Erdbeere, getestet (Elad and Stewart 2004; Sesan 2006). Helbig and Bochow (2001) berichten über eine Reduktion (16-40 %) des Graufäulebefalls in Freilandbeständen durch *Bacillus subtilis* an reifen Früchten. Nach Helbig (2001) bewirkte *Paenibacillus polymyxa* eine Befallsreduzierung um 24 bis 36 %. Auch mit *Cryptococcus albidus* erzielte Helbig (2002) eine vergleichbare Befallsreduzierung. Tanovic et al. (2008) erreichten Wirkungsgrade von 40,3 bzw. 4,5 % mit 'Polyversum' (*Pythium oligandrum*) bzw. 'F-stop' (*Bacillus subtilis*). Der hefeähnliche Pilz *Aureobasidium pullulans* reduzierte das Wachstum von *B. cinerea* auf Erdbeerfrüchten signifikant und verzögerte die Entwicklung des Pathogens auf gelagerten Früchten, die zuvor mit dem BCA behandelt wurden (Adikaram et al. 2002). Freeman et al. (2004) konnten nachweisen, dass verschiedene Stämme von *Trichoderma harzianum* im Gewächshaus wirksam gegenüber *B. cinerea* waren. Auch Kovach et al. (2000) erzielten mit einem spezifischen Stamm ("1295-22") von *Trichoderma harzianum* eine gute Wirkung gegen die Graufäule, insbesondere, wenn die Verteilung der *Trichoderma*-Sporen mit Hummeln oder Bienen erfolgte.

Hinsichtlich der Nacherntebehandlung wird ebenfalls versucht, auf ökologische Produkte zurückzugreifen. So wurden ätherische Öle von Thymian erfolgreich gegen Grauschimmelbefall bei der Lagerung eingesetzt (Nabigol and Morshedi 2011). Antifungale Wirkung gegen Graufäule konnte auch für verschiedene Arten des Iranischen Bohnenkrauts (*Satureja khuzistanica*) nachgewiesen werden (Nabigol 2011). Das Öl dieser Pflanze zeigte die beste Wirkung in der Nacherntebehandlung und konnte das Auftreten von Graufäule nach der Ernte signifikant verringern.

Der **Echte Mehltau** (Erreger: *Podosphaera aphanis* (Wallr.)) hat als Schaderreger an Erdbeeren stark an Bedeutung gewonnen, insbesondere durch den zunehmenden Anbau im Tunnel (Parikka 2004; Dodgson et al. 2008). Während *P. aphanis* im Freiland oftmals keine signifikanten Ertragseinbußen verursacht (Maas 1984; Xiao et al. 2001; Carisse and Bouchard 2010), können im geschützten Erdbeeranbau erhebliche Schäden auftreten, die sowohl Ertrag als auch Fruchtqualität beeinträchtigen können. Der starke Mehltaubefall im Tunnel ist mit dem fehlenden Niederschlag und den für *P. aphanis* günstigen klimatischen Bedingungen (z.B. hohe Luftfeuchtigkeit, verringerte Lichtintensität) korreliert (Xiao et al. 2001; Amsalem et al. 2006).

Auffällige Symptome des Echten Mehltau an Erdbeeren sind der typische, pudrige Mehltaubelag auf den Blättern (Abb. 2A und 2B) sowie die nach oben gerollten Blätter (Abb. 2C). Mit fortschreitendem Befall können rötlich-violette Flecken auf der Blattunterseite sichtbar werden. Aber auch Blüten (Abb. 2D) und Früchte können besiedelt und geschädigt werden. Überwiegend entstehen die Ertragseinbußen jedoch durch eine allgemeine Schwächung der Pflanze und der damit verbundenen geringeren Blüten- und Fruchtentwicklung.



**Abbildung 2:** Charakteristische Symptome des Erdbeermehltaus. A: Kolonien des Echten Mehltaus auf Erdbeerblättern B: Dichter Mehltaubelag auf Erdbeerblättern, C: Aufrollen der Blätter, D: Erdbeerblüte mit Befall durch *P. aphanis*

Zur direkten Bekämpfung des Echten Mehltau an Erdbeeren ist für den ökologischen Anbau außer Schwefel kein Pflanzenschutzmittel zugelassen (Trapp 2011). Es gibt keine Erdbeersorten mit vollständiger Resistenz gegen diesen Erreger, die gleichzeitig resistent gegenüber anderen, wichtigen Schaderregern sind sowie zufriedenstellende Fruchtqualitäten aufweisen (Pertot et al. 2008). Deshalb stehen auch hier bislang die kulturtechnischen Maßnahmen im Vordergrund. Das Entfernen (Abmähen) des Erdbeerlaubes im Herbst hat nur eine begrenzte Wirkung und ist je nach Anbauform nicht immer möglich.

Im Folientunnel werden vor allem die Ausläufer befallen (Vukovitz 1980; Xiao et al. 2001), die bei fehlenden sonstigen Gegenmaßnahmen aufwändig von Hand entfernt werden müssen, um ein Übergreifen des Pilzes auf die Ertragspflanzen und die heranreifenden Früchte zu vermeiden. Neben diesen eher kulturtechnischen Maßnahmen können gegen den Echten Mehltau an Erdbeere auch Behandlungen mit z.B. Na-Bicarbonat, Blattextrakten (z.B. aus *Reynoutria sachalinensis*) oder mikrobiologischen Präparaten durchgeführt werden.

Der wohl bekannteste mikrobielle Antagonist ist der Hyperparasit *Ampelomyces quisqualis*, mit dem an verschiedenen Kulturen gegen verschiedene Arten des Echten Mehltau gute Wirkungen erzielt werden konnten (Elad et al. 1996; Elad et al. 1998; Elad 2000; Kiss 2003; Romero et al. 2003; Kiss et al. 2004). In einer Studie von Pertot et al. (2008) zeigten Behandlungen mit *Ampelomyces quisqualis*, *Bacillus subtilis* und *Trichoderma harzianum* im geschützten Anbau von Erdbeeren deutliche Wirkungen, die jedoch nicht denen einer chemischen Behandlung entsprachen. Untersuchungen von De Cal et al. (2008) zeigten, dass auch die Applikation von *Penicillium oxalicum* eine wirksame Reduzierung des Echten Mehltau an Erdbeeren ermöglicht.

Trotz der viel versprechenden Ergebnisse zur Wirkung von antagonistischen Mikroorganismen bzw. mikrobiologischen Präparaten gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis*, wird auch von unzureichenden Wirkungen der BCAs berichtet, insbesondere unter Freilandbedingungen (Fravel 2005; Prokkola and Kivijärvi 2007). Die schwankenden Behandlungserfolge im Freiland können verschiedene Ursachen haben. Einerseits fehlen umfassende Kenntnisse über die Kompatibilität von BCAs mit anderen BCAs sowie Pflanzenstärkungsmitteln und biologischen Pflanzenschutzmitteln. Andererseits können abiotische Faktoren die Etablierung, die Aktivität sowie das Überleben der ausgebrachten Mikroorganismen und damit den Behandlungserfolg wesentlich beeinträchtigen (Kiss 2003; Kiss et al. 2004; Magan 2004).

Bislang betrachteten die meisten Untersuchungen zur Wirkung von Mikroorganismen gegen Phytopathogene die Wirkung der Applikation eines einzelnen Präparates (Mikroorganismus) und berücksichtigten nicht mögliche **Wechselwirkungen** mit anderen Präparaten oder sonstigen Pflanzenschutzmaßnahmen. Entsprechend wenig ist über die kombinierte Anwendung mikrobiologischer Präparate untereinander oder mit anderen Pflanzenstärkungsmitteln bekannt. Dabei kann die Kombination verschiedener Mikroorganismen

z.B. durch die Erfassung unterschiedlicher Entwicklungsstadien des Zielorganismus zu einer besseren Wirkung führen als die Applikation der einzelnen Produkte (Elad et al. 1994). Aber auch andere Wechselwirkungen sind möglich. So können sich bestimmte nützliche Mikroorganismen in ihrer Fähigkeit zur Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen oder durch verschiedene Wirkmechanismen ergänzen (Guetsky et al. 2001; Guetsky et al. 2002a; Guetsky et al. 2002b; Elad and Stewart 2004). Robinson-Boyer et al. (2009) berichten jedoch auch von antagonistischen Wechselwirkungen bei einer kombinierten Anwendung der Präparate 'Serenade<sup>TM</sup>' (*Bacillus subtilis*), 'Trianum<sup>TM</sup>' (*Trichoderma harzianum* Rifai T22) und 'Sentinel<sup>TM</sup>' (*Trichoderma atroviride*) gegen *B. cinerea* in Tests an Blättern sowie an ganzen Erdbeerpflanzen. Wenig Beachtung fanden bislang auch **Neben- oder Wechselwirkungen** von BCAs mit anderen Krankheiten bzw. Schädlingen oder Nützlingen. Die Literaturrecherche ergab nur eine Veröffentlichung zu dieser Thematik. Pertot et al. (2008) beobachteten keinerlei Auswirkungen des Einsatzes von *Ampelomyces quisqualis*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* T39 auf die Entwicklung von Spinn- oder Raubmilben.

Es gibt außerdem nur wenige Untersuchungen zur **Etablierung** der ausgebrachten antagonistischen Mikroorganismen in der Phyllosphäre, insbesondere unter Freilandbedingungen und wenn mögliche Wechselwirkungen bei einer kombinierten Behandlung von mehreren BCAs zu erwarten sind. Guetsky et al. (2002b) berichten über das Überleben von *Bacillus mycoides* und *Pichia guilhermondii* auf Erdbeerblättern sowie auf Erdbeerfrüchten im Gewächshaus. Die Bestimmung der Lebendkeimzahlen ergab, dass die Populationsgröße der ausgebrachten Mikroorganismen auf den Blättern nach zwei Tagen unverändert, nach fünf Tagen auf 1/50 und nach 19 Tagen auf 1/500 gesunken war.

Eine kombinierte Anwendung von *Bacillus mycoides* und *Pichia guilhermondii* zeigte hinsichtlich ihrer Überlebensraten keine signifikanten Abweichungen zu den Einzelbehandlungen. Eine weitere Untersuchung zeigte, dass unter Gewächshausbedingungen Populationen von *Trichoderma atroviride* auf Erdbeerblättern innerhalb von sieben Tagen von  $3 \times 10^5$  auf  $1 \times 10^1$  KBE pro mm<sup>2</sup> sanken (Longa et al. 2008). Über die Etablierung von ausgebrachten BCAs unter Freilandbedingungen liegen jedoch keine Veröffentlichungen vor.

Studien zur Struktur von Mikroorganismengesellschaften, die auch nicht kultivierbare Mikroorganismen erfassen (z.B. PCR-DGGE, SSCP) sind relativ zeit- und kostenaufwändig. Seit kurzem sind neue, preisgünstige Sequenziertechniken (**Next-generation sequencing**) wie z.B. die Roche 454-Pyrosequenzierung verfügbar, die ebenfalls für metagenomische Untersuchungen geeignet sind. Mit dieser molekularbiologischen Methode können tausende Arten von Mikroorganismen (einschließlich der nicht kultivierbaren) in einer Probe genomisch erfasst werden (Wooley et al. 2010). Im Vergleich zur herkömmlichen Sanger-Sequenzierung kann die 454-Pyrosequenzierung die gleiche Menge an Sequenzdaten für nur 10 % der Kosten und 0,9 % des Zeitaufwands erzeugen (Jones 2010). Die neuen Sequenziertechniken erlauben die Erfassung von Metagenomen und liefern damit wertvolle Informationen für die gleichzeitige Beantwortung verschiedener Fragestellungen wie z.B. die Etablierung der ausgebrachten BCAs in der Phyllosphäre, mögliche Wechselwirkungen zwischen den BCAs und mögliche Auswirkungen der BCAs auf die Zusammensetzung der indigenen Mikroflora.

Der Einsatz mikrobiologischer Präparate ist nicht nur für den ökologischen Erdbeeraanbau von Bedeutung, sondern könnte auch im konventionellen Anbau an Bedeutung gewinnen. Grund hierfür sind die vermehrten Berichte über das Auftreten von Resistenzen gegenüber Fungiziden. So berichtete Weber (2011), dass eine Vielzahl an *Botrytis*-Isolaten aus Norddeutschland erhebliche Resistenzen gegenüber verschiedenen kommerziellen Botrytiziden aufzeigten (z.B. Fenhexamid, Thiophanat-Methyl, Iprodion). In dieser Studie konnte auch nachgewiesen werden, dass einige Isolate von *B. cinerea* gleichzeitig gegenüber mehreren Fungiziden resistent waren.

## 2 Material und Methoden

### 2.1. Allgemeine Informationen

#### Pflanzenmaterial

Für die Blattscheibentests, die Gewächshaus- und Freilandversuche wurden Erdbeerpflanzen (*Fragaria x ananassa* Duch.) der Sorte 'Elsanta' verwendet. Die Sorte wurde gewählt, da sie die am häufigsten angebaute Sorte in Europa ist und sie gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis* eine moderate Empfindlichkeit zeigt.

Für die Blattscheiben- und Gewächshausversuche wurden Traypflanzen eingesetzt, während für die Freilandversuche getopfte Grünpflanzen verwendet wurden.

#### Biological Control Agents (BCAs)

Für die Labortests hinsichtlich der **Wirksamkeit mikrobiologischer Präparate gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis*** wurden insgesamt 89 BCAs verwendet. Darunter waren alle im Arbeitsplan vorgesehenen Mikroorganismen bzw. Präparate enthalten, mit Ausnahme von *Pythium oligandrum*, das nicht aus dem Produkt 'Polyversum' isoliert werden konnte. Vor dem Hintergrund einer ganzheitlichen Betrachtung von Applikationssystemen bei ökologisch angebauten Erdbeeren und für die Untersuchung von Wechselwirkungen und möglicher Nebeneffekte von mikrobiologischen Präparaten, wurden auch verschiedene entomopathogene Pilze in diese Untersuchungen einbezogen. Für die Laborversuche sollten ausschließlich axenische Mikroorganismen verwendet werden. Daher mussten einige Mikroorganismen zuvor aus den entsprechenden mikrobiologischen Präparaten isoliert werden. Alle BCAs wurden bei -80 °C gelagert. Für die Gewächshaus- und Freilandversuche wurden die BCAs, wenn vorhanden, als Produkt und in den vom Hersteller empfohlenen Konzentrationen bzw. Aufwandmengen verwendet. In den Gewächshausversuchen wurden die verschiedenen Präparate mit 1/8 RINGER-Lösung und in den Freilandversuchen mit Leitungs- und Rheinwasser angesetzt.

Auf Basis der Ergebnisse der Wirksamkeitstests (Labor) erfolgte eine Auswahl von insgesamt zehn Mikroorganismen (oder mikrobiologischen Präparaten) für die **Kompatibilitätsversuche *in vitro*** (Tab. 2) sowie für weiterführende **Untersuchungen im Gewächshaus und Freiland**.

**Tabelle 2:** Liste der ausgewählten BCAs für die Kompatibilitätsversuche im Labor

| <b>Mikroorganismus</b>                                                             | <b>Isoliert aus / zur Verfügung gestellt von</b>                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Ampelomyces quisqualis</i> AQ10                                                 | AQ10 <sup>®</sup> WG/ Intrachem Bio Deutschland GmbH&Co.KG                             |
| <i>Trichoderma harzianum</i> T58                                                   | Trichostar <sup>®</sup> / Gerlach Natürliche Düngemittel GmbH & Co.KG                  |
| <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai T-22                                            | Triatum-P/ Koppert Biological Systems, Berkel en Rodenrijs, NL                         |
| <i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom (DSM No.: 898)                           | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)                          |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud (DSM No.: 62074) (Laborversuche)   | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)                          |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> DSM No.:14940 & DSM No.:14941 (GWH- & Feldversuche) | BoniProtect <sup>®</sup> forte/ Bio-Protect GmbH                                       |
| <i>Metarhizium anisopliae</i> 43                                                   | Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt, Deutschland |
| <i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040                                               | Naturalis <sup>®</sup> / Intrachem Bio Deutschland GmbH& Co.KG                         |
| <i>Bacillus subtilis</i> FZB24                                                     | FZB24 <sup>®</sup> fl./ ABiTEP GmbH                                                    |
| <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42                                            | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl./ ABiTEP GmbH                                            |
| <i>Enterobacter radicincitans</i>                                                  | In der Produktentwicklung/ ABiTEP GmbH                                                 |

## Pathogene

Für die Labor- und Gewächshausversuche wurde ein aus Reben (Oestrich-Winkel, Deutschland) gewonnenes ***Botrytis cinerea***-Isolat der Stammsammlung des Fachgebietes Phytomedizin der Forschungsanstalt Geisenheim verwendet. Das Isolat wurde bei -80 °C gelagert. Für die Versuche wurde das Isolat aufgetaut und auf PDA bei 24 °C in Dunkelheit kultiviert. Das Mehltau-Isolat stammte von natürlich infizierten Erdbeerpflanzen im Jahr 2009 (Katrin Hetebrügge, Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen). Um den obligat biotrophen Schaderreger konservieren zu können, wurden gleichzeitig junge, gesunde Erdbeerpflanzen der Sorte 'Elsanta' mit Echtem Mehltau inokuliert und in einem Kulturraum bei circa 20 °C, 65 % relativer Luftfeuchtigkeit und einer Photoperiode von 12 Std./12 Std. kultiviert. Bei Bedarf wurden die Pflanzen durch neue ersetzt. Somit konnte *P. aphanis* von natürlich infizierten Erdbeerpflanzen aus dem eigenem Gewächshaus isoliert werden.

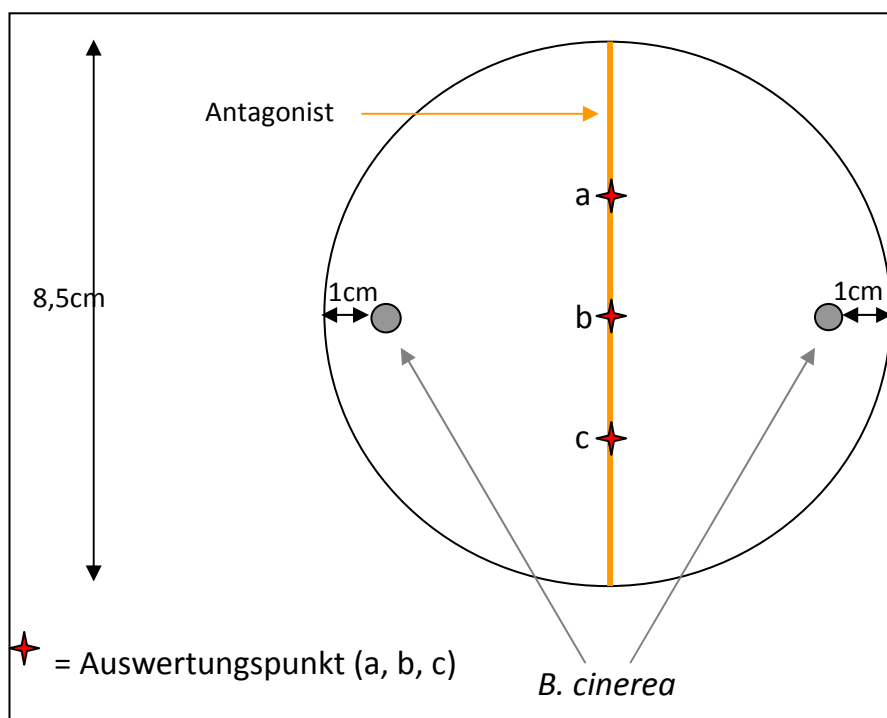
## 2.2. Laborversuche

Für die Labortests (Dualkulturtests, Blattscheibentests und Blütentests) hinsichtlich der **Wirksamkeit von BCAs gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis*** wurden insgesamt 89 Mikroorganismen verwendet. Für die anschließenden Labortests zur **Kombinierbarkeit von antagonistischen Mikroorganismen** (Dualkulturtests und Blattscheibentests) wurden wirksame Mikroorganismen-Isolate, die möglichst auch als Handelsprodukt erhältlich waren, verwendet (siehe Tab. 2).

### 2.2.1. Dualkulturtests

#### Wirksamkeit der BCAs gegenüber *B. cinerea* in vitro:

In Dualkulturtests wurden 67 bakterielle BCAs gegen *B. cinerea* getestet. Hierbei wurden je zwei Myzelstücke von *B. cinerea* (Ø 5 mm) in der Petrischale auf PDA positioniert (siehe Abb. 3). Anschließend wurde das jeweils zu testende antagonistische Bakterium zwischen beiden Myzelstücken in einer geraden Linie ausgestrichen. Die Auswertung erfolgte nach einer 96-stündigen Inkubation (24 °C, dunkel) durch Messung der Hemmzone (cm) an drei Stellen zwischen den Myzelen von *B. cinerea* (Abb. 3 und Abb. 4). Zu diesem Zeitpunkt waren die beiden Myzelen in der Kontrolle zusammengewachsen. Für jede Variante wurden je vier Agar-Platten verwendet und der Versuch wurde vierfach durchgeführt.



**Abbildung 3:** Platzierung von *B. cinerea* und einem bakteriellen Antagonisten im Dualkulturtest auf Agarplatten

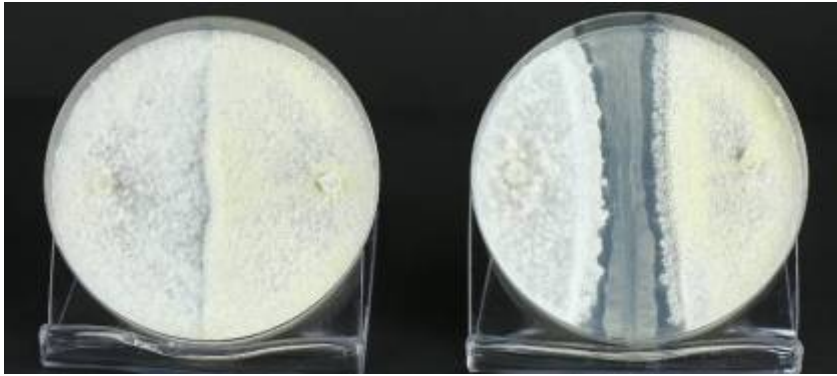


**Abbildung 4:** Ermittlung einer möglichen Hemmwirkung von bakteriellen BCAs gegen *B. cinerea* in Dualkulturtests. Links: Kontrolle. Mitte: Hemmwirkung durch Bakterien. Rechts: Keine Hemmwirkung durch Bakterien

#### Interaktionen von BCAs *in vitro*:

In **vier verschiedenen Dualkulturtestverfahren** wurden mögliche Hemmwirkungen (Antibiose) zwischen den ausgewählten BCA-Isolaten getestet.

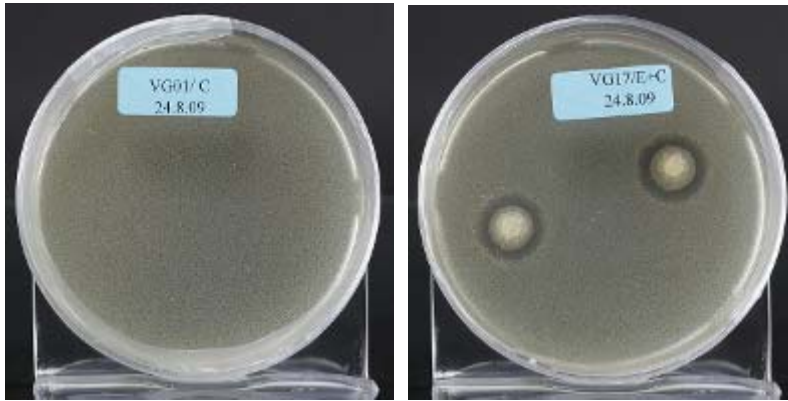
Zur Bestimmung von **Hemmwirkungen antagonistischer Bakterien auf antagonistische Pilze** wurde der bereits beschriebene Test verwendet: Je zwei Myzelstücke eines antagonistischen Pilzes ( $\varnothing$  5 mm), zuvor für sechs bis acht Tage auf PDA bei 24 °C kultiviert, wurden in einer Petrischale auf PDA und 0.1 TSA platziert. Die zu testenden Bakterien wurden aus 48-stündigen Kulturen entnommen und jeweils zwischen den beiden Myzelstücken ausgestrichen (siehe Abb. 3). Auf den Kontrollplatten wurden keine Bakterien ausgebracht. Pro Variante wurden je sechs Agar-Platten beimpft und bei 24 °C im Dunkeln inkubiert. Die Auswertung erfolgte, wenn die Myzele in der entsprechenden Kontrollvariante zusammengewachsen waren. Gemessen wurde der Abstand zwischen den Myzelen der antagonistischen Pilze an drei Stellen (Abb. 3 und 5). Der Versuch wurde zweifach durchgeführt.



**Abbildung 5:** Dualkulturtest zur Untersuchung einer möglichen hemmenden Wirkung von bakteriellen BCAs auf antagonistische Pilze. Links: Kontrolle. Rechts: Hemmwirkung durch Bakterien

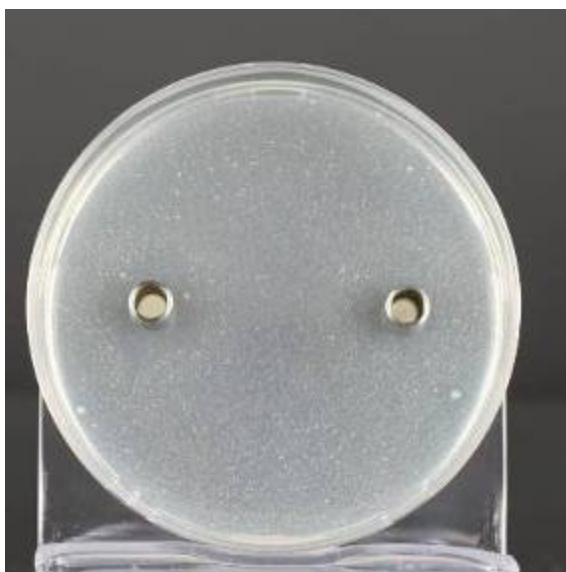
Zur Bestimmung von **Hemmwirkungen antagonistischer Pilze auf antagonistische Bakterien** bzw. **antagonistischer Bakterien auf andere antagonistische Bakterien** wurden die Nährmedien (PDA und 0.1 TSA) nach dem Prinzip des „Koch’schen Plattengussverfahrens“ mit den entsprechenden Bakterien beimpft (Steinbüchel and Oppermann-Sanio 2003). Jeweils 9 ml des noch flüssigen, etwa 42 °C warmen Nährmediums wurden mit 1 ml Bakteriensuspension ( $1 \times 10^5$  KBE/ml) vermischt und nach dem Erstarren für die folgenden zwei Hemmhoftests verwendet.

Um zu ermitteln, ob antagonistische Pilze eine hemmende Wirkung auf bakterielle BCAs haben, wurden je zwei **Myzelstücke** ( $\varnothing=5$  mm) eines Pilzes auf den Agar gesetzt. Als Kontrollen dienten Platten ohne Pilz. Pro Variante wurden je sechs Agar-Platten verwendet, auf denen nach einer 48-stündigen Inkubation bei 24 °C im Brutschrank der Durchmesser der Hemmhöfe gemessen wurde. Auf den Kontrollplatten war ein gleichmäßiger Bakterienrasen gewachsen (Abb. 6). Die Tests wurden zweifach wiederholt.



**Abbildung 6:** Dualkulturtest zur Untersuchung einer hemmenden Wirkung von antagonistischen Pilzen auf bakterielle BCAs. Links: Kontrolle. Rechts: Hemmwirkung durch Pilze

Die Kompatibilität zwischen zwei antagonistischen Bakterien wurde mit Hilfe des **Zylindertests** durchgeführt (Näveke and Tepper 1979). Hierbei wurden je zwei sterile, hohle Edelstahlzylinder nach vorsichtigem Erhitzen der Unterseite auf die Agarplatte aufgesetzt. Das Erhitzen des Zylinders bewirkte ein leichtes Absinken des Zylinders in den Agar, so dass dieser flüssigkeitsdicht auf dem Agar aufklebte. Anschließend wurden je 50 µl der zu testenden Bakteriensuspensionen ( $1 \times 10^7$  KBE/ml) in die Zylinder pipettiert. Als Kontrolle dienten Agar-Platten mit ungefüllten Edelstahlzylindern. Die Platten (n=4) wurden für 48 Std. bei 24 °C im Brutschrank inkubiert, bevor die Auswertung erfolgte. Gemessen wurde der Hemmhofdurchmesser (Abb. 7). Die Zylindertests wurden zweifach wiederholt.



**Abbildung 7:** Zylindertest zur Untersuchung von antibiotischen Wirkungen zwischen antagonistischen Bakterien

Für die Untersuchung von **Hemmwirkungen zwischen zwei antagonistischen Pilzen** wurde zunächst ein Dualkulturtest auf PDA und 0.1 TSA durchgeführt: Jeweils ein Myzelstück ( $\varnothing=5$  mm) von zwei sechs bis acht Tagen alten antagonistischen Pilzen wurde auf der Agarplatte (PDA und 0.1 TSA) ausplattiert. In der Kontrolle wurden lediglich zwei Myzelstücke eines Pilzes ausplattiert. Der Abstand der Myzelstücke zum Petrischalenrand betrug dabei je 1 cm. Die Petrischalen wurden bei 24 °C im Brutschrank im Dunkeln inkubiert. Das Wachstum der Pilze wurde regelmäßig auf mögliche Hemmwirkungen überprüft und beobachtete Hemmwirkungen zwischen zwei Pilzen dokumentiert (Abb. 8). Für jedes Versuchsglied wurden je sechs Agar-Platten verwendet und der Test wurde zweifach wiederholt.

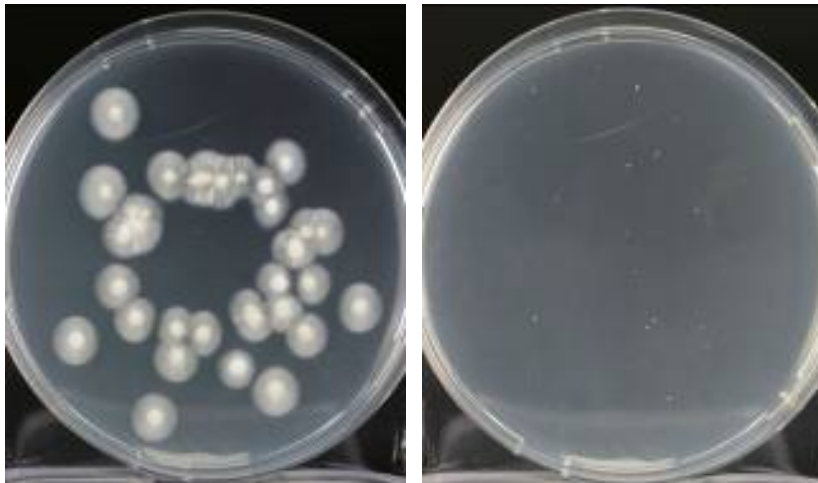


**Abbildung 8:** Dualkulturtest zur Ermittlung von Hemmwirkungen zwischen antagonistischen Pilzen. Links: Kontrolle *Metarhizium anisopliae* 43. Mitte: *Metarhizium anisopliae* 43 und *Beauveria bassiana* in Dualkultur. Rechts: Kontrolle *Beauveria bassiana*

Verschiedene antagonistische Pilze zeigten ein stark streuendes Wachstum (Abb. 8), so dass mögliche Hemmwirkungen zwischen den Pilzen mit den einfachen Dualkulturtests schwer zu quantifizieren waren. Um auch bei diesen Pilzen eine Aussage über mögliche Hemmwirkungen auf das Wachstum anderer antagonistischer Pilze machen zu können, wurden weitere Tests mit Kulturfiltraten der Pilze *Ampelomyces quisqualis*, *Metarhizium anisopliae* 43 und *Trichoderma harzianum* T22 durchgeführt. (Abb. 9). Für deren Herstellung wurden jeweils 100 ml PDB (Tab. A im Anhang) mit drei sporulierenden Myzelstücken des entsprechenden Pilzes beimpft und für zehn Tage auf einem Orbitalschüttler (Gerhardt Analytical Systems) bei 100 rpm und 24 °C im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurde die Flüssigkultur zentrifugiert (8.000 rpm, 30 Minuten, 20 °C) und der Überstand erneut

zentrifugiert. Der so erhaltene Überstand wurde durch einen Filter (4-7 µm) gegeben, sterilfiltriert (0,22 µm) und bis zu zwei Wochen bei 4 °C aufbewahrt.

Die Nährmedien (PDA und 0.1 TSA) wurden nach dem Koch'schen Plattengußverfahren mit Kulturfiltraten des entsprechenden Pilzes (10 %) versetzt. Auf diese wurden Sporensuspensionen der jeweils anderen antagonistischen Pilze (ca.  $1 \times 10^4$  Sporen/ml) mittels Spiralplater überimpft (Whitley Automatic Spiral Plater, Don Whitley Scientific, England). Als Kontrollen dienten unbehandelte PDA- und 0.1 TSA-Platten. Nach 24- bis 36-stündiger Inkubation bei 24 °C im Brutschrank wurde die Anzahl der Kolonien auf den Platten gezählt (Abb. 9) und die Anzahl der "Kolonienbildenden Einheiten pro ml" (KBE/ml) ermittelt. Für jede Variante wurden sechs Platten pro Versuchsglied verwendet. Der Versuch wurde zweifach wiederholt.



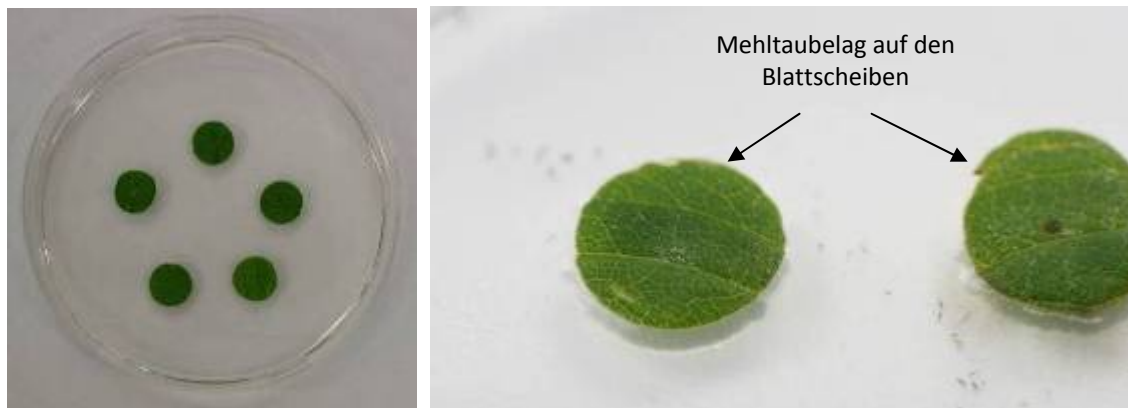
**Abbildung 9:** Pilzkolonien auf einem unbehandelten Nährmedium (links). Kein Wachstum von Pilzkolonien auf Nährmedium, welches 10% Kulturfiltrat eines anderen Pilzes versetzt war (rechts)

### 2.2.2. Blattscheibentests

#### Wirksamkeit der BCAs gegenüber *P. aphanis* auf Blattscheiben:

Aufgrund des obligat biotrophen Wachstums des Echten Mehltau erfolgte die Untersuchung zur Wirksamkeit aller 89 BCAs gegen *P. aphanis* in Form von Blattscheibentests (Abb. 10). Hierfür wurden von allen BCAs Suspensionen in 1/8 RINGER-Lösung mit 0,2 % Tween 80 hergestellt (Bakteriensusp.:  $1 \times 10^8$  KBE/ml, Sporensusp.:  $1 \times 10^7$  Sporen/ml). Anschließend wurden je fünf Blattscheiben ( $\varnothing=1$  cm) von jungen, zwei bis drei Wochen alten Erdbeerpflanzen (cv. 'Elsanta') in die entsprechende Bakterien- oder Sporensuspension getaucht und in einer Petrischale auf 1 %-igem Wasseragar positioniert (Abb. 10), während

die Blattscheiben der Kontrollvariante nur in 1/8 RINGER-Lösung (mit 0,2 % Tween 80) getaucht wurden. Nach Abtrocknung der Blattscheiben wurden sie für 24 Std. inkubiert (20 °C, Photoperiode: 12 Std./ 12 Std., 850 Lux). Die anschließende Inokulation der Blattscheiben mit Konidien von *P. aphanis* erfolgte mittels eines Pinsels. Die Blattscheiben wurden für neun weitere Tage inkubiert, um das Hyphenwachstum und die Sporulation des Pilzes zu erlauben (Abb. 10).



**Abbildung 10:** Prüfung der Wirksamkeit von BCAs gegen *P. aphanis* in Blattscheibentests

Zur Auswertung wurden die Blattscheiben jeder Petrischale in 1/8 RINGER-Lösung gespült, so dass die Konidien in Suspension gehen konnten. Anschließend konnte die Anzahl der Konidien in den Suspensionen lichtmikroskopisch ermittelt und der Mehltaubefall wie folgt berechnet werden:

$$\text{Befall der Blattscheiben mit } P. \text{ aphanis } (\%) = (n_{BCA} / n_C) \times 100 \quad (1)$$

$n_{BCA}$  = mittlere Anzahl an Konidien/ml auf mit BCAs behandelten Blattscheiben

$n_C$  = mittlere Anzahl an Konidien/ml auf mit 1/8 RINGER-Lösung behandelten Blattscheiben

Pro Versuchsglied wurden sechs Platten verwendet. Der Versuch wurde zweifach wiederholt.

#### Kombinierbarkeit der BCAs auf Blattscheiben:

Aufgrund der Vielzahl an möglichen Kombinationen wurden die insgesamt zehn selektierten BCAs (siehe 2.1 und Tab. 2) auf zwei Blattscheibentests (siehe Teil 1 und Teil 2 in Tab. 3) verteilt, d.h. jeweils fünf BCAs wurden einzeln und in Kombination ausgebracht.

**Tabelle 3: BCAs für die Blattscheibentests**

| 1. Teil                           | 2. Teil                                 |
|-----------------------------------|-----------------------------------------|
| Kontrolle (1/8 RINGER-Lösung)     | Kontrolle (1/8 RINGER-Lösung)           |
| <i>Ampelomyces quisqualis</i>     | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42 |
| <i>Bacillus subtilis</i> FZB24    | <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai T-22 |
| <i>Trichoderma harzianum</i> T58  | <i>Beauveria bassiana</i>               |
| <i>Enterobacter radicincitans</i> | <i>Penicillium oxalicum</i>             |
| <i>Metarhizium anisopliae</i> 43  | <i>Aureobasidium pullulans</i>          |

Für die Einzelprüfung der BCAs wurden jeweils 10 ml Suspension ( $1 \times 10^7$  KBE bzw. Konidien/ml) in 1/8 RINGER-Lösung (0,2 % Tween 80) verwendet und in je eine leere Petrischale überführt. Für kombinierte BCA-Behandlungen wurden jeweils 5 ml der entsprechenden Suspensionen in einer Petrischale vermengt. Für die Kontrollvariante wurden 10 ml 1/8 RINGER-Lösung (0,2 % Tween 80) verwendet.

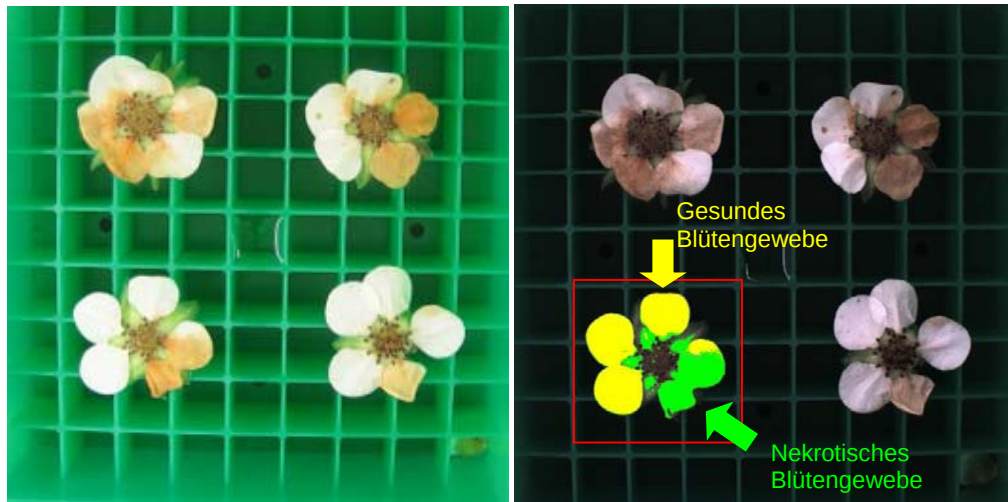
Je fünf Blattscheiben ( $\varnothing=1$  cm) von jungen Erdbeerblättern (cv. 'Elsanta') wurden in die entsprechenden Suspensionen (BCAs oder BCA-Kombinationen) getaucht und in einer Petrischale auf 1 %igem Wasseragar positioniert. Nach Abtrocknung wurden die Blattscheiben für 24 Std. inkubiert (22 °C, 60 % r.F., Photoperiode 12 Std./ 12 Std., 850 Lux). Danach wurden sie mit Hilfe eines Pinsels mit Konidien des Echten Mehltaus inokuliert.

Nach einer weiteren Inkubation von neun Tagen wurde die Auswertung der Blattscheibenversuche wie bereits beschrieben vorgenommen. Die Fallzahl der Blattscheibentests entsprach sechs Platten pro Versuchsglied. Die Blattscheibenversuche wurden zweimal durchgeführt.

### 2.2.3. Blütentests

Die Wirksamkeit von 22 antagonistischen Pilzen gegenüber *B. cinerea* wurde an Erdbeerblüten getestet. Dafür wurden abgetrennte Erdbeerblüten der Sorte 'Everest' mit einer Sporensuspension ( $1 \times 10^7$  Sporen/ml) des zu testenden antagonistischen Pilzes mit Hilfe eines Zerstäubers tropfnass besprüht. Anschließend wurden sie in eine 10 %ige Saccharose-Lösung in einer Kryobox aufgestellt, die mit transparenten Deckeln verschlossen und für 48 Std. bei Tageslicht und Raumtemperatur inkubiert wurde. Danach wurden die Blüten mit einer Sporensuspension von *B. cinerea* ( $1 \times 10^3$  Sporen/ml) besprüht. In der Kontrollvariante wurden die Blüten mit 1/8 RINGER-Lösung besprüht. Nach einer weiteren Inkubation von fünf Tagen erfolgte die Auswertung mit Hilfe der Bildanalyse "WinDIAS 3" zur

Bestimmung des prozentualen Anteils der nekrotischen Fläche auf einem Blütenblatt (Abb. 11).



**Abbildung 11:** Auswertung der Wirksamkeit antagonistischer Pilze gegen *B. cinerea* an abgetrennten Blüten mit "WinDias 3"

## **2.3. Gewächshausversuche**

### **2.3.1. Allgemeine Informationen zu den Gewächshausversuchen**

Um die Eignung des ausgewählten Biosubstrats (Lignostrat Bio, Hawita-Gruppe GmbH, Vechta, Deutschland) für die Containerkultur von Erdbeeren im Gewächshaus zu überprüfen, wurden Vorversuche durchgeführt.

Der erste Vorversuch erfolgte Anfang April 2009 mit Frigopflanzen der Sorte 'Elsanta'. Da Probleme mit dem Biosubstrat auftraten, die sich anhand von Pflanzenausfällen von 30% in den ersten drei Wochen zeigten, wurde der Vorversuch im Mai 2009 wiederholt. Für diesen wurde eine neue Charge des Biosubstrats und die Erdbeersorte 'Everest' verwendet.

Für den ersten Vorversuch bestätigten Substratanalysen bei Versuchsabbruch, dass die Salzgehalte im Biosubstrat stark erhöht waren ( $EC = 2.500-3.500 \mu S/cm$ ). Im zweiten Vorversuch ergaben Substratanalysen vor Versuchsbeginn einen normalerweise verträglichen EC-Wert von  $962 \mu S/cm$ . Dennoch traten bereits wenige Wochen nach dem Topfen sehr starke Blattrandnekrosen an den älteren Blättern auf, die sich mit den relativ hohen Temperaturen und der damit verbundenen schnellen Mineralisierung der organischen Substanz erklären lassen.

Zur Sicherung einer standardisierten Versuchsdurchführung wurde daher die Verwendung konventioneller Topfkulturerde für die folgenden Gewächshausversuche beantragt und genehmigt.

Für die weiteren Gewächshausversuche wurden Traypflanzen der Sorte 'Elsanta' in den Topfgrößen 13 cm (Anzucht) und 19 cm in Einheitserde Typ P (Terreau professionnel Gepac®, Gepac Patzer, Frankreich) kultiviert. Von Anfang März bis Ende September wurde die Versuchsfläche ab einer Lichtstärke von ca. 60 kLux schattiert. Von September bis März wurde eine Assimilationsbeleuchtung mit einer Photoperiode von 14 Std. (Tag) und 10 Std. (Nacht) eingeschaltet. Die Klimaführung für die verschiedenen Versuche ist in der Tabelle 4 dargestellt.

**Tabelle 4: Übersicht über die Klimaführung der Gewächshausversuche**

| Versuch                                   | Klimaführung (Angaben in °C)                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Graufäule - Versuche I + II (2009 + 2011) | Vorkultur/Einwurzeln: (Tag/Abend/Nacht/Cool Morning)<br>Heizung: 16/16/10/10<br>Lüftung: 20/20/14/14<br>Weiterkultur: (Tag/Abend/Nacht/Cool Morning)<br>Heizung: 18/18/12/12<br>Lüftung: 22/22/16/16 |
| Echter Mehltau - Versuche I + II (2010)   | Während des gesamten Kultur: (Tag/Nacht)<br>Solltemperatur: 20/18<br>Heizung: 18/16<br>Lüftung: 22/20                                                                                                |

### 2.3.2. Graufäule-Versuch I (2009)

Der erste Versuch zur Prüfung der Wirksamkeit von BCAs gegen *Botrytis cinerea* wurde in einer Großkabine des Gewächshauses auf einer Fläche von circa 36 m<sup>2</sup> durchgeführt. Die Pflanzen wurden in einem Trägersystem aufgestellt und mittels Tröpfchenbewässerung bewässert (Abb. 12).



**Abbildung 12:** Versuchsaufbau des ersten Gewächshausversuchs zur Prüfung der Wirksamkeit von BCAs gegen *Botrytis cinerea*

Untersucht wurde die Wirksamkeit von zwei ausgewählten Handelspräparaten und eines Mikroorganismus (in Form einer Sporensuspension) sowie deren Kombinationen gegenüber *B. cinerea* (Tab. 5). Die kommerziell erhältlichen Präparate sowie die Sporensuspension von *Metarhizium anisopliae* 43 wurden jeweils in 1/8 RINGER-Lösung angesetzt. Die Präparate wurden in den vom Hersteller empfohlenen Aufwandmengen mit einer Rückenspritze (Hochdrucksprüngerät, 3615 INOX PLUS, Mesto GmbH) ausgebracht. Auf den Kontrollpflanzen wurde entweder 1/8 RINGER-Lösung oder das Fungizid Teldor® ausgebracht. Jedes Versuchsglied bestand aus vier Wiederholungen mit jeweils fünf Pflanzen, die randomisiert aufgestellt wurden.

**Tabelle 5:** Übersicht der Versuchsglieder (Graufäuleversuch I, Gewächshaus)

| Nummer | Behandlung                                                    | Konzentration des Prüfmittels          |
|--------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| VG 1   | Kontrolle (1/8 RINGER-Lösung)                                 |                                        |
| VG 2   | RhizoVital® 42 fl. ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42) | 0,07 %                                 |
| VG 3   | Trianum-P ( <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai T22)           | 1,11 %                                 |
| VG 4   | <i>Metarhizium anisopliae</i> 43                              | ca. $1 \times 10^6$ Sporen/ml          |
| VG 5   | RhizoVital® 42 fl + Trianum-P                                 | 0,07 % + 1,11 %                        |
| VG 6   | RhizoVital® 42 fl + <i>M. anisopliae</i> 43                   | 0,07 % + ca. $1 \times 10^6$ Sporen/ml |
| VG 7   | Trianum-P + <i>M. anisopliae</i> 43                           | 1,11 % + ca. $1 \times 10^6$ Sporen/ml |
| VG 8   | Teldor® (500 g/kg Fenhexamid)                                 | 0,1 %                                  |

Mit den BCA-Behandlungen wurde vier Wochen nach Topfen der Erdbeerenpflanzen (BBCH 61) begonnen. Sie erfolgten über neun Wochen im wöchentlichen Rhythmus. Die Erdbeerpflanzen wurden jeweils 24 Std. nach den BCA-Behandlungen mit Sporen-

suspensionen von *B. cinerea* (ca.  $1 \times 10^5$  Sporen/ml, Aufwandmenge: 37,5 ml pro Pflanze) behandelt. Zur Simulation natürlicher Infektionsbedingungen für *B. cinerea* wurde in der Großkabine eine Beregnungsanlage installiert, so dass die Pflanzen mit Beginn der Behandlungen jeden Abend für jeweils eine Minute beregnet wurden. An den Behandlungstagen entfiel die Beregnung, um eine Auswaschung der Präparate bzw. des Erregers zu verhindern.

Ventilatoren in den Gewächshauskabinen sorgten während der Blüte für eine ausreichende Bestäubung der Blüten (Betriebszeit: täglich 1 Std.). Während des gesamten Versuchs wurden vorbeugend Nützlinge gegen Spinnmilben und Trauermücken eingesetzt. Die Düngung erfolgte alle ein bis zwei Wochen mit biologischen Flüssigdüngern (0,5 % BIOTRISSOL<sup>®</sup>, 1-2 % Akra-Blattdünger).

### 2.3.3. Graufäule-Versuch II (2011)

Beim zweiten Versuch zur Wirksamkeit und Kombinierbarkeit von ausgewählten BCAs gegenüber *B. cinerea* handelte es sich nicht um eine Wiederholung des ersten Gewächshausversuchs, sondern um einen hinsichtlich der BCA-Auswahl und des Versuchsdesigns optimierten Graufäule-Versuch.

Zum einen unterschieden sich die Versuchsglieder von denen im ersten Graufäuleversuch, da der BCA *Metarhizium anisopliae* 43 durch das kommerziell erhältliche Produkt Naturalis<sup>®</sup> (*Beauveria bassiana*) ersetzt wurde. Daneben wurde der Antagonist *Trichoderma harzianum* Rifai T22 von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen, da sich im Freilandversuch 2010 (siehe 3.3.1.) gezeigt hatte, dass sich während der Lagerung grünes *Trichoderma*-Myzel auf den Früchten entwickelte. Außerdem wurden grundsätzliche Modifikationen der Versuchsdurchführung durchgeführt, um den Pathogendruck, der im ersten Versuch sehr niedrig war (siehe 3.2.2.), zu erhöhen.

Der Graufäule-Versuch II wurde von August bis Oktober 2011 in einer 15 m<sup>2</sup> großen Kabine durchgeführt. Pro Versuchsglied wurden vier Parzellen mit je vier Versuchspflanzen randomisiert auf Gewächshaustischen aufgestellt (Abb. 13). Die Pflanzen wurden zweimal pro Woche per Hand bewässert und wöchentlich mit dem biologischen Flüssigdünger 0,5 % BIOTRISSOL<sup>®</sup> gedüngt.



**Abbildung 13:** Graufäule-Versuch II (2011)

Von Blühbeginn (BBCH 61) bis Erntebeginn (BBCH 87) wurden die Erdbeerpflanzen wöchentlich mit den BCAs und deren Kombinationen (Tab. 6) behandelt. Die Kontrollpflanzen wurden mit 1/8 RINGER-Lösung oder mit einer im Erdbeeranbau gängigen Fungizidspritzfolge behandelt (Signum<sup>®</sup>, Switch<sup>®</sup>, Teldor<sup>®</sup>+Ortiva<sup>®</sup>).

Die BCA-Präparate wurden in den vom Hersteller empfohlenen Aufwandmengen in 1/8 RINGER-Lösung angesetzt und mit einer Rückenspritze (Hochdrucksprühgerät, 3615 INOX PLUS, Mesto GmbH) ausgebracht.

**Tabelle 6:** Übersicht der Versuchsglieder (Graufäule-Versuch II, Gewächshaus)

| VG   | Behandlung                                                                                                                | Konzentration des Prüfmittels |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| VG 1 | Kontrolle (1/8 RINGER-Lösung)                                                                                             |                               |
| VG 2 | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl. ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42)                                                 | 0,07 %                        |
| VG 3 | BoniProtect <sup>®</sup> forte ( <i>Aureobasidium pullulans</i> DSM Nr. 14940 & 14941)                                    | 0,09 %                        |
| VG 4 | Naturalis <sup>®</sup> ( <i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040)                                                            | 0,07 %                        |
| VG 5 | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl + BoniProtect <sup>®</sup> forte                                                            | 0,07 % + 0,09 %               |
| VG 6 | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl + Naturalis <sup>®</sup>                                                                    | 0,07 % + 0,07 %               |
| VG 7 | BoniProtect <sup>®</sup> forte + Naturalis <sup>®</sup>                                                                   | 0,09 % + 0,07 %               |
| VG 8 | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl + BoniProtect <sup>®</sup> forte + Naturalis <sup>®</sup>                                   | 0,07 % + 0,09 % + 0,07 %      |
| VG 9 | Fungizid-Spritzfolge (1 x Signum <sup>®</sup> , 2 x Switch <sup>®</sup> , 1 x Teldor <sup>®</sup> + Ortiva <sup>®</sup> ) | 0,13 %; 0,1 %; 0,1 %; 0,05 %  |

Die Pflanzen wurden jeweils 24 Std. nach den ersten drei BCA-Behandlungen mit einer Sporensuspension von *B. cinerea* (ca.  $1 \times 10^5$  Sporen/ml, Aufwandmenge: 25 ml pro Pflanze) inokuliert. Um die Infektion mit *B. cinerea* bei gleichmäßig hoher Luftfeuchte zu gewährleisten, wurden die Erdbeerpflanzen während der Blüte nachts (20:00-8:00 Uhr) mit einer transparenten Plastikfolie abgedeckt (Abb. 14).



**Abbildung 14:** Abdeckung der Gewächshaustische mit Folien

Ventilatoren in den Gewächshauskabinen sorgten während der Blüte für eine ausreichende Bestäubung der Blüten (Betriebszeit: täglich 1 Std). Um einem Befall mit Spinnmilben vorzubeugen, wurden alle zwei Wochen präventiv Raubmilben der Art *Phytoseiulus persimilis*, einzeln oder in Kombination mit *Amblyseius cucumeris* (Katz Biotech AG, Deutschland), ausgebracht.

## **2.3.4. Auswertungen der Graufäuleversuche im Gewächshaus**

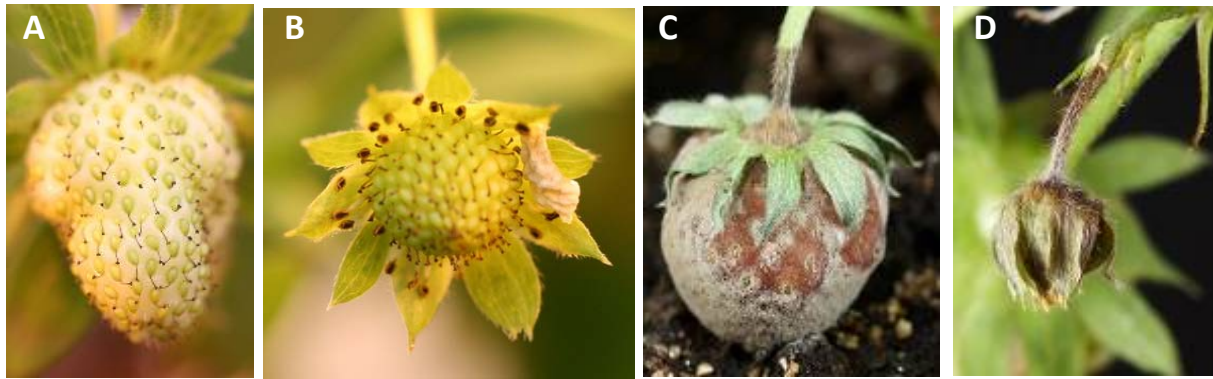
### Ermittlung von Erntemengen

Beim Graufäule-Versuch I (2009) wurden die Erdbeerpflanzen mit Beginn der Fruchtreife wöchentlich beerntet. Beim Graufäule-Versuch II (2011) wurden die Erdbeeren zweimal wöchentlich geerntet. In beiden Versuchen wurden die Anzahl sowie das Frischgewicht gesunder und mit *B. cinerea* befallener Früchte erfasst.

### Erfassung des Fruchtbefalls an der Pflanze

In beiden Gewächshausversuchen erfolgte wöchentlich eine Bonitur hinsichtlich *B. cinerea*. Hierfür wurde an jeder Pflanze die Anzahl gesunder Früchte (Abb.15 A, B) sowie von mit *B. cinerea* befallenen Früchten oder Blüten ermittelt (Abb.15 C, D).

Daneben wurde die Anzahl schwarz verfärbter Blüten erfasst, die stecken gebliebene bzw. nicht bestäubte Blüten repräsentierten (Abb. 16).



**Abbildung 15:** Schema für die Erfassung des Graufäulebefalls an der Pflanze. A: Weiße Frucht. B: Blüte ohne Blütenblätter. C: Mit *Botrytis* befallene Frucht. D: Mit *Botrytis* befallene Blüte



**Abbildung 16:** Schwarze Blüte

#### Erfassung der Graufäuleentwicklung während der Lagerung

Für die Lagerversuche im Graufäule-Versuch I (2009) wurden die geernteten, gesunden Erdbeerfrüchte wöchentlich in 500 g-Schälchen gelagert (Abb. 17). Die Lagerung erfolgte für vier Tage im Kühlschrank (4 °C) und für weitere ein bis drei Tage bei Zimmertemperatur (Min./Max.-Temp.: 16 °C/22 °C). Die Anzahl sowie das Gewicht von *Botrytis*-Früchten und marktfähigen Früchten wurde jeweils ein und drei Tage nach Lagerung bei Zimmertemperatur erfasst.

Für den Lagerversuch im Graufäule-Versuch II (2011) wurden an einem Termin alle geernteten, gesunden Erdbeerfrüchte auf Zellstoff-Papier in Plastikkisten (60 cm Länge x 40 cm Breite x 12 cm Tiefe) ausgelegt, so dass sich die Früchte nicht berührten (Abb. 17). Die Kisten wurden bei Raumtemperatur gelagert und die Früchte alle zwei Tage (max. sieben Tage) auf Infektionen mit *B. cinerea* untersucht. Die Anzahl und das Frischgewicht gesunder und mit *B. cinerea* befallener Früchte wurden dokumentiert. Der Lagerversuch wurde einmalig durchgeführt.



**Abbildung 17:** Lagerung der Früchte in 500 g-Schälchen (Graufäule-Versuch I) und in Plastikkisten mit Zellstoffeinlage (Graufäule-Versuch II)

Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* an gelagerten Früchten wurde für beide Versuche wie folgt berechnet:

$$\text{Befallshäufigkeit von } B. \text{ cinerea } (\%) = (n_{\text{Bot}}/n_{\text{Gesamt}}) \times 100 \quad (2)$$

$n_{\text{Bot}}$  = Anzahl von mit *Botrytis*-infizierten Früchten pro Schale oder Kiste

$n_{\text{Gesamt}}$  = Gesamtanzahl Früchte pro Schale oder Kiste

#### Erfassung der Nichtzielorganismen

Das Auftreten von Nichtzielorganismen wie Echter Mehltau, Blattläuse und Spinnmilben wurde in beiden Graufäule-Versuchen beobachtet. Im ersten Versuch traten Nichtzielorganismen nur in sehr geringem Umfang auf. Im zweiten Graufäuleversuch sind verstärkt Echter Mehltau und Thripse aufgetreten. Der Befall der Pflanzen mit *P. aphanis* wurde an zwei Terminen nach dem folgenden Boniturschema (Tab. 7) erfasst:

**Tabelle 7:** Boniturschema für die Erfassung des Pflanzenbefalls mit Echtem Mehltau (Eppo-Richtlinie PP 1/57: powdery mildews on cucurbits and other vegetables)

| Boniturskala | mittlere Befallsstärke pro Pflanze [%] |
|--------------|----------------------------------------|
| 0            | 0                                      |
| 1            | 0 – 1                                  |
| 2            | 1 – 5                                  |
| 3            | 5 – 20                                 |
| 4            | 20 – 40                                |
| 5            | > 40                                   |

Das Auftreten der Thripse wurde mit folgendem Boniturschema (Tab. 8) geschätzt:

**Tabelle 8:** Boniturschema für die Erfassung des Thripsbefalls

| Boniturskala | Mittlere Anzahl Tiere pro Pflanze | Mittlerer Befall pro Pflanze [%] |
|--------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 1            | 0                                 | 0                                |
| 2            | 1                                 | 2                                |
| 3            | 2,5                               | 5                                |
| 4            | 7,5                               | 15                               |
| 5            | 10                                | 20                               |
| 6            | 15                                | 30                               |
| 7            | 25                                | 50                               |
| 8            | 35                                | 70                               |
| 9            | >50                               | 100                              |

### 2.3.5. Mehltauversuche I + II

Um optimale Infektions- und Inkubationsbedingungen für einen ausreichenden Befall mit Echtem Mehltau zu gewährleisten, wurde ein Vorversuch durchgeführt. Hierfür wurden Erdbeerpflanzen in einer Gewächshauskabine aufgestellt (32 Pflanzen je Versuchsglied, verteilt auf zwei Tische mit je 1,5 m<sup>2</sup> Stellfläche). Nach einer zweiwöchigen Kultur erfolgte eine einmalige Inokulation der Erdbeerpflanzen mit Echtem Mehltau, indem befallene Pflanzen in insgesamt sechs Ampeln über den Tischen aufgehängt wurden (Abb. 18).



**Abbildung 18:** Anbringung der von Echtem Mehltau befallenen "Infektor-Pflanzen" über den gesunden Versuchspflanzen

Mit zwei Ventilatoren wurde einmalig eine Stunde lang eine kräftige Luftverwirbelung erzeugt, um die Konidien des Echten Mehltau gleichmäßig im Bestand zu verteilen. Anschließend wurden die Pflanzen unter verschiedenen Bedingungen inkubiert: ohne Folienabdeckung, Abdeckung mit schwarzer Folie für 24 Std., Abdeckung mit transparenter Folie für 24 Std. (Abb. 19). Pro Tisch wurden zehn Erdbeerpflanzen einmal wöchentlich auf Befall mit Echtem Mehltau geprüft. Es zeigte sich, dass die Verwendung von Folien nach der Mehltau-Inokulation nicht erforderlich ist. Die Verwendung der Erdbeerampeln als "Infektor-Pflanzen" gewährleistete einen ausreichenden Befall durch *P. aphanis*.



**Abbildung 19:** Vorversuch zur Optimierung der Infektions- und Inkubationsbedingungen für *P. aphanis*

In zwei anschließenden Gewächshausversuchen mit identischer Versuchsanordnung wurde die Wirksamkeit von drei ausgewählten mikrobiologischen Präparaten (AQ10<sup>®</sup>WG, Trichostar<sup>®</sup>, FZB24<sup>®</sup>fl) sowie deren Kombinationen gegenüber Echtem Mehltau untersucht (Tab. 9). Als Kontrolle dienten Behandlungen mit 1/8 RINGER-Lösung und als Referenzmittel das Fungizid Systhane 20 EW (Wirkstoff: Myclobutanil).

**Tabelle 9:** Übersicht der Versuchsglieder in den Mehltauversuchen

| VG    | Behandlung                                                       | Konzentration der Prüfmittel |
|-------|------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| VG 01 | Kontrolle (1/8 RINGER-Lösung)                                    |                              |
| VG 02 | AQ10 <sup>®</sup> WG ( <i>Ampelomyces quisqualis</i> ) + Nu-Film | 0,007 %; 0,3 %               |
| VG 03 | FZB24 <sup>®</sup> fl. ( <i>Bacillus subtilis</i> FZB24)         | 0,1 %                        |
| VG 04 | Trichostar <sup>®</sup> ( <i>Trichoderma harzianum</i> T58)      | 1,0 %                        |
| VG 05 | AQ10 <sup>®</sup> WG + FZB24 <sup>®</sup> fl                     | 0,007 % + 0,1 %              |
| VG 06 | AQ10 <sup>®</sup> WG + Trichostar <sup>®</sup>                   | 0,007 % + 1,0%               |
| VG 07 | Trichostar <sup>®</sup> + FZB24 <sup>®</sup> fl                  | 1,0 % + 0,1 %                |
| VG 08 | Systhane 20 EW (200 g/l Myclobutanil)                            | 0,05 %                       |

Die Behandlung der Erdbeerpflanzen erfolgte in beiden Versuchen zum BBCH-Stadium 12 bis 13. Jedes Versuchsglied wies insgesamt 30 Pflanzen (sechs Parzellen mit jeweils fünf Pflanzen) auf, welche nach der entsprechenden Behandlung randomisiert in der Gewächshauskabine auf sechs Tischen aufgestellt wurden. Die Inokulation der Erdbeerpflanzen mit Echtem Mehltau erfolgte am Tag nach den BCA-Behandlungen. Hierbei wurden die vollständig ausgebildeten Laubblätter vor der Inokulation markiert, damit nur die primär inokulierten Blätter bei der späteren Auswertung erfasst werden konnten.

Anschließend wurden jeweils zwei mit Echtem Mehltau befallene "Infektor-Pflanzen" in einer Ampel über je einen Tisch angebracht. Die Konidien wurden einmalig mit Hilfe von zwei Ventilatoren für eine Stunde in der gesamten Kabine verwirbelt.

#### Erfassung des Mehлтаubefalls

Nach einer zweiwöchigen Inkubation wurden die Kolonien des Echten Mehltaus auf jedem markierten Blatt gezählt (Abb. 20). Festgehalten wurden außerdem die Summe der bonitierten und die Anzahl der befallenen Blätter. Daraus konnte z.B. die mittlere Anzahl der Mehltau-Kolonien pro Blatt ermittelt werden.



**Abbildung 20:** Kolonien des Echten Mehltau auf einem Blatt

## **2.4. Freilandversuche**

In den Versuchsjahren 2010 und 2011 wurden Freilandversuche zur Bekämpfung von *B. cinerea* mit ausgewählten BCAs durchgeführt.

### **2.4.1. Allgemeine Informationen zu den Freilandversuchen**

Die Versuche wurden auf einer extensiv bewirtschafteten Fläche von insgesamt 1.716 m<sup>2</sup> durchgeführt (Abb. 21). Die Nettoversuchsfläche betrug 1.300 m<sup>2</sup>. Das Versuchsdesign entsprach einer randomisierten Blockanlage mit vier Blöcken zu neun Parzellen (= 36 Parzellen insgesamt). Jede Parzelle bestand aus vier Reihen mit je 20 Pflanzen (= 80 Pflanzen). Zur Vermeidung von Randeffekten wurden die äußeren Pflanzen der Parzellen als Randpflanzen betrachtet, so dass pro Parzelle insgesamt 32 Pflanzen ausgewertet werden konnten. Bei vier Wiederholungen mit jeweils 32 Pflanzen wies somit jedes Versuchsglied insgesamt 128 Pflanzen auf. Verwendet wurden getopfte Grünpflanzen (cv. 'Elsanta'), die am 4. August 2009 bzw. am 12. August 2010 gepflanzt wurden. Die Wasserversorgung der Pflanzen wurde über eine Tröpfchenbewässerung mit einem Einschaltpunkt von <250 hPa sichergestellt.

Um günstige Infektionsbedingungen für *B. cinerea* im Pflanzenbestand zu gewährleisten, wurde in beiden Versuchsjahren eine Beregnungsanlage so installiert, dass jede Parzelle mit einem Sprinkler ausgestattet war. und die Versuchspflanzen ab Blühbeginn nachts beregnet werden konnten. Sowohl für die Bewässerung als auch Beregnung wurde Flusswasser (Rhein) verwendet.

2010 erfolgte die Beregnung zur Schaffung günstiger Infektionsbedingungen vom 23.4.2010 bis zum 10.5.2010 jeweils um 20:30 Uhr, 21:30 Uhr, 23:30 Uhr und 5 Uhr für je 15 Minuten (ca. 4-5 mm Niederschlag pro Nacht). Vom 10.5.2010 bis zum 16.5.2010 wurde die Beregnung aufgrund häufiger und starker Niederschläge ausgeschaltet. Ab 17.5.2010 wurde die nächtliche Beregnung fortgeführt, die Beregnungsdauer jedoch auf je 7,5 Minuten reduziert (ca. 2 - 2,5 mm Niederschlag pro Nacht).

2011 erfolgte die Beregnung vom 13.4. bis zum 15.4.2011 jeweils um 20:30 Uhr, 21:30 Uhr, 23:30 Uhr und 5 Uhr für je 8 Minuten. Vom 15.4.2011 bis zum 26.4.2011 musste die

Beregnung wegen Frostgefahr ausgestellt werden. Ab 27.04.2011 wurde die Beregnungsanlage wieder eingeschaltet, jedoch war ihre Funktionsfähigkeit auf Grund des nun niedrigen Rheinpegels möglicherweise eingeschränkt. Ab dem 29.4.2011 wurde die Beregnungsanlage daher ganz ausgeschaltet.

Eine weitere Maßnahme zur Förderung von *B. cinerea* bestand darin, dass ein Großteil der Pflanzen im Bestand nicht beerntet wurde, d.h. auch befallene Früchte wurden an der Pflanze belassen. Ausgenommen davon waren zehn Pflanzen pro Parzelle, die für die Erfassung der Erntemengen vorgesehen waren.

Zwei Datalogger dienten der Erfassung von Lufttemperatur und relativer Luftfeuchte. Zwischen den Erdbeerpflanzen wurden außerdem Blattfeuchtefühler angebracht, um die Blattbenetzungszeiten zu erfassen.



**Abbildung 21:** Freilandversuch 2010

#### **2.4.2. Graufäule-Versuch I (2010)**

Mit beginnender Blüte der Erdbeeren (BBCH 61) wurden drei verschiedene mikrobiologische Präparate (Trianum-P, RhizoVital42<sup>®</sup> fl., Naturalis<sup>®</sup>) wöchentlich bis kurz vor Ernteende (BBCH 89) einzeln und in Kombination gegen Graufäule appliziert. Vor dem Hintergrund einer ganzheitlichen Betrachtung eines Applikationssystems im ökologischen Anbau von Erdbeeren, also die Erfassung verschiedener Organismen (einschließlich Schädlingen), beinhalteten die Behandlungen auch die Verwendung des mikrobiologischen Insektizids

Naturalis<sup>®</sup>. In den Kontrollvarianten wurde eine gängige Behandlungsfolge mit Fungiziden (an nur drei Terminen während der Blüte) bzw. nur Wasser ausgebracht (Tab. 10).

**Tabelle 10: Versuchsglieder im Freilandversuch 2010**

| VG    | Behandlung                                                                                                              | Konzentration der Prüfmittel |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| VG 01 | Wasser                                                                                                                  |                              |
| VG 02 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42)                                                | 0,07 %                       |
| VG 03 | Trianum-P ( <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai T-22)                                                                    | 1,11 %                       |
| VG 04 | Naturalis <sup>®</sup> ( <i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040)                                                          | 0,07 %                       |
| VG 05 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + Trianum-P                                                                               | 0,07 % + 1,11 %              |
| VG 06 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + Naturalis <sup>®</sup>                                                                  | 0,07 % + 0,07 %              |
| VG 07 | Trianum-P + Naturalis <sup>®</sup>                                                                                      | 1,11 % + 0,07 %              |
| VG 08 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + Trianum-P + Naturalis <sup>®</sup>                                                      | 0,07 % + 1,11 % + 0,07 %     |
| VG 09 | Spritzfolge Fungizide (1x Signum <sup>®</sup> , 1x Switch <sup>®</sup> , 1x Teldor <sup>®</sup> + Ortiva <sup>®</sup> ) | 0,13 %; 0,1 %; 0,1 %; 0,05 % |

In jeder Parzelle wurden zehn markierte, durchschnittlich entwickelte Pflanzen an acht Terminen beerntet und gewogen. Mit Graufäule befallene Früchte wurden ebenfalls geerntet und gewogen. Aus den aufsummierten Erntemengen wurde die durchschnittliche Erntemenge pro Pflanze ermittelt und daraus die Erntemenge gesunder und befallener Beeren für jedes Versuchsglied errechnet.

Die Befallsbonituren von *B. cinerea* begannen mit dem Zeitpunkt der zweiten Pflücke und wurden im wöchentlichen Abstand an zwei weiteren Terminen durchgeführt. Die Bonitur erfolgte in Anlehnung an die EPPO-Prüfrichtlinie 1/16 (2) (EPPO 1996), indem zehn markierte und nicht beerntete Pflanzen pro Parzelle bonitiert wurden. Erfasst wurde die Anzahl gesunder und mit *B. cinerea* befallener Früchte. Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* an Erdbeeren wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Befallshäufigkeit von } B. \text{ cinerea } (\%) = (n_{\text{Bot}} / n_{\text{Gesamt}}) \times 100 \quad (3)$$

$n_{\text{Bot}}$  = Anzahl von mit Botrytis-infizierten Früchten pro Pflanze

$n_{\text{Gesamt}}$  = Gesamtanzahl Früchte pro Pflanze

An insgesamt zwei Ernteterminen wurden pro Parzelle zwei 500g-Schälchen erntereifer, gesunder Früchte geerntet und anschließend bei Raumtemperatur gelagert. Jeden zweiten Tag wurden die faulen Früchte aus jedem Schälchen entfernt und differenziert nach Erregern erfasst. Die Anzahl und das Gewicht von "Botrytisfrüchten" wurden dokumentiert. Die

gesunden Früchte verblieben bis zur nächsten Bonitur in den Schälchen. Die letzte Bonitur fand nach einer sechstägigen Lagerung statt. Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* an gelagerten Erdbeeren wurde folgendermaßen berechnet:

$$\text{Befallshäufigkeit von } B. \text{ cinerea } (\%) = (n_{\text{Bot}} / n_{\text{Gesamt}}) \times 100 \quad (4)$$

$n_{\text{Bot}}$  = Anzahl von mit *Botrytis*-infizierten Früchten pro Schale

$n_{\text{Gesamt}}$  = Gesamtanzahl Früchte pro Schale

Neben der Bonitur des Graufäulebefalls wurde auch ein möglicher Effekt der Behandlungen auf Nichtzielorganismen erfasst. Der Befall der Pflanzen mit Spinnmilben und Blattläusen wurde an insgesamt zwei Terminen entsprechend eines Boniturschemas (Tab. 11) und in Anlehnung an die Eppo-Richtlinien PP 1/192(2) (EPPO 1997) und PP 1/252 (EPPO 2007) bonitiert. Für die Erfassung des Blattlausbefalls wurde die ganze Pflanze, für die Bonitur des Spinnmilbenbefalls hingegen je ein Blatt von den für die *Botrytis*-Bonitur markierten Pflanzen untersucht. Zusätzlich wurde das Auftreten von Spinnmilben an zehn Blättern je Parzelle in einer destruktiven Endauswertung (Milbenwaschmethode) ermittelt (Boller 1984).

**Tabelle 11:** Boniturschema für die Erfassung des Blattlaus -und Spinnmilbenbefalls

| Boniturskala | Mittlere Anzahl<br>Tiere | Mittlerer Befall<br>[%] |
|--------------|--------------------------|-------------------------|
| 1            | 0                        | 0                       |
| 2            | 1                        | 2                       |
| 3            | 2,5                      | 5                       |
| 4            | 7,5                      | 15                      |
| 5            | 10                       | 20                      |
| 6            | 15                       | 30                      |
| 7            | 25                       | 50                      |
| 8            | 35                       | 70                      |
| 9            | >50                      | 100                     |

Eine Bonitur der Pflanzen auf Befall mit dem Erdbeerblütenstecher (*Anthonomus rubi*) erfolgte einmalig nach der Blüte. Hierfür wurde von 20 Pflanzen pro Parzelle (je zehn Pflanzen für Graufäulebonitur und je zehn Pflanzen für Beerntung) der Anteil Pflanzen mit abgeknickten Blüten bestimmt.

Die Befallshäufigkeit von *A. rubi* wurde anschließend wie folgt berechnet:

$$\text{Befallshäufigkeit von } A. \text{ rubi } (\%) = (n_{\text{abgeknickt}} / n_{\text{gesamt}}) \times 100 \quad (5)$$

$n_{\text{Abgeknickt}}$  = (Anzahl an Pflanzen mit abgeknickten Blüten pro Parzelle)

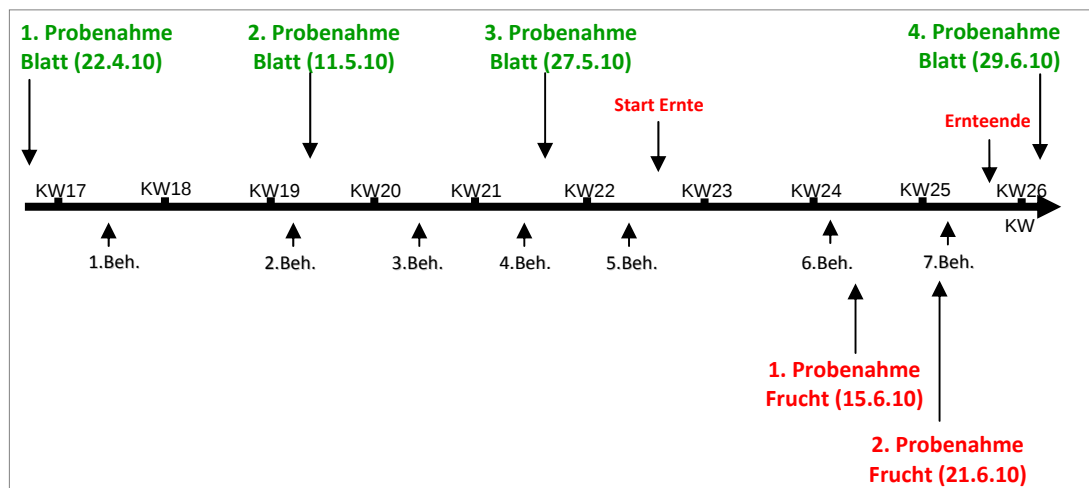
$n_{\text{Gesamt}}$  = Gesamtanzahl von 20 Pflanzen pro Parzelle

Neben dem Auftreten von Schädlingen wurde auch das Auftreten von Pathogenen an drei Terminen bonitiert. Tabelle 12 stellt die Krankheiten dar, welche an den Versuchspflanzen beobachtet wurden.

**Tabelle 12:** Übersicht der zu bonitierenden Krankheiten

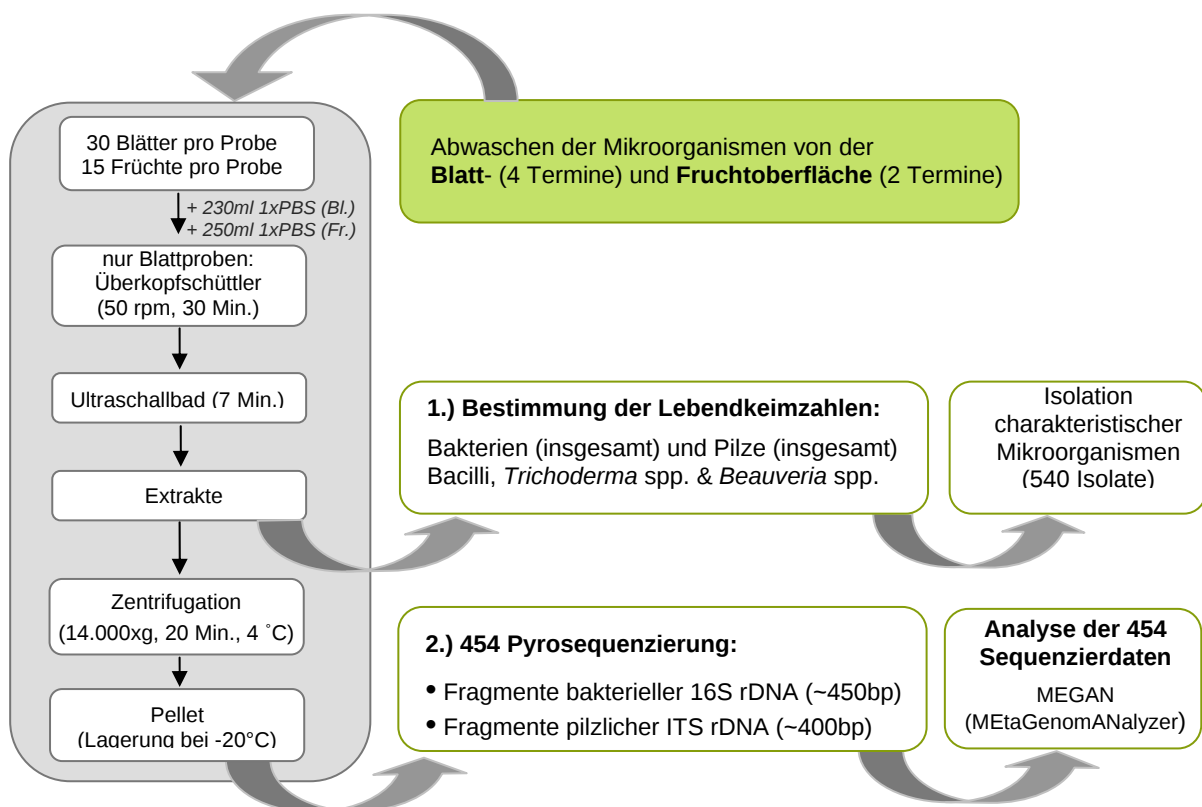
| Schaderreger                           | Krankheit                      |
|----------------------------------------|--------------------------------|
| <i>Colletrichum</i> spp.               | Schwarze Brennflecken          |
| <i>Gnomonia comari</i>                 | Gnomonia-Fruchtfäule           |
| <i>Phytophthora cactorum</i>           | Lederfäule                     |
| <i>Alternaria</i> spp.                 | Schimmelpilze                  |
| <i>Mucor</i> bzw. <i>Rhizopus</i> spp. | Weichfäule der Erdbeeren       |
| <b><i>Podosphaera aphanis</i></b>      | <b>Erdbeermehltau</b>          |
| <i>Verticillium</i> spp.               | Verticillium-Welke             |
| <i>Phytophthora cactorum</i>           | Rhizomfäule                    |
| <i>Phytophthora fragariae</i>          | Rote Wurzelfäule               |
| verschiedene Pilze, Bakterien          | Schwarze Wurzelfäule           |
| <i>Mycosphaerella fragariae</i>        | Weiss- und Rotfleckenkrankheit |
| <i>Xanthomonas fragariae</i>           | Eckige Blattfleckenkrankheit   |

Für die Erfassung des Einflusses applizierter BCAs auf die natürliche Phyllosphärenmikroflora und den Verbleib der ausgebrachten Mikroorganismen wurden an vier Terminen Blattproben (je 30 Blätter) sowie an zwei Terminen Fruchtproben (je 15 Früchte) aus jeder Parzelle entnommen (Abb. 22). Der Probenumfang entsprach 36 Proben pro Probenahme.



**Abbildung 22:** Zeitliche Abfolge der Probenahme von Blättern und Früchten im Graufäule-Versuch I (Freiland, 2010)

Aus diesen Proben wurden durch Abspülen der Mikroorganismen von der Blatt- und Fruchtoberfläche Extrakte hergestellt, die für die anschließenden mikro- und molekularbiologischen Untersuchungen verwendet wurden (Abb. 23).



**Abbildung 23:** Übersicht zum Ablauf der mikro- und molekularbiologischen Arbeiten

Zur Herstellung der Blattextrakte wurden die Blätter einer Probe in eine Pufferlösung überführt und die auf der Blattoberfläche befindlichen Mikroorganismen mittels Überkopfschüttlung sowie anschließend Ultraschallbad von den Blättern abgewaschen und in PBS-Pufferlösung suspendiert. Zur Herstellung der Fruchtextrakte wurden die Mikroorganismen nur mittels Ultraschallbad von den Früchten abgewaschen.

Aus den gewonnenen Extrakten wurde anschließend die Zusammensetzung der Phyllosphärenmikroflora mittels Lebenkeimzahlbestimmung ermittelt. Hierfür wurden jeweils 50 µl des Extrakts auf verschiedene Nährmedien plattiert, um die Gesamtkeimzahlen von Bakterien und Pilzen sowie die Lebendkeimzahlen von *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp. und *Beauveria* spp. zu bestimmen. Die Auszählung der Bacilli-Kolonien erfolgte nach einer 48-stündigen Inkubation bei 27 °C. Die Anzahl koloniebildender Einheiten der übrigen Mikroorganismengruppen wurde nach einer siebentägigen Inkubation bei 20°C erfasst. Die verschiedenen Nährmedien, deren Rezepturen und weitere Informationen sind im Anhang (Tab. B.) aufgeführt.

Das restliche Volumen der Extrakte wurde in 250 ml Zentrifugenflaschen überführt und zentrifugiert. Das Pellet wurde jeweils mit etwa 30 bis 40 ml des verbliebenen Überstands resuspendiert, in ein Zentrifugenröhrchen (50 ml) überführt und bei -20°C bis zum Beginn der molekularbiologischen Untersuchungen gelagert.

Für die molekularbiologische Weiterbearbeitung der Proben wurden die gefrorenen Suspensionen aufgetaut und erneut zentrifugiert. Aus den Pellets wurde die DNA mittels PowerSoil® DNA Isolation Kit (Süd-Laborbedarf GmbH, Gauting, Deutschland) isoliert. Anschließend wurden die Fragmente der ITS rDNA (~400 bp) und 16S rDNA (~450 bp) amplifiziert. Die verwendeten universellen primer-Paare ITS1 (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAA-GTAA-3') und ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') (Buée et al. 2009; Hirsch et al. 2011) sowie 27F (5'-MGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') und 337R (5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3') (Hamp et al. 2009) wurden durch Einfügen der Key-Primer A (CGTATCGCCTCCCTCGCGCCA) und B (CTATGCGCCTTGCCAGCCCGC), einer Schlüsselsequenz (TCAG) sowie einer proben-spezifischen Sequenz (MID) für die 454-Pyrosequenzierung modifiziert. Nach Durchführung der PCR wurden jeweils 4 µl jedes PCR-Produktes auf ein 1 %-iges Agarosegel geladen und mittels Gelelektrophorese auf Vorhandensein von 400 bp- oder 450 bp großer DNA-

Fragmente überprüft. Danach wurden die PCR-Produkte mit dem HiYield PCR Clean-up/Gel Extraction Kit (Süd-Laborbedarf GmbH, Gauting, Deutschland) gereinigt. Pilzliche ITS rDNA und bakterielle 16S rDNA PCR-Produkte wurden anschließend zu äquimolaren Konzentrationen gepoolt und für die Durchführung der **454-Pyrosequenzierung** an ein kommerzielles Labor (LGC Genomics GmbH, Berlin, Deutschland) gesendet. Die Sequenzdaten wurden mit BLAST-N-SEARCH (NCBI) auf Homologien geprüft und mittels MEGAN v4 taxonomisch gruppiert. Die molekularbiologischen Arbeiten wurden bislang nur für die Blattproben durchgeführt.

### 2.4.3. Graufäule-Versuch II (2011)

Mit Blühbeginn der Erdbeeren (BBCH 61) wurden drei verschiedene mikrobiologische Präparate (RhizoVital42<sup>®</sup> fl., BoniProtect<sup>®</sup> forte, Naturalis<sup>®</sup>) wöchentlich bis kurz vor Erntende (BBCH 89) einzeln und in Kombination gegen Graufäule appliziert (Tab. 13). 2011 wurde das Präparat BoniProtect<sup>®</sup> forte anstelle des 2010 getesteten *Trichoderma*-Produkts Trianum-P eingesetzt. Grund für diese Änderung war die unerwünschte Entwicklung von *Trichoderma*-Myzel auf gelagerten Früchten (siehe 3.3.1.).

Wie in 2010 wurden in den Kontrollvarianten eine gängige Behandlungsfolge mit Fungiziden (an vier Terminen während der Blüte) bzw. nur Wasser ausgebracht.

**Tabelle 13: Versuchsglieder im Freilandversuch 2011**

| VG    | Behandlung                                                                                                              | Konzentration der Prüfmittel |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| VG 01 | Wasser                                                                                                                  |                              |
| VG 02 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB 42)                                               | 0,07 %                       |
| VG 03 | BoniProtect <sup>®</sup> forte ( <i>Aureobasidium pullulans</i> DSM Nr. 14940 & 14941)                                  | 0,09 %                       |
| VG 04 | Naturalis <sup>®</sup> ( <i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040)                                                          | 0,07 %                       |
| VG 05 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + BoniProtect <sup>®</sup> forte                                                          | 0,07 % + 0,09 %              |
| VG 06 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + Naturalis <sup>®</sup>                                                                  | 0,07 % + 0,07 %              |
| VG 07 | BoniProtect <sup>®</sup> forte + Naturalis <sup>®</sup>                                                                 | 0,09 % + 0,09 %              |
| VG 08 | RhizoVital42 <sup>®</sup> fl. + BoniProtect <sup>®</sup> forte + Naturalis <sup>®</sup>                                 | 0,07 % + 0,09 % + 0,07 %     |
| VG 09 | Spritzfolge Fungizide (1x Signum <sup>®</sup> , 2x Switch <sup>®</sup> , 1x Teldor <sup>®</sup> + Ortiva <sup>®</sup> ) | 0,13 %; 0,1 %; 0,1 %; 0,05 % |

Für sichere Aussagen zur Qualität der mikrobiologischen Präparate wurden die Präparate an den Behandlungstagen in 1/8 RINGER-Lösung verdünnt, auf semi-selektive Nährmedien plattiert und die Lebendkeimzahlen erfasst. Die ermittelten Lebendkeimzahlen pro ml konnten mit den von Herstellern angegebenen Sporen- oder Bakterienkonzentrationen verglichen werden.

Die Erntemengen und der Graufäulebefall im Bestand wurden wie im Freilandversuch 2010 ermittelt (siehe 2.4.2).

Die Untersuchung der Graufäuleentwicklung an gelagerten Früchten wurde 2011 im Vergleich zu 2010 verändert, indem alle geernteten, gesunden Früchte berührungsfrei auf Zellstoff-Papier in Plastikkisten ausgelegt wurden. Die Kisten wurden bei Raumtemperatur aufgestellt und die Früchte alle zwei Tage (max. sieben Tage) auf Befall durch *B. cinerea* und anderen Erregern untersucht. Die faulen Früchte wurden entfernt, während die gesunden Früchte in den Kisten verblieben.

Die Anzahl und das Gewicht von "Botrytisfrüchten" wurden dokumentiert. Der Lagerversuch wurde an zwei Terminen durchgeführt. Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* an gelagerten Früchten wurde wie folgt berechnet:

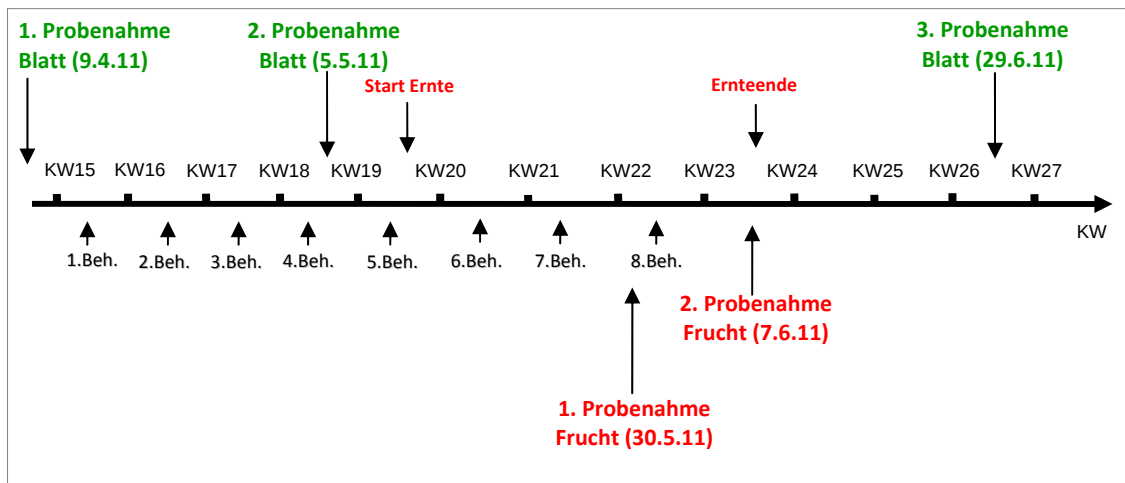
$$\text{Befallshäufigkeit von } B. \text{ cinerea (\%)} = (n_{\text{Bot}} / n_{\text{gesamt}}) \times 100 \quad (6)$$

$n_{\text{Bot}}$  = Anzahl von mit Botrytis infizierten Früchten pro Kiste

$n_{\text{gesamt}}$  = Gesamtanzahl Früchte pro Kiste

Neben Graufäule wurde auch das Auftreten von Nichtzielorganismen erfasst. Schädlinge wie z.B. Spinnmilben oder Blattläuse wurden nicht in nennenswertem Umfang an den Pflanzen beobachtet, so dass auf eine zeitaufwändige Schädlingsbonitur im Bestand verzichtet werden konnte. Das Auftreten von Spinnmilben wurde, wie im Freilandversuch 2010, lediglich in einer destruktiven Endauswertung ermittelt. Der Befall der Pflanzen mit dem Erdbeerblütenstecher (*Anthonomus rubi*) wurde wie 2010 erfasst (siehe Seiten 39-40). Der gesamte Bestand wurde zum Versuchsende außerdem auf Symptome anderer Pathogene, wie z.B. *Verticillium*, untersucht.

Wie 2010 wurden auch 2011 Blatt- und Fruchtproben entnommen, um den Verbleib der ausgebrachten BCAs auf der Pflanze sowie deren Einfluss auf die indigene Mikroflora in der Phyllosphäre zu untersuchen. Die Blattproben wurden an drei Terminen, die Fruchtproben an zwei Terminen genommen (Abb. 24). Der Probenumfang entsprach erneut 36 Proben pro Probenahme.



**Abbildung 24:** Zeitliche Abfolge der Probenahmen von Blättern und Früchten im Graufäule-Versuch II (Freiland, 2011)

Die Proben wurden wie im Freilandversuch 2010 verarbeitet (siehe 2.4.2), mit Ausnahme der Bestimmung der Lebendkeimzahlen. Anstelle des Selektivnährmediums TSM, das in 2010 für die Ermittlung der *Trichoderma*-Keimzahlen eingesetzt wurde, wurde diesmal für die Erfassung der Keimzahlen von *Aureobasidium pullulans* das Semi-Selektivnährmedium SA verwendet (Tab. B im Anhang).

## 3 Ergebnisse

### 3.1. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit von BCAs im Laborversuch

#### 3.1.1. Dualkulturtests

##### Wirksamkeit der BCAs gegenüber *B. cinerea* in vitro:

Sechsenddreißig der insgesamt 67 getesteten bakteriellen BCAs bewirkten mit Hemmzonen von mehr als 2 cm eine deutliche Hemmung des Myzelwachstums von *B. cinerea* (Tab. C im Anhang). Weitere 22 Isolate hemmten das Myzelwachstum von *B. cinerea* moderat mit Hemmzonen von 1 bis 2 cm.

Die zwanzig wirksamsten bakteriellen Antagonisten sind in Tabelle 14 in absteigender Reihenfolge aufgeführt. Mit einer mittleren Hemmzone von 4,6 cm war *Serratia proteamaculans* BSR1-2-6 der wirksamste Antagonist gegen *B. cinerea*. Da dieses Bakterium jedoch der Risikogruppe 2 zugeordnet wird (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin 2010), wurde es für weitere Untersuchungen ausgeschlossen. *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 und *Burkholderia glumae* zeigten mit einer Hemmzone von jeweils 4,2 cm ebenfalls sehr starke Hemmwirkungen gegen *B. cinerea*. Auch viele der anderen *Bacillus*-Stämme waren im Dualkulturtest hoch wirksam gegenüber *B. cinerea*.

**Tabelle 14:** Liste der 20 gegen *B. cinerea* im Dualkulturtest wirksamsten bakteriellen BCAs

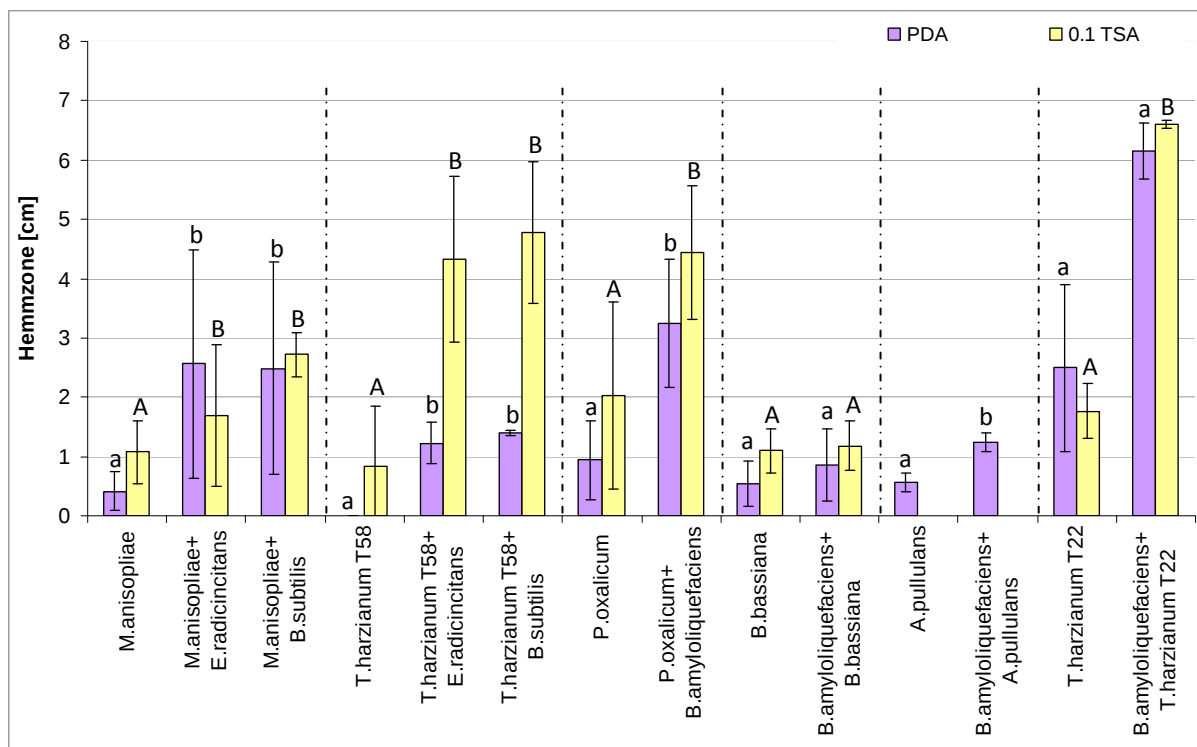
| Rang | Antagonist                                   | Präparat                      | Mittlere Hemmzone [cm] |
|------|----------------------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| 1    | <i>Serratia proteamaculans</i> BSR1-2-6      |                               | 4.6                    |
| 2    | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42      | RhizoVital <sup>®</sup> 42fl. | 4.2                    |
| 3    | <i>Burkholderia glumae</i>                   |                               | 4.2                    |
| 4    | <i>Bacillus subtilis</i> A                   |                               | 4.0                    |
| 5    | <i>Bacillus subtilis</i> A                   |                               | 3.8                    |
| 6    | <i>Enterobacter radicicitans</i> 1           | in Entwicklung (Abitep)       | 3.8                    |
| 7    | <i>Bacillus subtilis</i> FZB24               | FZB24 <sup>®</sup> fl.        | 3.8                    |
| 8    | <i>Bacillus subtilis</i> 1Pe4 - 13           |                               | 3.7                    |
| 9    | <i>Bacillus</i>                              |                               | 3.7                    |
| 10   | <i>Burkholderia glumae</i>                   |                               | 3.7                    |
| 11   | <i>Bacillus subtilis</i> QST 713             | Serenade <sup>®</sup>         | 3.6                    |
| 12   | <i>Bacillus</i>                              |                               | 3.6                    |
| 13   | <i>Pseudomonas trivialis</i> RE*1-1-14       |                               | 3.5                    |
| 14   | <i>Collimonas fungivorans</i> A23            |                               | 3.5                    |
| 15   | <i>Bacillus licheniformis</i>                |                               | 3.3                    |
| 16   | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> e-p10 P69 |                               | 3.3                    |
| 17   | <i>Serratia plymuthica</i> HRO-C48           |                               | 3.2                    |
| 18   | <i>Streptomyces graminofaciens</i>           |                               | 3.1                    |
| 19   | <i>Serratia plymuthica</i> RR2-5-10          |                               | 2.8                    |
| 20   | <i>Bacillus subtilis</i> B2g                 |                               | 2.8                    |

### Interaktionen von BCAs *in vitro*:

Die meisten der getesteten bakteriellen Antagonisten hemmten signifikant das Wachstum pilzlicher BCAs in den entsprechenden Kombinationen sowohl auf PDA als auch auf 0.1 TSA (Abb. 25). Offensichtlich produzieren die antagonistischen Bakterien auf diesen Nährmedien Sekundärmetabolite mit antifungaler Wirkung.

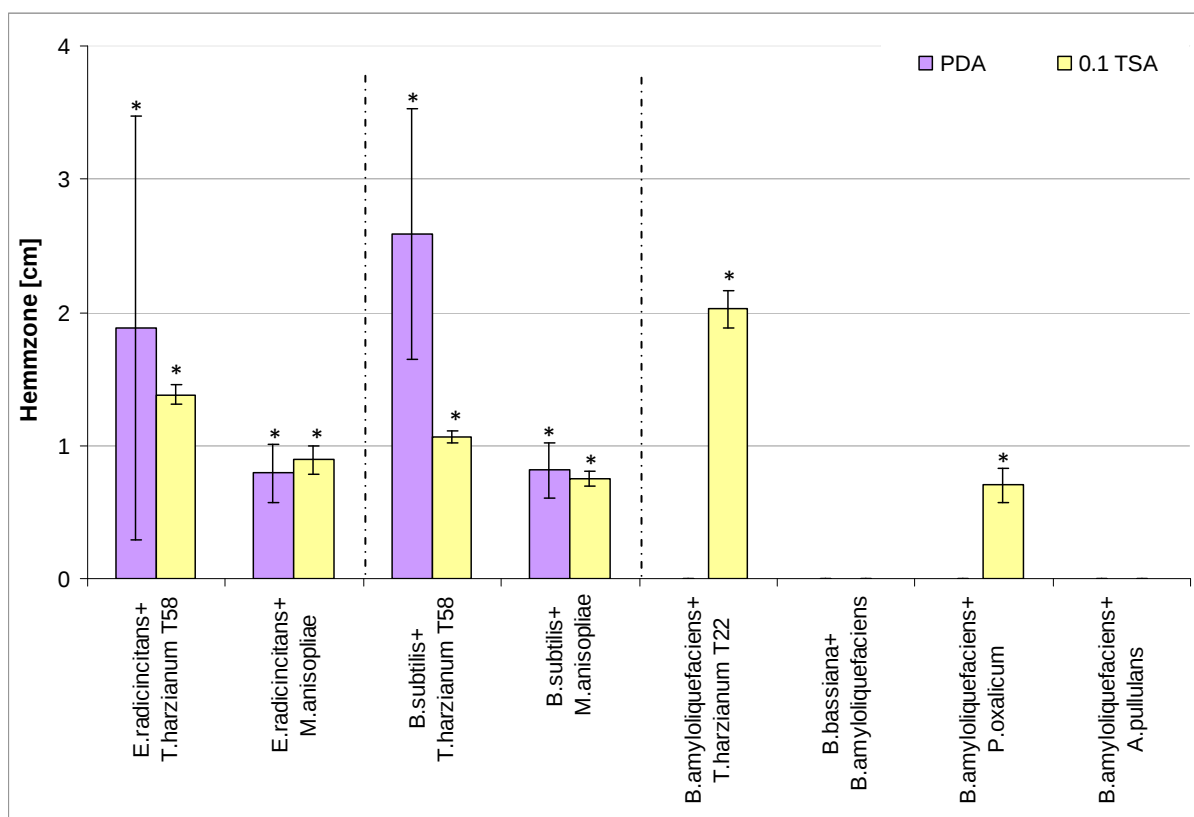
Das Myzelwachstum von *B. bassiana* wurde weder auf PDA noch auf 0.1 TSA von *B. amyloliquefaciens* gehemmt. Eine mögliche Hemmung des Wachstums von *A. pullulans* durch *B. amyloliquefaciens* konnte auf 0.1 TSA nicht bestimmt werden, da der Pilz auf diesem Nährmedium nicht gewachsen ist.

Auffällig ist, dass die mittleren Hemmzonen auf 0.1 TSA insgesamt größer waren als auf PDA, was auf eine bessere Performance der Bakterien auf diesen Platten schließen lässt.



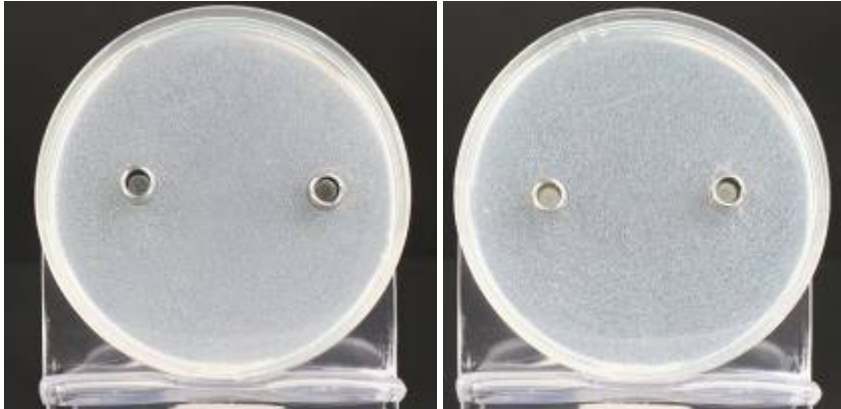
**Abbildung 25:** Mittlere Hemmwirkung bakterieller BCAs auf das Myzelwachstum antagonistischer Pilze. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrolle (Dunnett-Test,  $\alpha=5\%$ )

Abbildung 26 zeigt, dass *T. harzianum* T58 und *M. anisopliae* das Wachstum von *E. radicincitans* und *B. subtilis* sowohl auf PDA als auch auf 0.1 TSA hemmten. In den BCA-Kombinationen mit *T. harzianum* T58 waren die Hemmhöfe auf PDA insgesamt größer als auf 0.1 TSA, was auf eine bessere Performance von *T. harzianum* T58 auf PDA hindeutet. *T. harzianum* T22 und *P. oxalicum* hemmten außerdem das Bakterienwachstum von *B. amyloliquefaciens* auf 0.1 TSA, jedoch nicht auf PDA. *Beauveria bassiana* zeigte auf keinem Nährmedium eine Hemmwirkung gegenüber *B. amyloliquefaciens*. *A. pullulans* hemmte *B. amyloliquefaciens* nicht auf PDA, während auf 0.1 TSA kein Effekt durch *A. pullulans* beobachtet werden konnte, da dieser Pilz auf diesem Nährmedium nicht wuchs.



**Abbildung 26:** Mittlere Hemmwirkungen antagonistischer Pilze gegenüber bakteriellen BCAs.  
 \* = signifikant verschieden von entsprechender Kontrolle (Dunn's-Test,  $\alpha=5\%$ )

In den Zylindertests konnten auf PDA und 0.1 TSA-Nährmedium keine Hemmwirkungen zwischen den getesteten Bakterien nachgewiesen werden (Abb. 27).



**Abbildung 27:** Zylindertest zur Untersuchung antibiotischer Effekte zwischen zwei antagonistischen Bakterien. Links: Kontrollplatten. Rechts: Keine Hemmhöfe um die mit Bakteriensuspensionen gefüllten Stahlzylinder erkennbar

Die Ergebnisse der Kulturfiltrat-Tests sind in Tabelle 15 dargestellt. Die Zugabe der Kulturfiltrate von *T. harzianum* T22 und *A. quisqualis* in das Nährmedium zeigte keine signifikanten Effekte auf die Keimzahlen aller getesteten Pilze. Das deutet darauf hin, dass in diesem Experiment keine Sekundärmetabolite von *T. harzianum* T22 und *A. quisqualis* gebildet wurden. Die Zugabe des Kulturfiltrats von *M. anisopliae* in das PDA- Nährmedium bewirkte hingegen eine signifikante Reduktion der Lebendkeimzahlen von *A. quisqualis* von  $2,01 \times 10^3$  auf  $8,4 \times 10^1$  KBE/ml. Das Ergebnis weist auf die Produktion von sekundären Metaboliten durch den entomopathogenen Pilz hin, die den Hyperparasiten *A. quisqualis* beeinträchtigen. Die übrigen Pilzisolat wurden durch die Kulturfiltrate von *M. anisopliae* jedoch nicht signifikant gehemmt.

**Tabelle 15:** Einfluss der Kulturfiltrate von *T. harzianum* T22, *M. anisopliae* 43 und *A. quisqualis* auf die Keimzahlen anderer antagonistischer Pilze. Werte mit gleichen Buchstaben innerhalb einer Reihe unterscheiden sich nicht signifikant von den Werten der entsprechenden Kontrolle (Dunnett-Test,  $\alpha=5\%$ )

| Testkeime              | Keimzahlen auf PDA Platten mit Kulturfiltraten (10%) von |   |                        |   |                     |   |                     |   |
|------------------------|----------------------------------------------------------|---|------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|
|                        | Kontrolle                                                |   | <i>T.harzianum</i> T22 |   | <i>M.anisopliae</i> |   | <i>A.quisqualis</i> |   |
| <i>M.anisopliae</i>    | 8.42E+03                                                 | a | 1.39E+04               | a |                     |   | 1.11E+04            | a |
| <i>T.harzianum</i> T58 | 1.59E+03                                                 | a | 3.64E+02               | a | 2.36E+03            | a | 2.29E+03            | a |
| <i>P.oxalicum</i>      | 1.52E+04                                                 | a | 1.42E+04               | a | 1.60E+04            | a | 1.53E+04            | a |
| <i>T.harzianum</i> T22 | 1.08E+04                                                 | a |                        |   | 1.16E+04            | a | 1.48E+04            | a |
| <i>A.pullulans</i>     | 1.63E+04                                                 | a | 2.05E+04               | a | 1.90E+04            | a | 1.68E+04            | a |
| <i>B.bassiana</i>      | 9.91E+03                                                 | a | 1.24E+04               | a | 1.10E+04            | a | 1.37E+04            | a |
| <i>A.quisqualis</i>    | 2.01E+03                                                 | a | 1.35E+03               | a | 8.40E+01            | b |                     |   |

### 3.1.2. Blattscheibentests

#### Wirksamkeit der BCAs gegenüber *P. aphanis* auf Blattscheiben

In den Blattscheibentests wurden 89 BCAs hinsichtlich ihrer **Wirksamkeit gegenüber *P. aphanis*** getestet und deren Wirkungsgrade ermittelt (Tab. D im Anhang).

Tabelle 16 zeigt eine Auflistung der zwanzig wirksamsten BCAs. Die beste Wirkung erzielte *Ampelomyces quisqualis* mit einem Wirkungsgrad von 95,25%, gefolgt von *Penicillium oxalicum* und *Aureobasidium pullulans* mit einem Wirkungsgrad von jeweils 93,74%.

**Tabelle 16:** Liste der 20 gegen *P. aphanis* auf Blattscheiben wirksamsten BCAs

| Rang | Antagonist                                     | Präparat                       | Mittlerer Wirkungsgrad [%] |
|------|------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| 1    | <i>Ampelomyces quisqualis</i>                  | AQ10 <sup>®</sup> WG           | 95,25                      |
| 2    | <i>Penicillium oxalicum</i>                    |                                | 93,74                      |
| 3    | <i>Aureobasidium pullulans</i>                 |                                | 93,74                      |
| 4    | <i>Bacillus subtilis</i> 1Pe4 - 13             |                                | 87,48                      |
| 5    | <i>Trichoderma harzianum</i> T22               | Triatum-P                      | 87,48                      |
| 6    | <i>Trichoderma viride</i> ICC080               |                                | 87,48                      |
| 7    | <i>Bacillus circulans</i> (BIOLOG)             |                                | 83,95                      |
| 8    | Isolat We18 ( <i>Bacillus licheniformis</i> ?) |                                | 83,95                      |
| 9    | <i>Trichoderma harzianum</i> ICC012            |                                | 83,31                      |
| 10   | <i>Bacillus</i>                                |                                | 83,31                      |
| 11   | <i>Verticillium lecanii</i> 18                 |                                | 83,31                      |
| 12   | <i>Bacillus mycoides</i>                       |                                | 81,22                      |
| 13   | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> e-p10 P69   |                                | 80,99                      |
| 14   | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42        | RhizoVital <sup>®</sup> 42 fl. | 79,13                      |
| 15   | <i>Staphylococcus</i>                          |                                | 78,60                      |
| 16   | <i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA342          | Cedemon                        | 78,60                      |
| 17   | <i>Trichoderma harzianum</i> T58               | Trichostar <sup>®</sup>        | 76,24                      |
| 18   | Isolat RI5                                     |                                | 75,03                      |
| 19   | <i>Trichoderma harzianum</i> T39               |                                | 74,96                      |
| 20   | <i>Erwinia herbicola</i>                       |                                | 73,24                      |

#### Kombinierbarkeit von BCAs auf Blattscheiben:

Im **ersten Teil der Blattscheibentests** (Abb. 28) konnten Einzelapplikationen von *A. quisqualis* und *B. subtilis* den Befall der Blattscheiben mit *P. aphanis* nicht signifikant reduzieren. Hingegen verringerten Einzelbehandlungen mit *T. harzianum* T58, *E. radicincitans* und *M. anisopliae* den Mehltaubefall jeweils signifikant um 65 %, 60 % bzw. 62 %.

Wurde *A. quisqualis* mit jeweils einem weiteren Antagonisten (*E. radicincitans*, *M. anisopliae* bzw. *B. subtilis*) gemeinsam appliziert, so ergaben sich im Vergleich zur Kontrolle signifikante Befallsreduzierungen um 65 %, 74 % bzw. 71 % (Abb. 28 A). Auch die kombinierte Applikation von *B. subtilis* mit jeweils *A. quisqualis*, *M. anisopliae* bzw. *E. radicincitans* konnte den Mehltaubefall signifikant um 71 %, 86 % bzw. 63 % reduzieren (Abb. 28 B). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die geringen Wirkungen der einzeln applizierten Antagonisten *A. quisqualis* und *B. subtilis* durch die Zugabe eines weiteren BCA kompensiert (Kompensationseffekte) oder verbessert (Synergieeffekte) werden können.

Wird *T. harzianum* T58 zusammen mit einem anderen Antagonisten appliziert, dann ist die ursprünglich signifikante Befallsreduzierung nicht mehr feststellbar (Abb. 28 C), was auf antagonistische Wechselwirkungen mit den übrigen BCAs hindeutet. Auch gemeinsame

Behandlungen der Blattscheiben mit *E. radicincitans* und *M. anisopliae* führten dazu, dass die Befallsreduzierungen der Einzelapplikationen zu der jeweiligen Kontrolle nicht mehr signifikant waren (Abb. 28 D und E). Dies deutet auf eine wechselseitige negative Beeinflussung dieser Antagonisten hin. Kombinierte Behandlungen von *M. anisopliae* und *E. radicincitans* mit den übrigen BCAs (*B. subtilis*, *A. quisqualis* bzw. *T. harzianum*) ergaben wiederum signifikante Wirkungen gegen *P. aphanis*. Damit konnten in diesen BCA-Kombinationen keine hemmenden Wechselwirkungen nachgewiesen werden.

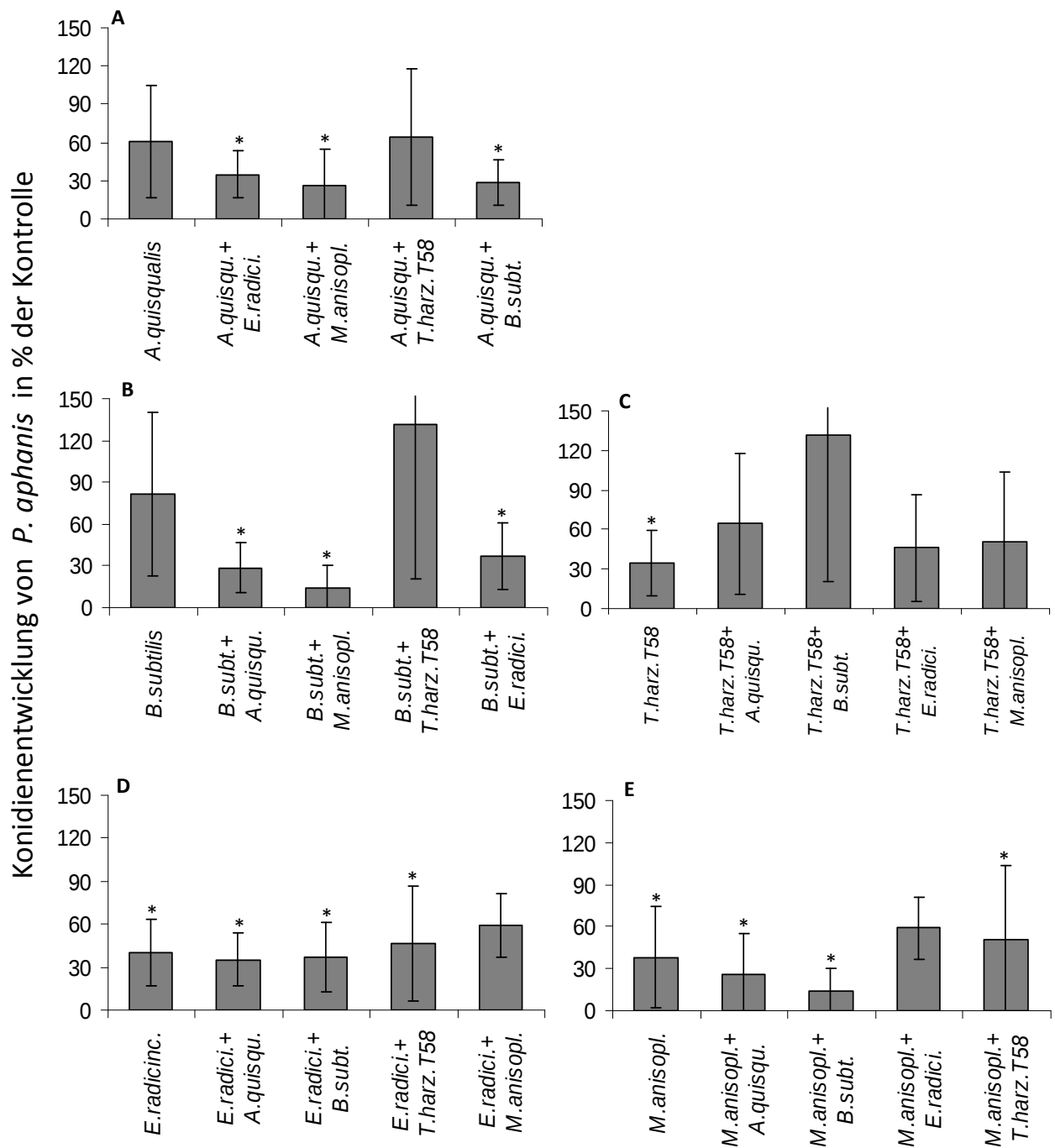
Im **zweiten Teil der Blattscheibentests** (Abb. 29) reduzierten Einzelbehandlungen der Blattscheiben mit *B. amyloliquefaciens*, *T. harzianum* T22, *B. bassiana* und *A. pullulans* den Echten Mehltau - Befall im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle jeweils signifikant um 52 %, 61 %, 42 % bzw. 59 %. Einzelapplikationen von *P. oxalicum* verringerten den Mehltaubefall nicht signifikant.

Bei kombinierten Behandlungen von *B. amyloliquefaciens* mit jeweils *T. harzianum* T22, *P. oxalicum* bzw. *A. pullulans* konnten signifikante Wirkungen erzielt werden (Abb. 29 A). Wurde *B. amyloliquefaciens* aber mit *B. bassiana* gemeinsam appliziert, war die Befallsreduzierung im Vergleich zur Kontrolle nicht mehr signifikant. Dies deutet auf eine antagonistische Wirkung von *B. bassiana* auf *B. amyloliquefaciens* hin.

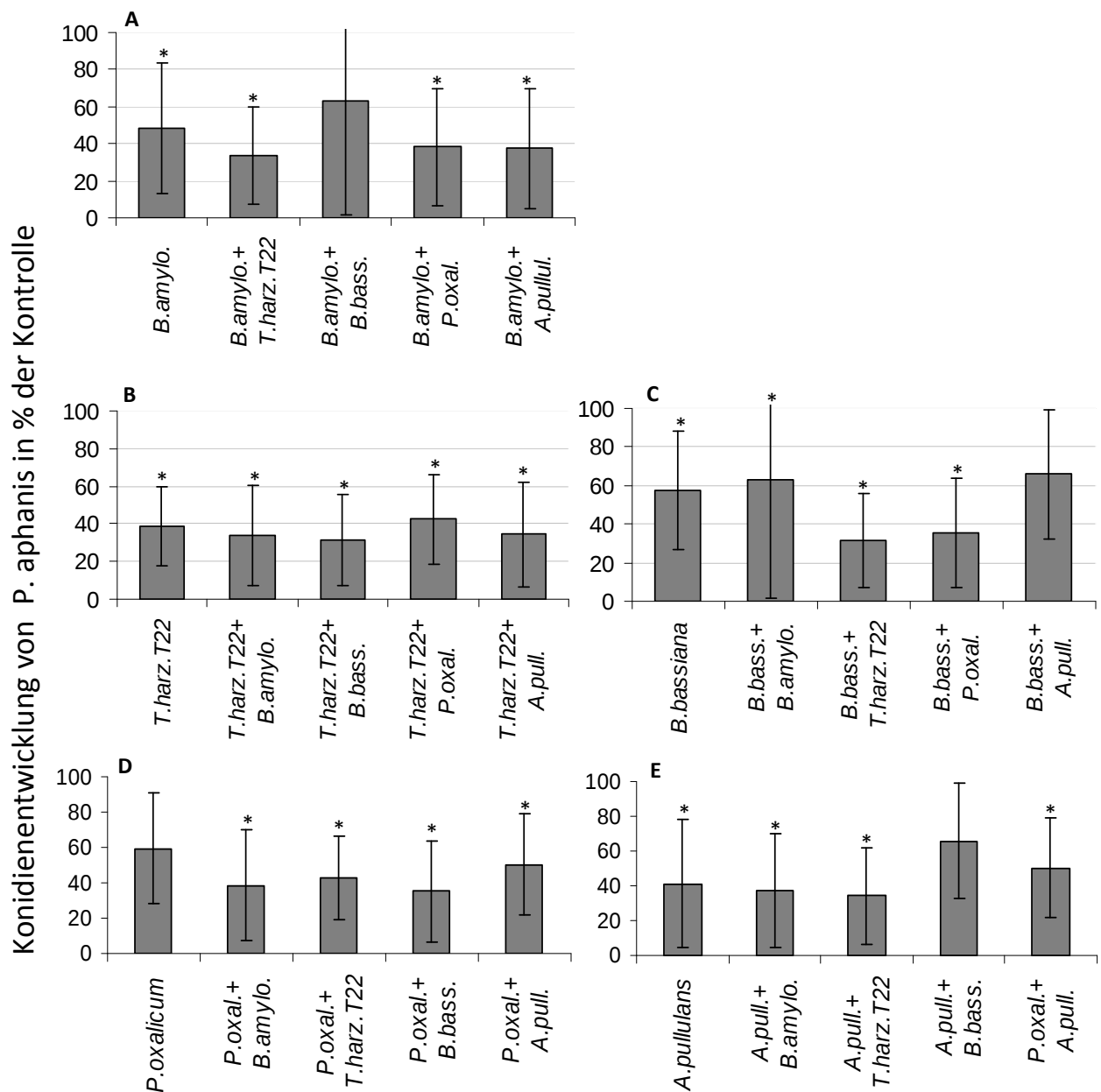
Kombinierte Behandlungen von *T. harzianum* T22 mit jeweils einem der anderen Antagonisten führten in allen Fällen zu signifikanten Befallsreduzierungen (Abb. 29 B). Auch bei diesen BCA-Kombinationen kann deshalb davon ausgegangen werden, dass keine hemmenden Wechselwirkungen vorlagen.

Im Gegensatz zu Einzelapplikationen von *P. oxalicum* ergaben kombinierte Applikationen von *P. oxalicum* mit einem der anderen BCAs im Vergleich zur Kontrollbehandlung signifikante Befallsreduzierungen (Abb. 29 D). Das weist darauf hin, dass die fehlende Wirkung von *P. oxalicum* durch die anderen BCAs kompensiert werden kann.

Wenn *B. bassiana* und *A. pullulans* jeweils gemeinsam mit *B. amyloliquefaciens*, *T. harzianum* T22 oder *P. oxalicum* appliziert wurden, waren die erzielten Befallsreduzierungen im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle signifikant (Abb. 29 C und 29 E). Demnach lagen bei diesen BCA-Kombinationen keine antagonistischen Wechselwirkungen vor. Nur die gemeinsame Behandlung der Blattscheiben mit *B. bassiana* und *A. pullulans* ergab im Vergleich zur Kontrolle keinen signifikanten Befallsunterschied, was auf antagonistische Wechselwirkungen zwischen diesen Antagonisten hinweist.



**Abbildung 28:** Auswirkungen von kombinierten BCA-Behandlungen auf den Befall von Erdbeerblattscheiben mit *Podosphaera aphanis* (1. Versuchsteil). Darstellung von BCA-Einzelbehandlungen im Vergleich zu kombinierten BCA-Behandlungen für A: *Ampelomyces quisqualis*, B: *Bacillus subtilis*, C: *Trichoderma harzianum* T58, D: *Metarhizium anisopliae* und E: *Enterobacter radicincitans*. \* = signifikant verschieden von entsprechender Kontrolle (Tukey-Test,  $\alpha=5\%$ )



**Abbildung 29:** Auswirkungen von kombinierten BCA-Behandlungen auf den Befall von Erdbeerblattscheiben mit *Podosphaera aphanis* (2. Versuchsteil). Darstellung von BCA-Einzelbehandlungen im Vergleich zu kombinierten BCA-Behandlungen für A: *Bacillus amyloliquefaciens*, B: *Trichoderma harzianum* T22, C: *Beauveria bassiana*, D: *Penicillium oxalicum* und E: *Aureobasidium pullulans* \* = signifikant verschieden von entsprechender Kontrolle (Tukey-Test,  $\alpha=5\%$ )

### 3.1.3. Blütentests

In den Blütentests wurden 22 antagonistische Pilzisolat e hinsichtlich ihrer **Wirksamkeit gegenüber *B. cinerea*** getestet und deren Wirkungsgrade ermittelt. Die Gesamtergebnisse sind dem Anhang zu entnehmen (Tab. E).

Die nachfolgende Tabelle 17 zeigt die zehn wirksamsten antagonistischen Pilze gegen *B. cinerea* auf den Blüten. Die entomopathogenen Pilze *Metarhizium anisopliae* 43 und *Beauveria bassiana* erzielten die besten Wirkungen mit 71,06 % und 63,06 % gegenüber *B. cinerea*. Weiterhin waren insgesamt drei *Trichoderma harzianum* - Isolate unter den zehn wirksamsten BCAs.

**Tabelle 17:** Liste der wirksamsten BCAs gegenüber *B. cinerea* im Blütentest

| Rang | Antagonist                       | Präparat    | Mittlerer Wirkungsgrad [%] |
|------|----------------------------------|-------------|----------------------------|
| 1    | <i>Metarhizium anisopliae</i> 43 |             | 71,06                      |
| 2    | <i>Beauveria bassiana</i>        | Naturalis®  | 63,06                      |
| 3    | <i>Metschnikowia fructicola</i>  |             | 61,53                      |
| 4    | <i>Clonostachys rosae</i> IK 726 |             | 57,71                      |
| 5    | <i>Trichoderma harzianum</i> T58 | Trichostar® | 57,68                      |
| 6    | <i>Microsphaeropsis</i> - Isolat |             | 54,43                      |
| 7    | <i>Clonostachys rosae</i>        |             | 47,43                      |
| 8    | <i>Trichoderma harzianum</i>     |             | 46,89                      |
| 9    | <i>Verticillium lecanii</i> 18   | Vertalec    | 44,72                      |
| 10   | <i>Trichoderma harzianum</i> T22 | Trianum-P   | 35,24                      |

## 3.2. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit ausgewählter BCAs gegenüber Graufäule und Echten Mehltau unter Gewächshausbedingungen

### 3.2.2. Graufäule-Versuch I (2009)

#### Ermittlung von Erntemengen und Fruchtbefall

Die Frischgewichte gesunder Früchte lagen bei allen Versuchsgliedern zwischen 70 g und 80 g, was eher niedrigen Erträgen entspricht. Das Frischgewicht fauler Früchte war insgesamt sehr gering und lag bei allen Versuchsgliedern zwischen 1,5 g und 4,0 g pro Pflanze. Die verschiedenen Behandlungen hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Erntemengen und den Fruchtbefall.

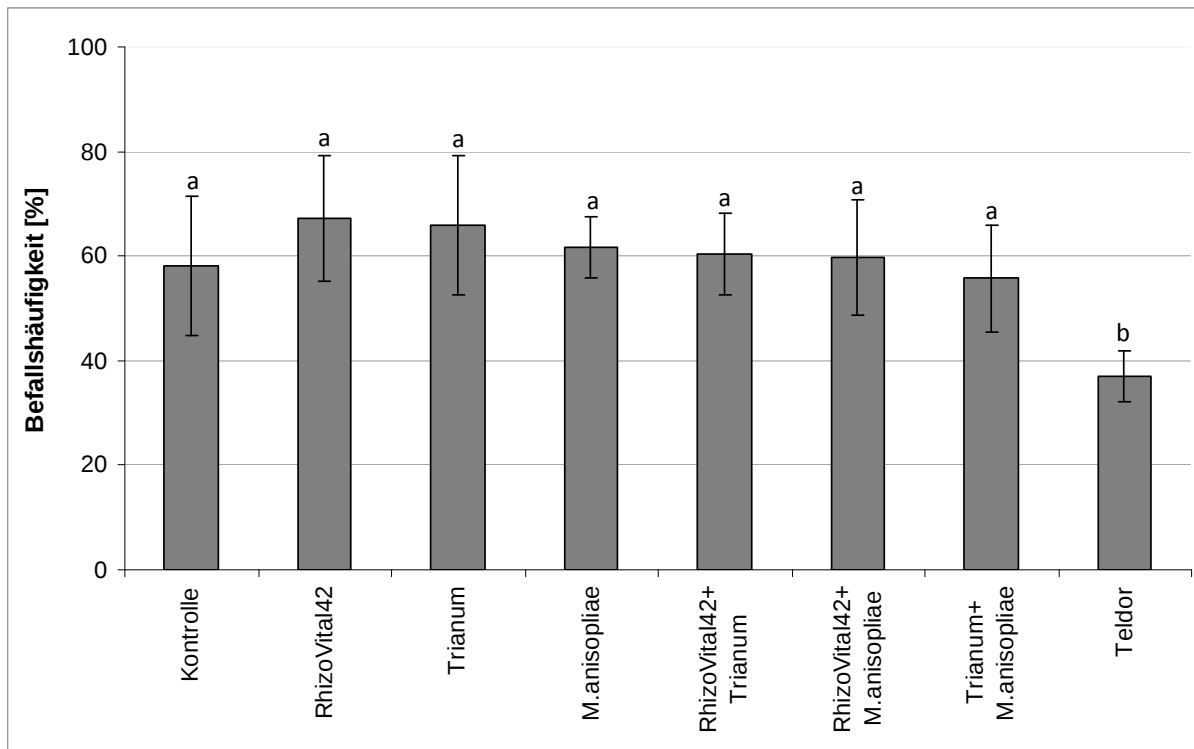
### Erfassung des Fruchtbefalls an der Pflanze

Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* lag bei allen Varianten zwischen 4,9 und 13,8 %. Damit waren in diesem Versuch keine signifikanten Behandlungseffekte der BCAs auf den Graufäulebefall nachweisbar. Entsprechend konnten auch keine signifikanten Synergie- oder Hemmeffekte durch die Kombination verschiedener BCAs gezeigt werden. Auch die Behandlung der Pflanzen mit dem konventionellen Pflanzenschutzmittel Teldor® reduzierte den Graufäulebefall nicht signifikant. Gründe für die fehlenden Behandlungseffekte waren mit hoher Wahrscheinlichkeit der insgesamt geringe Graufäulebefall (nur ca. 12 % Befall in der Kontrollvariante) sowie die hohe Streuung der Zählwerte.

### Erfassung der Graufäuleentwicklung während der Lagerung

Auf die Haltbarkeit der Erdbeerfrüchte hatten die BCA-Behandlungen nach viertägiger Lagerung bei 4°C und anschließender eintägiger Lagerung bei Raumtemperatur keinen signifikanten Einfluss. In der Kontrolle waren ca. 22 % der Früchte befallen. Auch die chemische Behandlung mit Teldor® ergab keine signifikante Befallsreduktion.

Erst bei einer längeren Lagerung (vier Tage bei 4°C und drei Tage bei Raumtemperatur) führte die Teldor®-Behandlung im Vergleich zur Kontrolle zu einem signifikant geringeren Graufäulebefall (siehe Abb. 30). Die BCA-Behandlungen zeigten auch zu diesem Zeitpunkt keine Effekte hinsichtlich des Graufäulebefalls der Früchte.



**Abbildung 30:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten nach viertägiger Lagerung bei 4 °C und einer anschließenden dreitägigen Lagerung bei Raumtemperatur. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2009, Gewächshaus)

#### Erfassung der Nichtzielorganismen

Im ersten Graufäule-Versuch sind nur wenige Nichtzielorganismen aufgetreten. Es konnte vereinzelt Raupenfraß und Echter Mehltau beobachtet werden. Aufgrund des geringen und unregelmäßigen Auftretens waren keinerlei Abhängigkeiten von den Behandlungen zu erkennen.

### **3.2.3. Graufäule-Versuch II (2011)**

#### Ermittlung von Erntemengen und Fruchtbefall

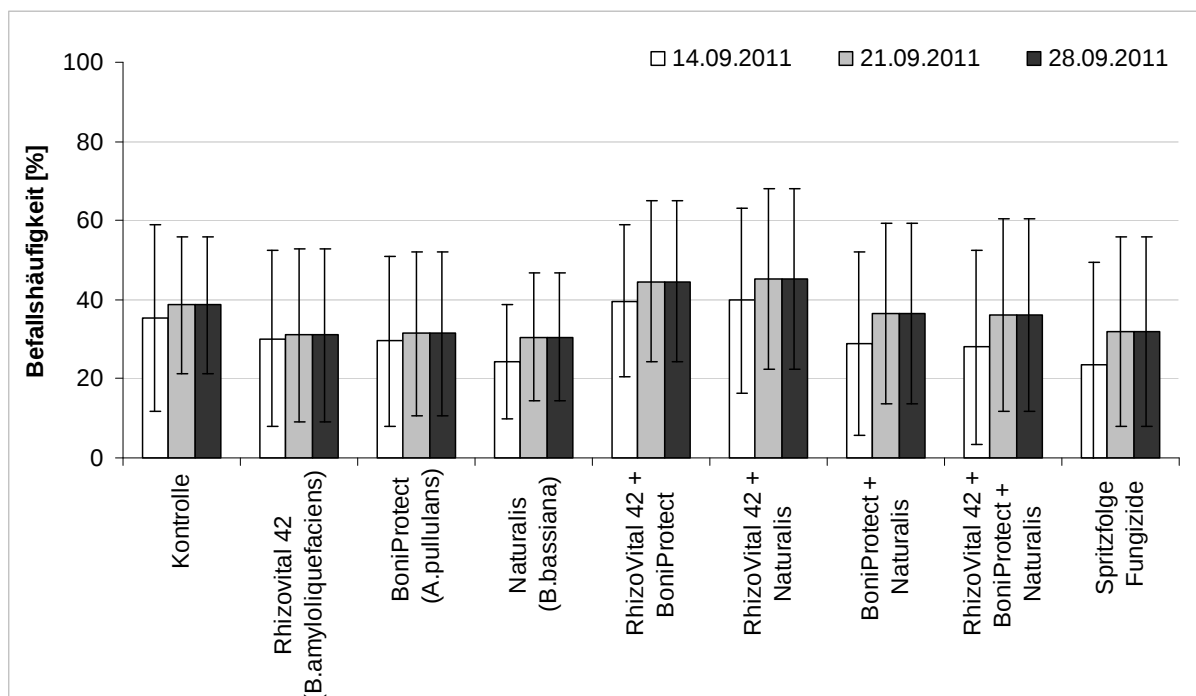
In diesem Versuch variierten die Früchte stark in ihrer Größe, was vermutlich auf eine nicht ausreichende Bestäubung zurückzuführen war. Deshalb wird in diesem Abschnitt die nur die mittlere Anzahl der Früchte pro Pflanze beschrieben.

Im Durchschnitt wurden bei allen Versuchsgliedern viereinhalb bis sechs gesunde Früchte pro Pflanze geerntet. Bei der Kontrollbehandlung konnten im Mittel 0,6 mit Graufäule befallene Früchte pro Pflanze geerntet werden. Mit RhizoVital42® fl. behandelte Pflanzen zeigten durchschnittlich 0,3 mit Graufäule befallene Früchte pro Pflanze. Die Anzahl gesunder und fauler Früchte unterschied sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Behandlungen.

#### Erfassung des Fruchtbefalls an der Pflanze

Der Anteil mit *B. cinerea* befallener Früchte lag bereits bei der ersten Bonitur (BBCH 83) zwischen 25 und 40 %, wobei jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgliedern bestanden (Abb. 31). Die hohen Ausfälle bereits vor der Ernte waren vermutlich auf den sehr hohen Befallsdruck von *B. cinerea* während der Blüte zurückzuführen: es waren bereits viele Blüten abgestorben, noch bevor sich Früchte ausbilden konnten.

An den weiteren Boniturterminen nahm die Befallshäufigkeit bei allen Varianten nur geringfügig zu, so dass auch hier keine signifikanten Unterschiede nachzuweisen waren.



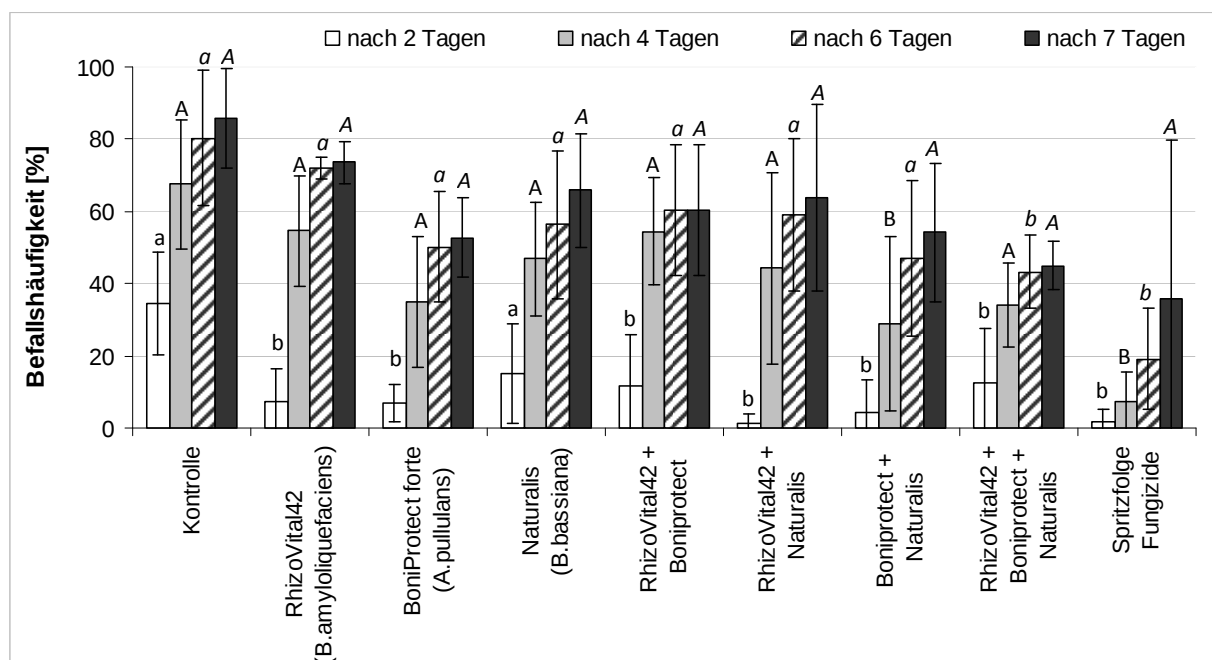
**Abbildung 31:** Auswirkungen der Behandlungen auf den Graufäulebefall der Früchte am 14.9.2011 (ANOVA:  $p=0,33$ ), 21.9.2011 (ANOVA:  $p=0,35$ ) sowie am 28.9.2011 (ANOVA:  $p=0,19$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Gewächshaus)

### Erfassung der Graufäuleentwicklung während der Lagerung

Nach einer zweitägigen Lagerung der Früchte bewirkten fast alle BCA-Behandlungen sowie die Fungizidbehandlung eine im Vergleich zur Kontrollvariante signifikante Reduktion der Befallshäufigkeit von *B. cinerea* (Abb. 32). Zu diesem Termin war lediglich die Befallshäufigkeit nach Naturalis®-Behandlung nicht signifikant reduziert.

Nach viertägiger Lagerung nahm die Befallshäufigkeit bei fast allen Versuchsgliedern zu, allerdings zeigten die Versuchsglieder BoniProtect® forte + Naturalis® sowie die Fungizidbehandlung eine signifikant geringere Befallshäufigkeit als die Kontrollbehandlung. Nach sechstägiger Lagerung war die Befallshäufigkeit nur noch bei der Kombinationsapplikation RhizoVital42® fl. + BoniProtect® forte + Naturalis® und der Fungizidanwendung signifikant reduziert. Nach siebentägiger Lagerung lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen mehr vor.

Die Ergebnisse deuten auf bessere Nachernteeffekte durch die gleichzeitige Anwendung verschiedener BCA-Präparate hin.

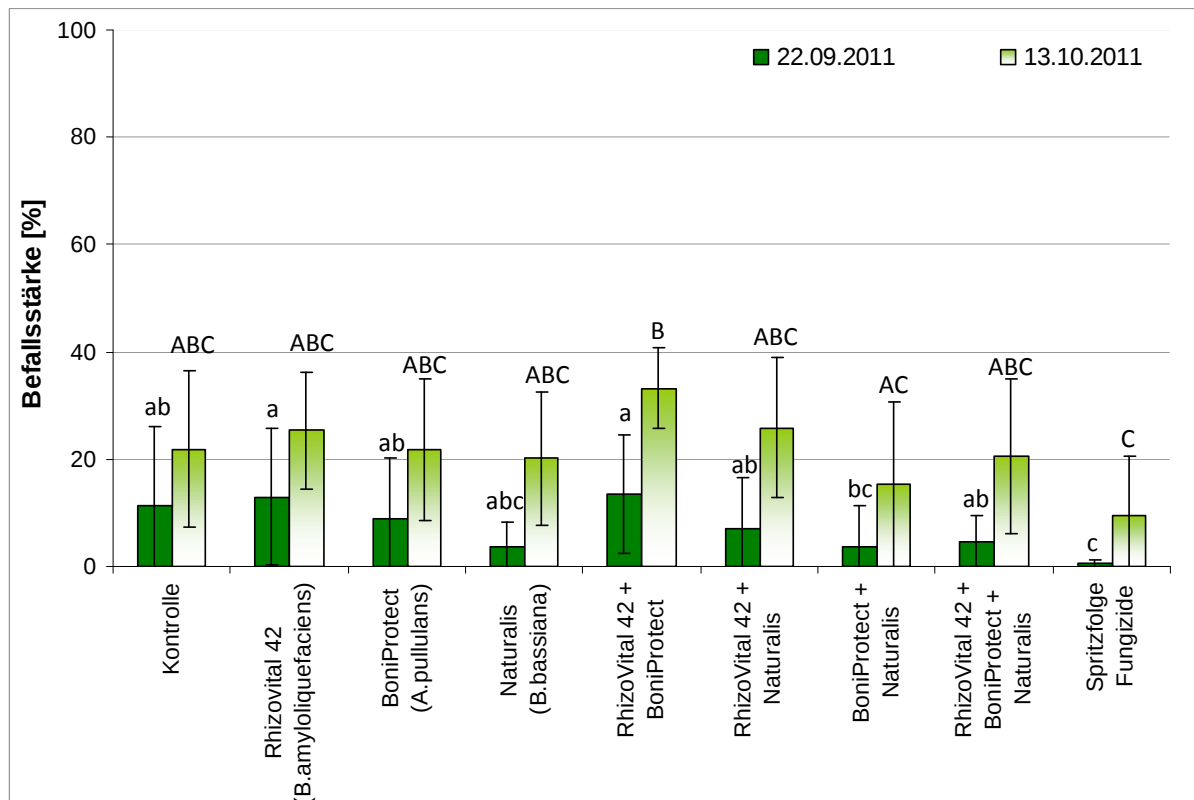


**Abbildung 32:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten während der Lagerung. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Gewächshaus)

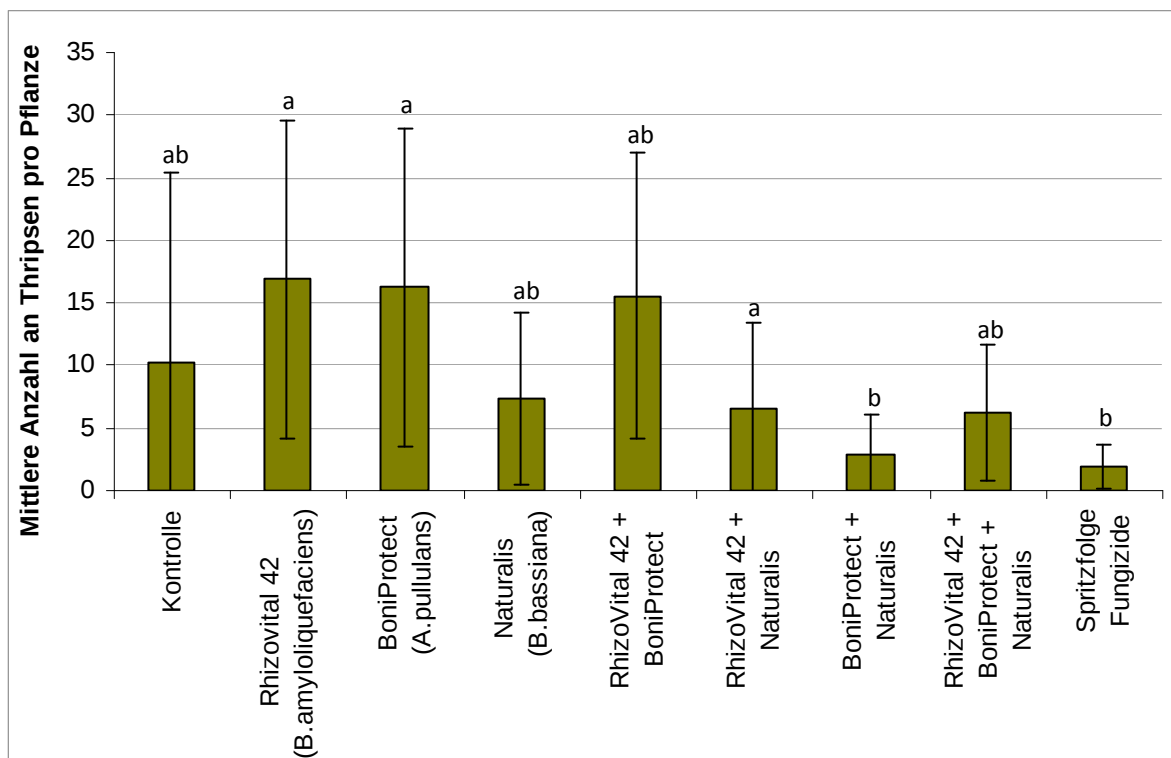
## Erfassung der Nichtzielorganismen

Während des Graufäuleversuchs II ist ein starker Befall der Pflanzen mit Echtem Mehltau sowie Thripsen aufgetreten. Während die BCA-Behandlungen keine signifikanten Wirkungen auf das Auftreten von *Podosphaera aphanis* (Abb. 33) hatten, zeigten die mit Fungiziden behandelten Pflanzen an beiden Boniturterminen signifikant weniger Mehлтаubefall als die der Kontrolle.

Die meisten BCAs zeigten ebenfalls keine signifikanten Wirkungen auf das Auftreten von Thripsen (Abb. 34). Nur die Behandlungen der Pflanzen mit BoniProtect® forte (*A. pullulans*) + Naturalis® (*B. bassiana*) sowie mit den Fungiziden führten zur einer signifikanten Reduktion des Thripsbefalls.



**Abbildung 33:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf die Befallsstärke von *Podosphaera aphanis* am 22.9.2011 (~BBCH 87) und 13.10.2011 (~BBCH 91). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Kruskal-Wallis-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Gewächshaus)



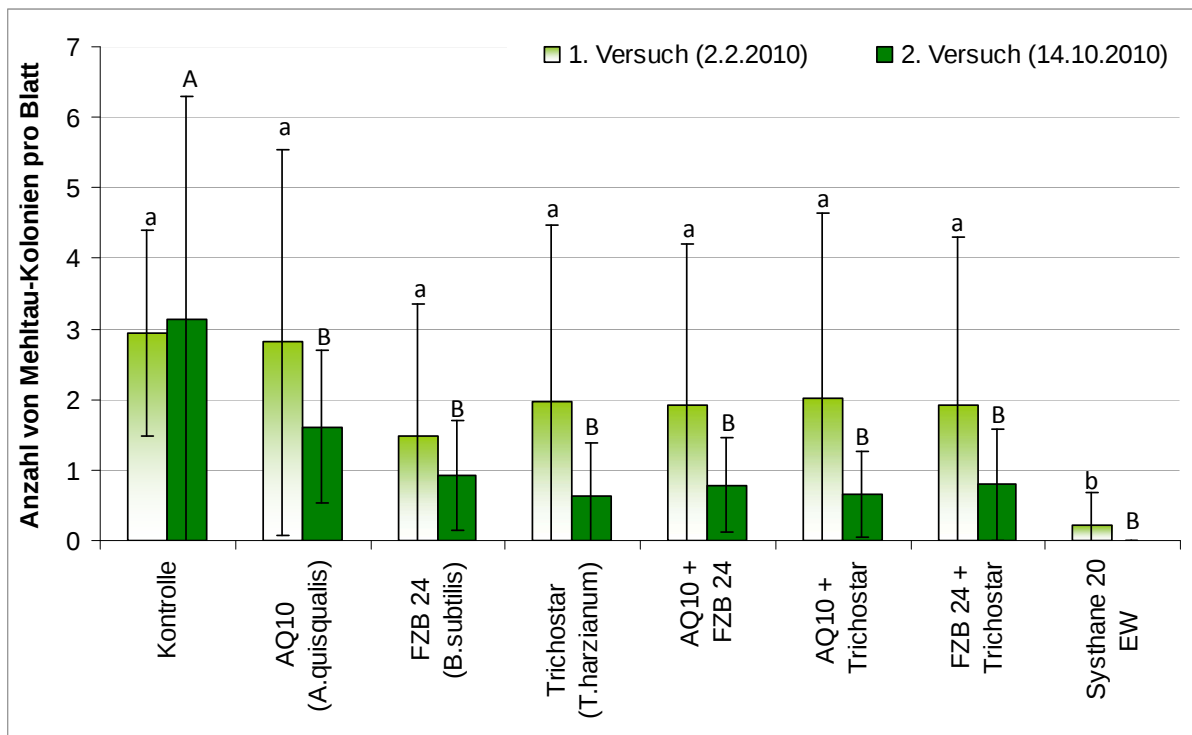
**Abbildung 34:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf das Auftreten von Thripsen. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Kruskal-Wallis-Test,  $\alpha=5\%$ ); IGraufäule-Versuch II (2011, Gewächshaus)

### 3.2.4. Mehltauversuche I + II (Gewächshaus)

Die Ergebnisse beider Versuche sind in Abbildung 35 zusammen dargestellt.

Der erste Versuch hat ergeben, dass die Behandlungen mit Systhane 20 EW den Befall der Pflanzen mit Echtem Mehltau signifikant reduzieren konnten, nicht aber die Behandlungen mit den BCAs. Im zweiten Versuch zeigten hingegen alle Behandlungen (einschließlich der BCAs und BCA-Kombinationen) einen signifikanten Effekt auf den Befall der Pflanzen mit *P. aphanis*.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der zwei Versuche lassen sich vermutlich durch die unterschiedliche Qualität der mikrobiologischen Präparate zum Zeitpunkt der Behandlungen erklären. Aus Tab. 18 geht hervor, dass im ersten Versuch weit weniger keimfähige Sporen bzw. Bakterienzellen in den Produkten vorlagen als vom Hersteller angegeben (sofern angegeben). Im zweiten Versuch war die Anzahl der Lebendkeime viel höher als im ersten Versuch, was die bessere Wirksamkeit der BCA-Präparate erklären kann.



**Abbildung 35:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Befall der Pflanzen mit *Podosphaera aphanis*. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrolle (Dunnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Gewächshausversuch 2010

**Tabelle 18:** Lebendkeimzahlen in den getesteten Präparaten

| Präparat                | Soll KBE bzw. Sporen/ml | Ist KBE bzw. Sporen/ml |                       |
|-------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|
|                         | Herstellerangabe        | 1. Versuch             | 2. Versuch            |
| AQ10 <sup>®</sup> WG    | $5 \times 10^9$         | $7,83 \times 10^3$     | $9,1 \times 10^7$     |
| FZB24 <sup>®</sup> fl.  | $2,5 \times 10^{10}$    | $2,7 \times 10^9$      | $2,25 \times 10^{11}$ |
| Trichostar <sup>®</sup> | keine Angabe            | $5 \times 10^3$        | $1,44 \times 10^{10}$ |

Des Weiteren waren die Temperaturen im Gewächshaus beim ersten Versuch ( $\varnothing 16,7\text{ °C}$ ) niedriger als beim zweiten ( $\varnothing 20,3\text{ °C}$ ). Das kann ebenfalls dazu beigetragen haben, dass die Wirksamkeit der mikrobiologischen Präparate im ersten Versuch beeinträchtigt war.

#### Erfassung der Nichtzielorganismen

In beiden Versuchen sind keine Nichtzielorganismen aufgetreten.

### **3.3. Wirksamkeit und Kombinierbarkeit ausgewählter BCAs gegenüber Graufäule unter Freilandbedingungen**

#### **3.3.1. Graufäule-Versuch I (2010)**

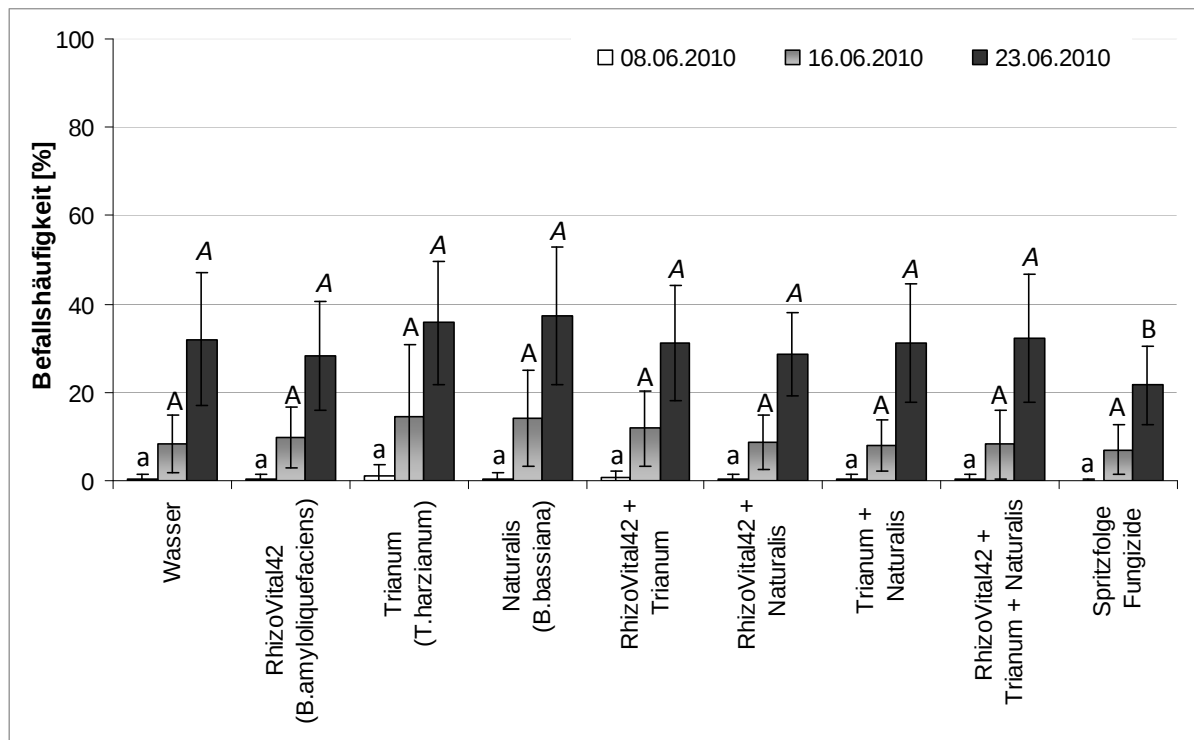
##### Ermittlung von Erntemengen und Fruchtbefall

Die Fruchterträge lagen zwischen 430 g und 610 g pro Pflanze. Das Gewicht von mit Graufäule befallenen Früchten war relativ gering und lag insgesamt zwischen 31 g und 57 g je Pflanze. Entsprechend hatten die BCA-Behandlungen keinen signifikanten Einfluss auf den Ertrag sowie auf das Gewicht der mit Graufäule befallenen Früchte. Selbst die Fungizidbehandlungen der Pflanzen führten nicht zu höheren Erträgen, was vermutlich auf den insgesamt geringen Graufäulebefall zurückzuführen war.

##### Erfassung des Fruchtbefalls im Feld

Die getesteten mikrobiologischen Präparate und Präparatkombinationen wirkten sich nicht signifikant auf die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* im Bestand aus (Abb. 36). Es konnte lediglich zum dritten Boniturtermin eine befallsreduzierende Wirkung durch die Fungizidbehandlungen gezeigt werden.

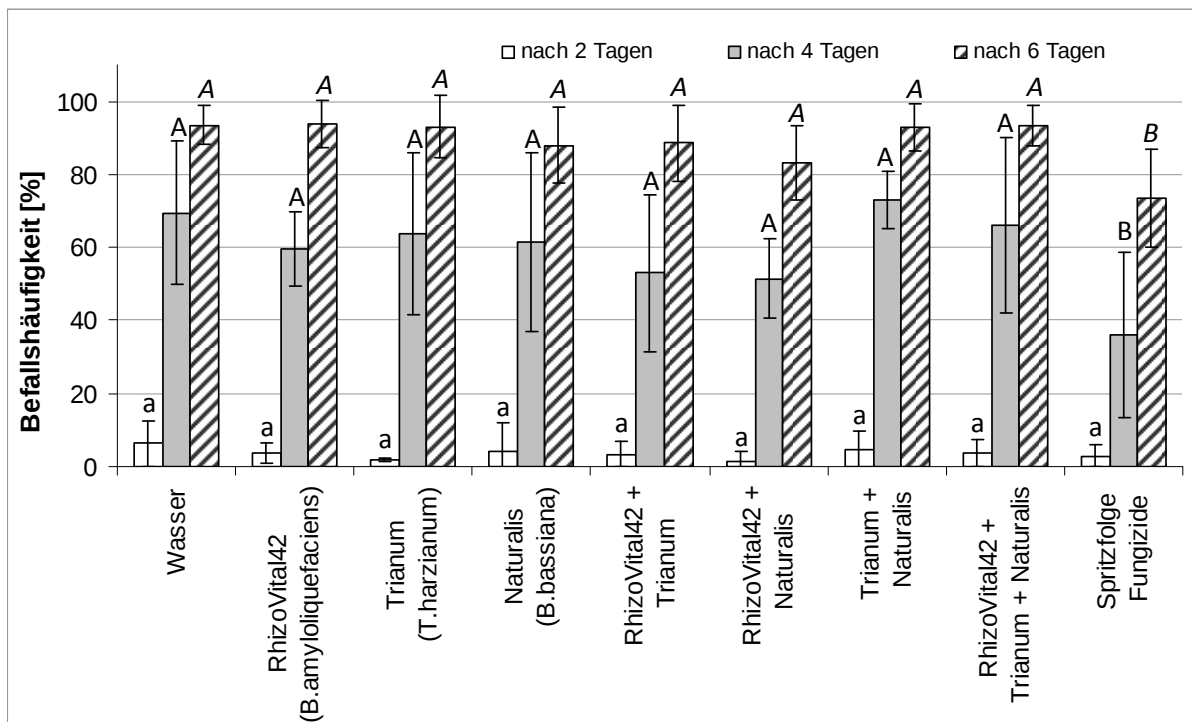
Trotz der starken Niederschläge zur Blüte und zu Erntebeginn und trotz der Förderung von *B. cinerea* durch die nicht stattfindende Beerntung der meisten Pflanzen, lag die Befallshäufigkeit zum letzten Boniturtermin (Ernteende) in der Kontrollvariante unerwartet bei nur 30 %. Damit war der Pathogendruck vermutlich so gering, dass in diesem Versuch keine Behandlungsunterschiede nachgewiesen werden konnten.



**Abbildung 36:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrolle (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2010, Freiland)

#### Erfassung der Graufäuleentwicklung während der Lagerung

Die Behandlungen der Erdbeerpflanzen mit den getesteten BCAs und BCA-Kombinationen zeigten keine Effekte auf die Graufäuleentwicklung während der Lagerung. Für den 2. Einlagerungstermin konnte jedoch ein reduzierter Graufäulebefall bei Früchten der Fungizidvariante nachgewiesen werden (Abb. 37).



**Abbildung 37:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten während der Lagerung (2. Lagerversuch, 17.6.2010). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2010, Freiland)

Die mit dem Produkt Trianium-P behandelten Erdbeerfrüchte waren nach einer viertägigen Lagerung mit einem Pilzrasen von *Trichoderma harzianum* überzogen (Abb. 38). Damit ist *T. harzianum* offensichtlich nicht für eine Applikation bei Erdbeeren geeignet.



**Abbildung 38:** Mit Trianium-P behandelte Erdbeerfrüchte nach sechstägiger Lagerung (2. Einlagerungstermin) mit Pilzrasen von *T. harzianum*

### Erfassung der Nichtzielorganismen

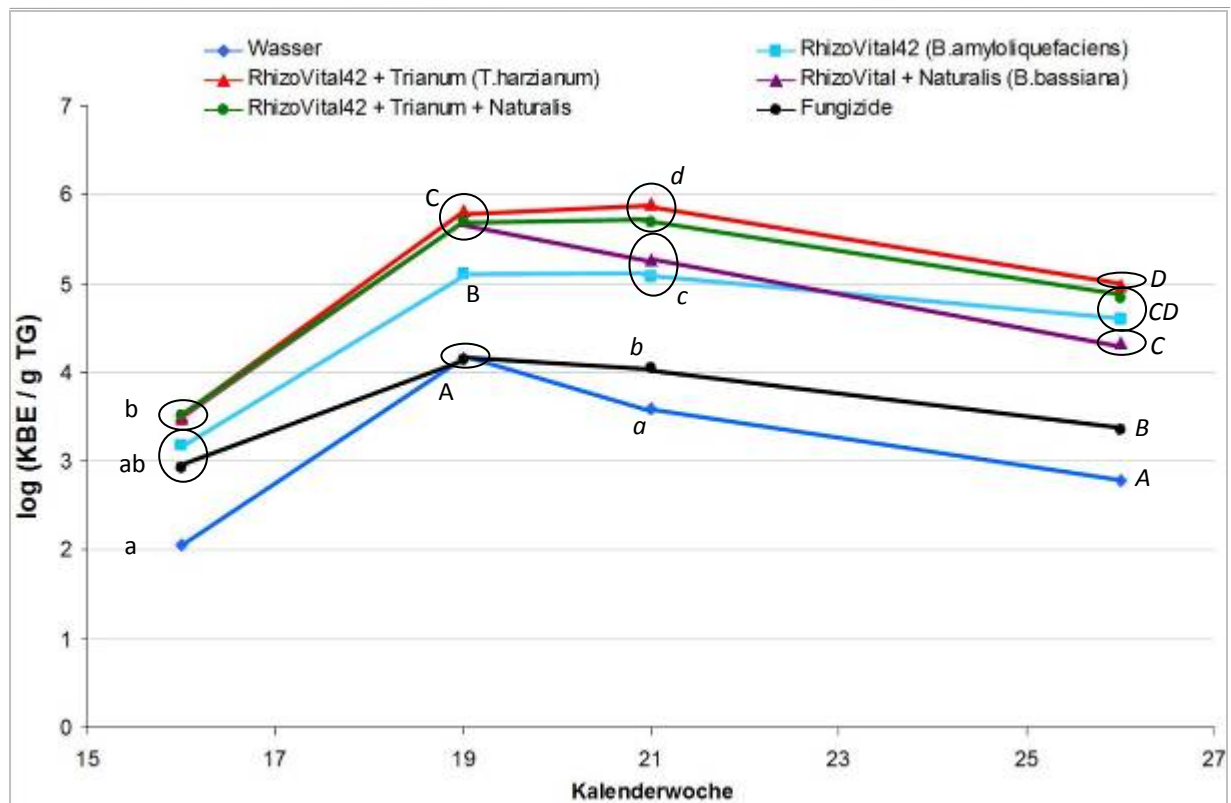
Die getesteten BCAs und BCA-Kombinationen hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Spinnmilben und Blattläusen, deren Populationsdichte insgesamt nur gering war. Auch Einflüsse der Behandlungen auf das Auftreten des Erdbeerblütenstechers sowie anderer Krankheitserreger konnten nicht beobachtet werden.

### Nachweis der BCAs und der indigenen Mikroorganismen in der Phyllosphäre mittels Lebendkeimzahlbestimmung

Ausgewählte Ergebnisse zur Bestimmung der Lebendkeimzahlen aus Blatt- und Fruchtextrakten sind in den nachfolgenden Abbildungen 39 bis 41 dargestellt.

Abbildung 39 zeigt die aus verschiedenen Blattextrakten ermittelten und logarithmierten Lebendkeimzahlen von *Bacillus* spp. pro Gramm Blatt-Trockengewicht (TG) im zeitlichen Versuchsverlauf. Nach Beginn der BCA-Behandlungen waren die Keimzahlen auf den Blättern, die zuvor mit RhizoVital42<sup>®</sup> fl. (*B. amyloliquefaciens* FZB42) behandelt wurden, an allen Terminen im Vergleich zu den mit Wasser und Fungiziden behandelten Blättern signifikant erhöht.

Die gleichzeitige Applikation von Trianum-P (*T. harzianum* T22) und Trianum-P + Naturalis<sup>®</sup> (*B. bassiana*) bewirkte an allen drei Terminen einen signifikanten Anstieg der Keimzahlen von *Bacillus* spp. im Vergleich zur Einzelapplikation von RhizoVital42<sup>®</sup> fl. Dieses Ergebnis deutet auf einen synergistischen Effekt der gemeinsamen BCA-Applikation hin, welcher sich positiv auf die Entwicklung von *B. amyloliquefaciens* auf der Blattoberfläche auswirkte.

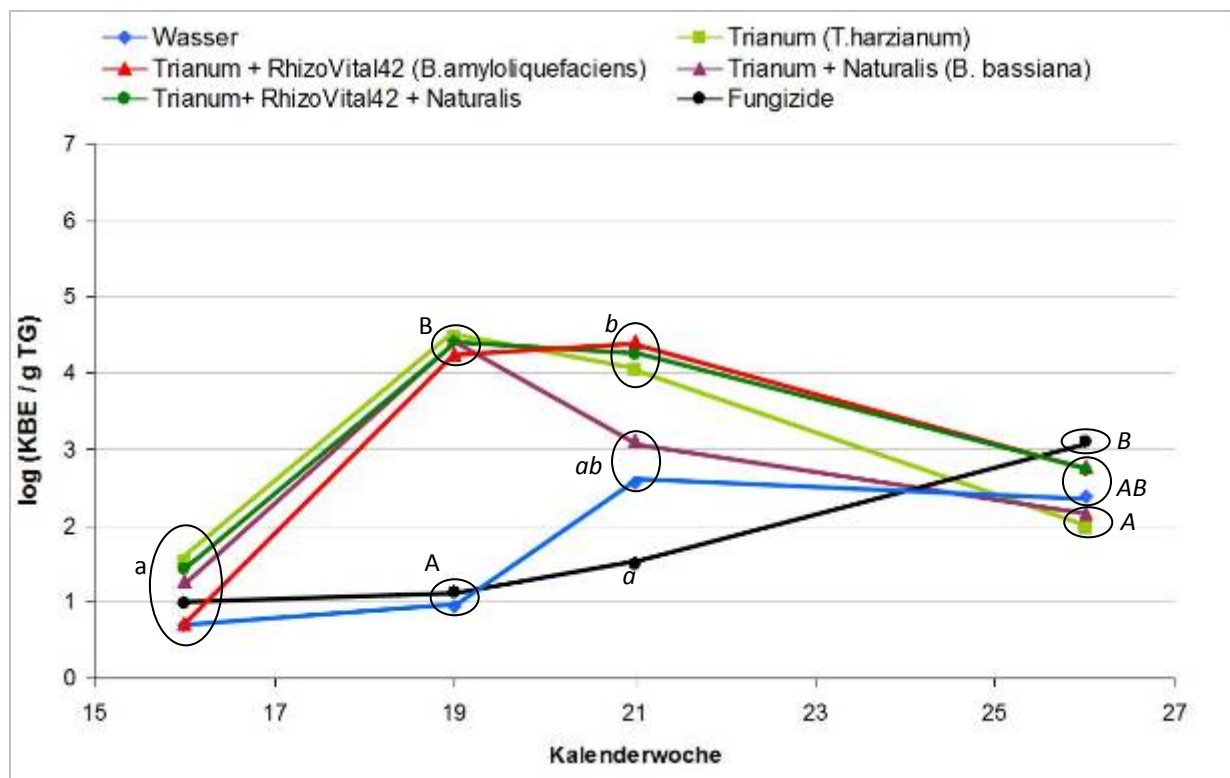


**Abbildung 39:** Lebendkeimzahlen von *Bacillus* spp. im Zeitverlauf in Blattexttrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander (Tukey-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2010, Freiland)

Abbildung 40 zeigt die aus verschiedenen Blattexttrakten ermittelten und logarithmierten *Trichoderma*-Lebendkeimzahlen im zeitlichen Versuchsverlauf.

Bei der zweiten und dritten Probenahme waren die *Trichoderma*-Keimzahlen auf den mit Trianum-P (*T. harzianum* T22) behandelten Blättern im Vergleich zur Wasserkontrolle bzw. der Fungizidbehandlung signifikant erhöht. Dabei wurden die *Trichoderma*-Keimzahlen nicht durch eine gleichzeitige Applikation mit anderen BCAs beeinflusst. Am vierten Probenahme-Termin konnte kein signifikanter Unterschied der Lebendkeimzahlen zwischen den mit Trianum-P behandelten Blättern sowie der Wasserkontrolle festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt lag die letzte BCA-Behandlung sieben Tage zurück.

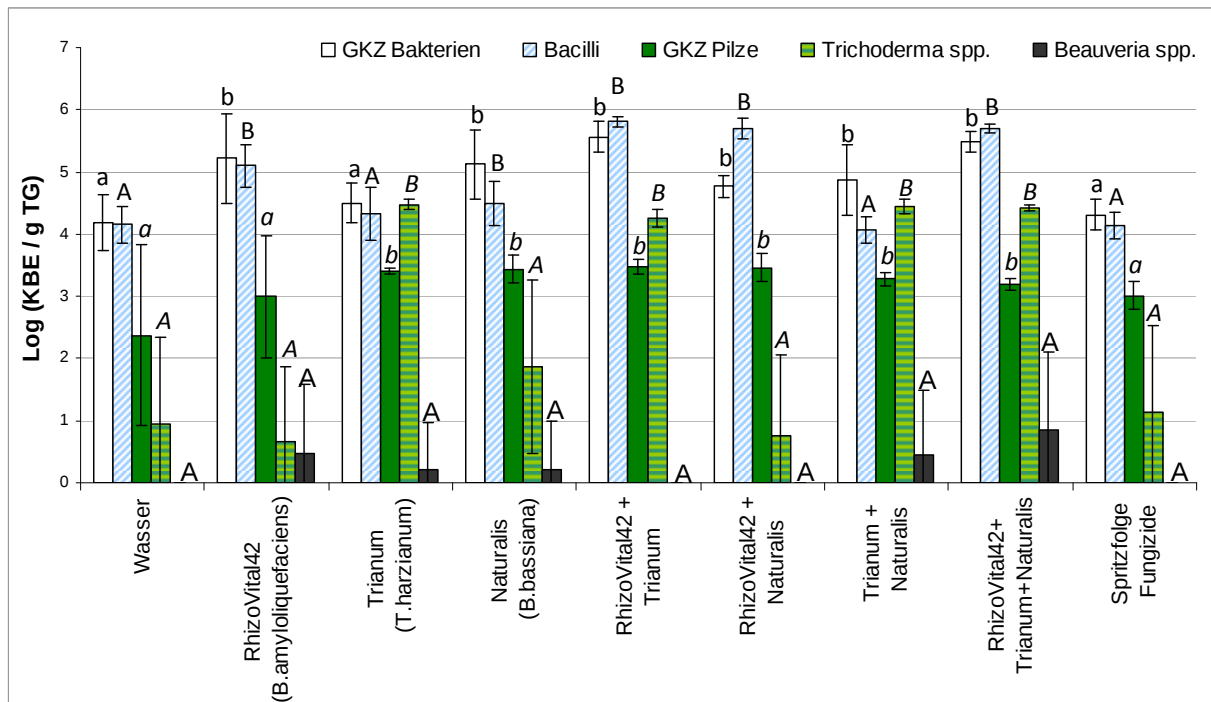
Die Lebendkeimzahlen von *Beauveria* spp. waren im gesamten Versuchsverlauf sehr gering. Auf den Blattproben konnten maximal 8,5 KBE pro Gramm Trockengewicht gefunden werden, auf den Früchten maximal 9 KBE pro Gramm Frischgewicht.



**Abbildung 40:** Lebendkeimzahlen von *Trichoderma* spp. im Zeitverlauf in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander (Tukey-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2010, Freiland)

Abbildung 41 zeigt die Ergebnisse der Lebendkeimzahlbestimmung im Hinblick auf mögliche Effekte der BCAs auf die natürliche Mikroflora am 11.5.2010. Zu diesem Termin wurden die Präparate bereits zweimal auf die Pflanzen appliziert, zuletzt einen Tag vor Entnahme der Blätter. Damit repräsentierte nur die Wasserbehandlung (Kontrolle) die natürliche Zusammensetzung der Mikroflora in der Phyllosphäre. Diese bestand zu einem Großteil aus Bakterien (ca.  $4,2 \times 10^4$  KBE/g TG), wobei die Bacilli mit Keimzahlen von  $4,1 \times 10^4$  KBE/g TG dominierten. Die Keimzahlen der Pilze<sub>gesamt</sub> ( $2,3 \times 10^2$  KBE/g TG) und *Trichoderma* spp. (ca.  $1 \times 10^1$  KBE/g TG) waren deutlich niedriger als die der Bakterien.

Bei den mit Trianum-P (*T. harzianum* T-22) behandelten Versuchsgliedern waren die Gesamtkeimzahlen der Pilze sowie die Keimzahlen von *Trichoderma* spp. im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. Außerdem konnten in den Parzellen, in denen das Präparat RhizoVital42<sup>®</sup> fl. (*B. amyloliquefaciens* 42) ausgebracht wurde, signifikant mehr Bakterien bzw. Bacilli isoliert werden als in der Kontrollvariante. Es konnten jedoch keine Auswirkungen der ausgebrachten BCAs auf die natürliche Mikroflora beobachtet werden (Abb. 41).



**Abbildung 41:** Lebendkeimzahlen von Mikroorganismen in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen (Probenahme: 11.5.2010). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch I (2010, Freiland)

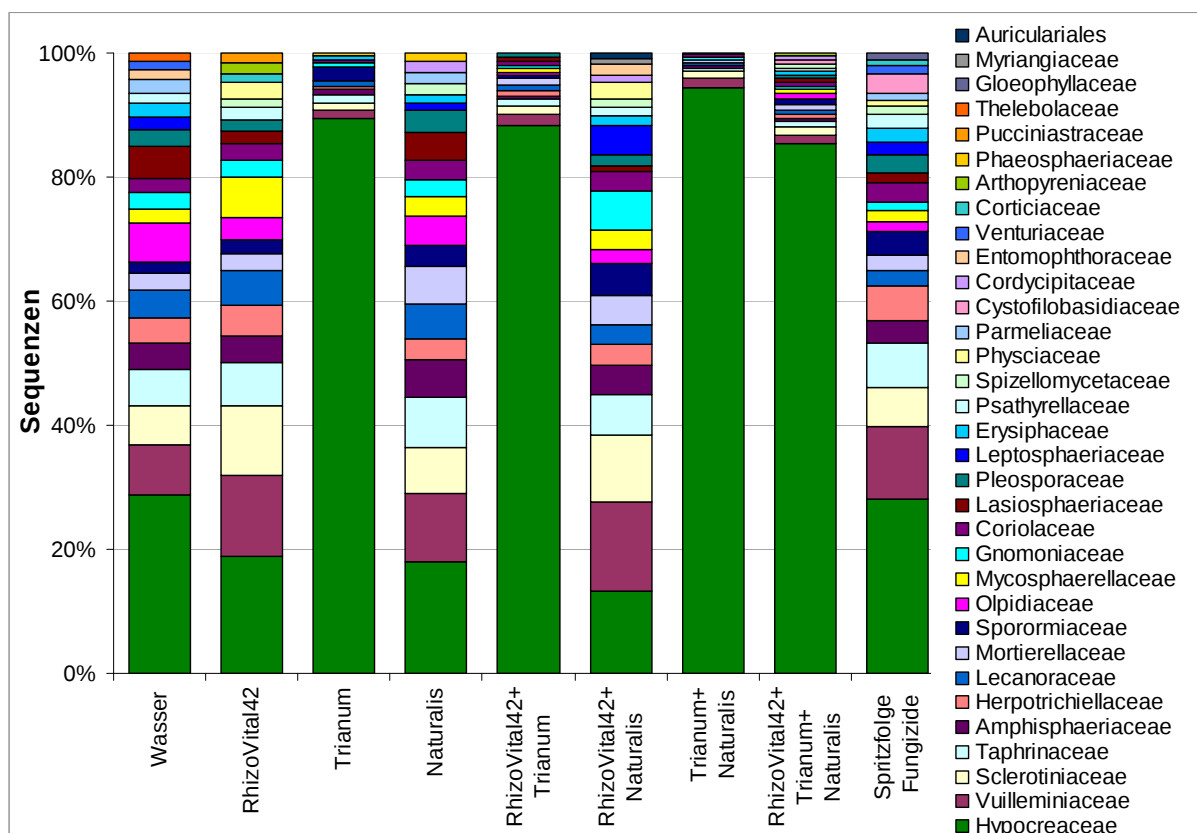
#### Ergebnisse der molekularbiologischen Analyse der Phyllosphärenmikroflora

Mit Hilfe der 454-Pyrosequenzierung wurden nahezu 90.000 DNA-Sequenzen (ca. 59.000 ITS sowie ca. 28.800 16S rDNA – Sequenzen) ermittelt. Diese wurden anschließend mit bereits bekannten Sequenzeinträgen mit der NCBI-Datenbank verglichen und taxonomisch zugeordnet.

In Abb. 42 ist die relative Häufigkeit der ITS-Sequenzen (Pilze gruppiert auf „Familienebene“) der verschiedenen Blattextrakte zum Zeitpunkt der zweiten Probenahme dargestellt. Zu diesem Termin waren die Pflanzen bereits zweimal mit BCAs behandelt, zuletzt einen Tag vor Entnahme der Blätter. Damit repräsentierte die Wasserbehandlung die „natürliche“ Zusammensetzung der pilzlichen Phyllosphärenmikroflora.

Die dargestellten Säulen für die Behandlungen mit RhizoVital42® fl. (*B. amyloliquefaciens* FZB42), Naturalis® (*B. bassiana*), RhizoVital42® fl. + Naturalis® und Fungiziden zeigen ähnliche Verteilungsmuster der detektierten pilzlichen Familien wie die der Kontrollbehandlung. Das deutet darauf hin, dass diese Behandlungen keinen erkennbaren Effekt auf die Zusammensetzung der pilzlichen Mikroflora auf der taxonomischen Ebene „Familie“ hatten.

Die Säulen für die Behandlungen mit Trianum-P (*T. harzianum* T22), RhizoVital42® fl. + Trianum-P, Trianum-P + Naturalis®, RhizoVital42® fl. + Trianum-P + Naturalis® hingegen zeigten ein anderes Verteilungsmuster als das der Kontrollbehandlung. Hier war der Anteil an Hypocreaceae-Sequenzen jeweils um ca. 60 % erhöht. *Trichoderma harzianum* wird taxonomisch der Familie der Hypocreaceae zugeordnet. Da die relative Häufigkeit der Hypocreaceae-Sequenzen in allen Proben, die mit dem *Trichoderma*-Präparat behandelt wurden, stark erhöht war, ist es sehr wahrscheinlich, dass es sich bei den meisten Hypocreaceae-Sequenzen um Sequenzen von *Trichoderma harzianum* gehandelt hat. Entsprechend waren die anderen Pilzfamilien in nur geringer relativer Abundanz vertreten.



**Abbildung 42:** Relative Abundanz von ITS rDNA-Sequenzen auf der taxonomischen Ebene „Familie“ in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen (Probenahme: 11.5.2010)

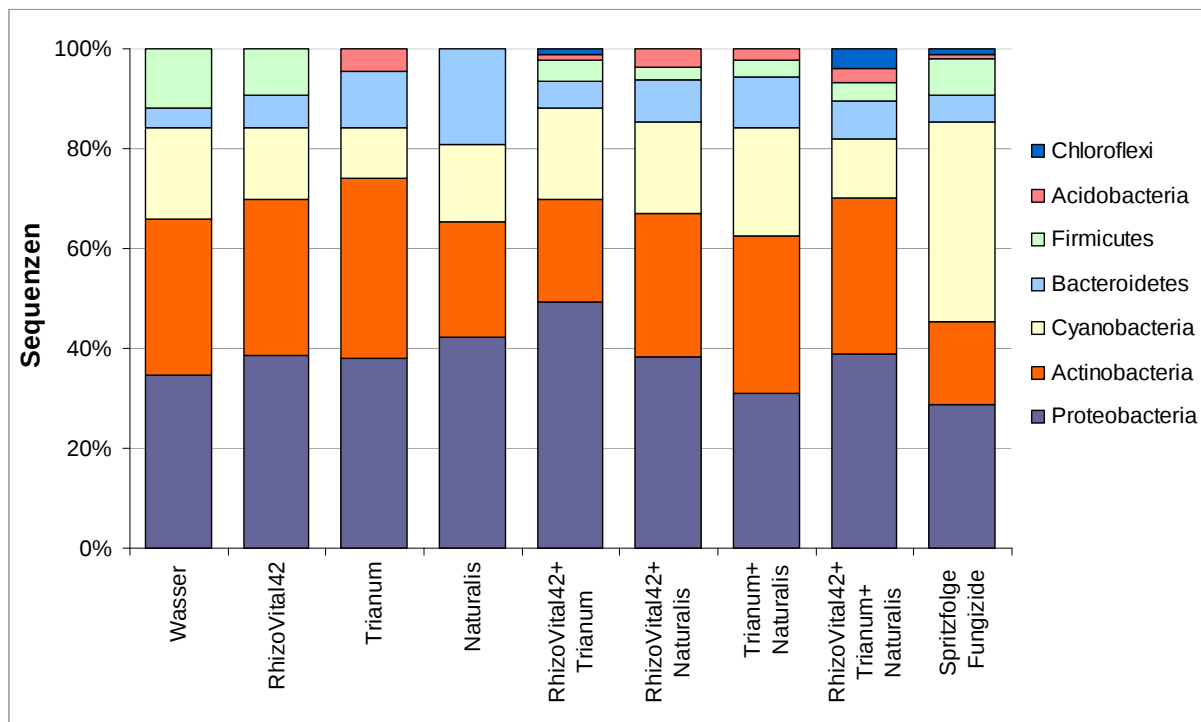
Der entomopathogene Pilz *Beauveria bassiana* wird taxonomisch in die Familie der Cordycipitaceae eingruppiert. Die Abundanz an ITS-Sequenzen, die der Familie Cordycipitaceae zugeordnet werden konnten, war in den Proben mit Naturalis®-Behandlungen insgesamt sehr gering. Dieses Ergebnis deckt sich mit den sehr niedrigen

Lebendkeimzahlen von *Beauveria* spp. und deutet darauf hin, dass dieser Pilz nicht von der Blattoberfläche extrahiert werden konnte.

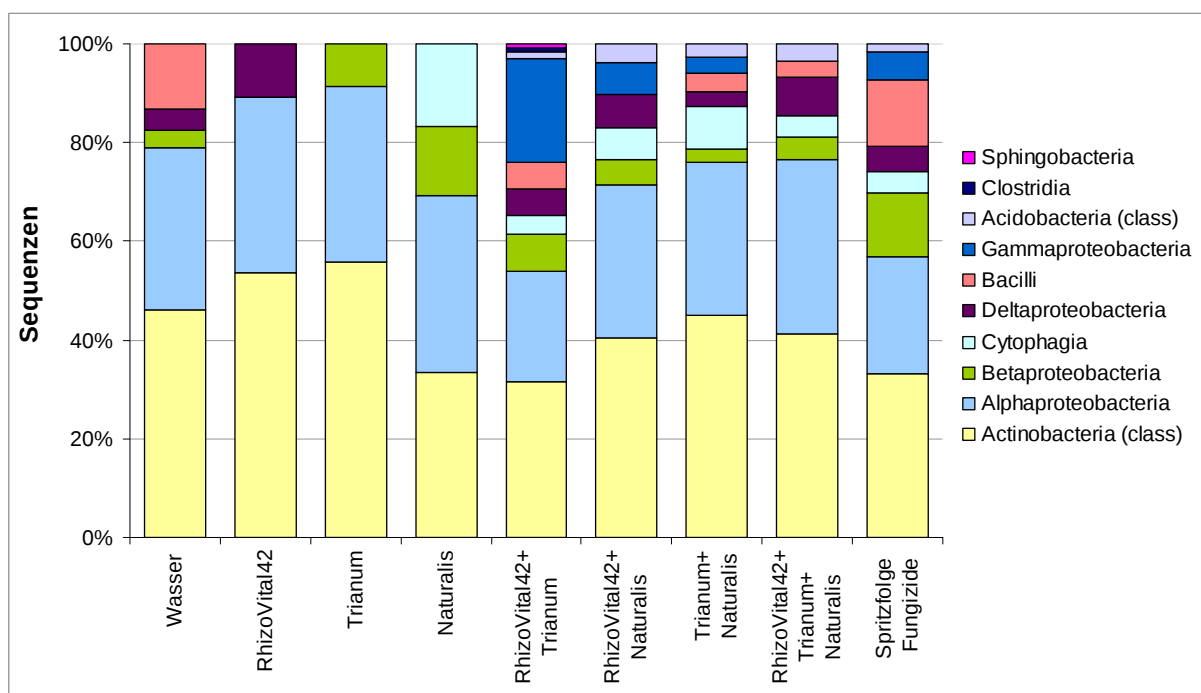
In Abb. 43 ist die relative Häufigkeit der bakteriellen 16S rDNA-Sequenzen (dargestellt auf der taxonomischen Ebene „Phylum“) in den verschiedenen Blattextrakten zum Zeitpunkt der zweiten Probenahme aufgezeigt. In der Kontrollbehandlung sind Proteobacteria (34,7 %) und Actinobacteria (31,2 %) die am häufigsten vertretenen Phyla, wohingegen 11,9 % der 16S rDNA-Sequenzen dem Phylum Firmicutes zugeordnet werden konnten.

Beim Vergleich der Verteilungsmuster der verschiedenen Versuchsglieder und der Kontrollbehandlung sind keine auffälligen Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterien auf Phylum-Ebene zu erkennen. Das deutet darauf hin, dass auf dieser taxonomischen Ebene kein Effekt der BCAs auf die natürliche Mikroflora in der Phyllosphäre nachgewiesen werden konnte. Es bedeutet aber auch, dass die Ausbringung des *Bacillus*-Präparates RhizoVital42® fl. nicht zu einer erhöhten Abundanz an Bacilli-Sequenzen (Phylum: Firmicutes) führte.

Es wird vermutet, dass die ausgebrachten Endosporen von *B. amyloliquefaciens* FZB42 nicht auf der Blattoberfläche ausgekeimt sind und es schließlich nicht gelungen ist, die DNA aus den abgewaschenen Endosporen von *B. amyloliquefaciens* FZB42 mit dem verwendeten DNA - Extraktions - Kit zu isolieren. Diese Vermutung wird bestätigt, wenn man die relative Häufigkeit der 16S rDNA-Sequenzen in den verschiedenen Blattextrakten auf der taxonomischen Ebene „Klasse“ betrachtet (Abb. 44). Hier zeigten alle Versuchsglieder, die Behandlungen mit dem *Bacillus*-Präparat RhizoVital42® fl. einschlossen, entweder keine oder nur wenige Bacilli-Sequenzen. Allerdings konnte bei der Lebendkeimzahlbestimmung (siehe Abb. 39) ein im Vergleich zur Kontrolle signifikant höherer Wert beobachtet werden.

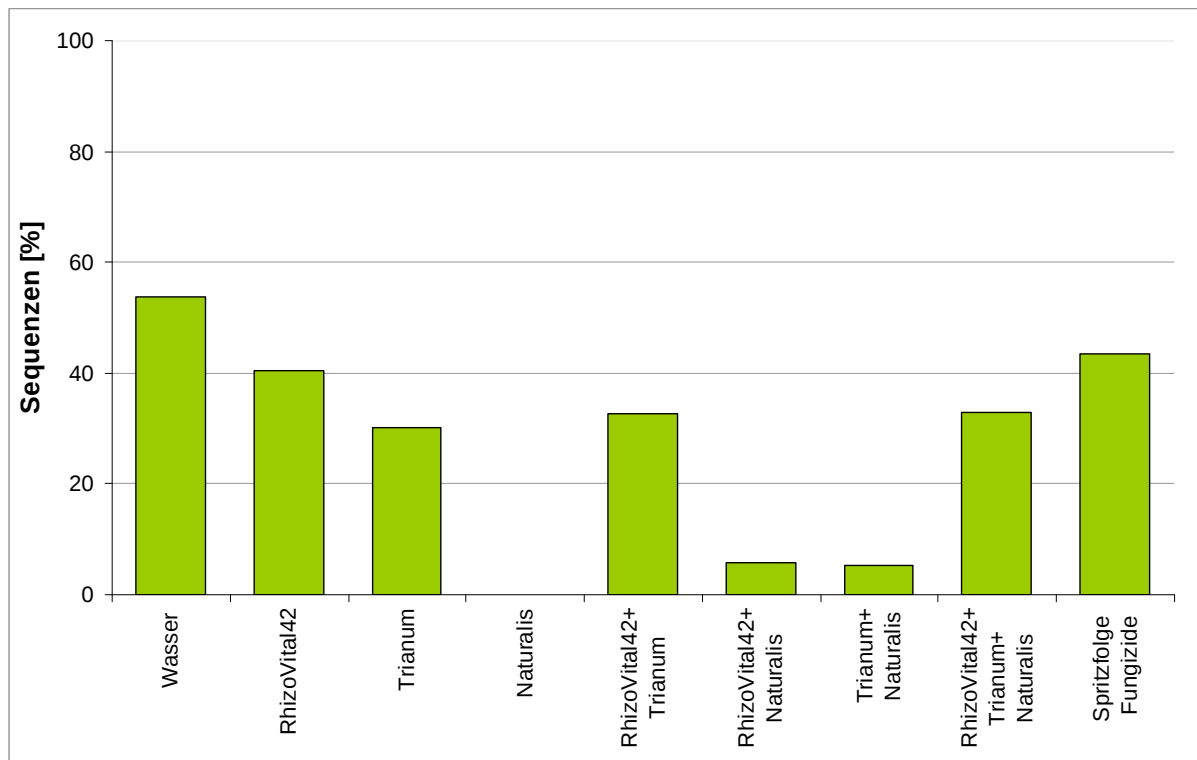


**Abbildung 43:** Relative Abundanz von 16S rDNA-Sequenzen auf der taxonomischen Ebene „Phylum“ in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen (Probenahme: 11.5.2010); Graufäule-Versuch I (Freiland)



**Abbildung 44:** Relative Abundanz von 16S rDNA-Sequenzen auf der taxonomischen Ebene „Klasse“ in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen (Probenahme: 11.5.2010); Graufäule-Versuch I (Freiland)

Die Ergebnisse der 454-Pyrosequenzierung zeigten außerdem, dass neben Fragmenten bakterieller 16S rDNA auch Fragmente pflanzlicher 16S rDNA (wahrscheinlich aus Chloroplasten) mit den verwendeten Primern amplifiziert und sequenziert wurden (Abb. 45). Dies mag damit zusammenhängen, dass die Chloroplasten in den Pflanzen ursprünglich von Cyanobakterien abstammen (Endosymbiontentheorie). Entsprechend liegen teilweise starke Homologien in der 16S rDNA von Chloroplasten und Cyanobakterien vor.



**Abbildung 45:** Relative Abundanz von 16S rDNA-Sequenzen in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen, die in das Reich „Viridiplantae“ eingruppiert wurden (Probenahme: 11.5.2010)

### 3.3.2. Graufäule-Versuch II (2011)

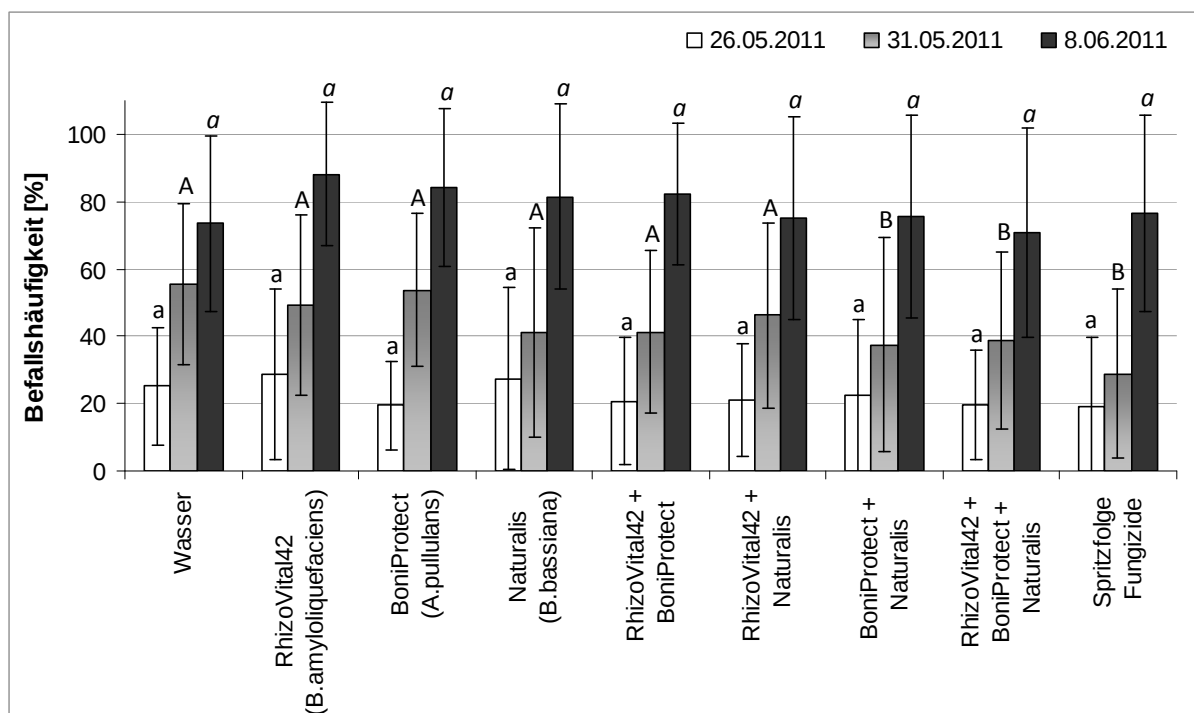
#### Ermittlung von Erntemengen und Fruchtbefall

Im zweiten Freilandversuch zur Graufäulebekämpfung zeigten die BCA- und Fungizidbehandlungen keinen signifikanten Effekt auf die Erntemenge. Die Fruchtgewichte je Pflanze waren in diesem Jahr bei allen Versuchsgliedern mit etwa 130 g bis 175 g sehr gering, was auf den zu Blühbeginn aufgetretenen Spätfrost und die hierbei entstandenen Frostschäden zurückzuführen war. Der Ausfall an Früchten durch *Botrytis cinerea* lag bei allen Versuchsgliedern unter 3 %.

## Erfassung des Fruchtbefalls im Feld

Die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* im Bestand war in diesem Versuch deutlich höher als im Vorjahr. Beim ersten Boniturtermin lag die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* zwischen 15 und 25 %, wobei die Versuchsglieder sich hinsichtlich des Graufäulebefalls nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden (Abb. 46).

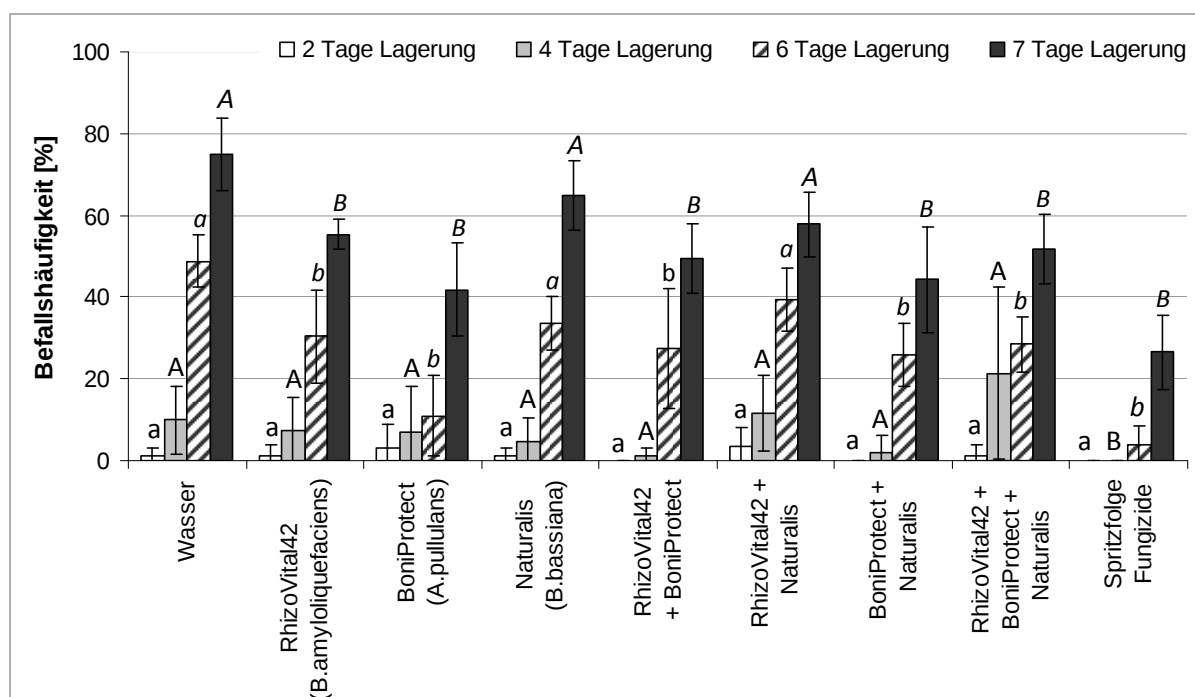
Am zweiten Termin reduzierten die BCA-Kombinationen BoniProtect® forte + Naturalis® und RhizoVital42® fl. + Boniprotect® forte + Naturalis® sowie die Fungizidbehandlungen die Befallshäufigkeit signifikant auf 37,4 %, 38,9 % und 28,9 % im Vergleich zur Kontrollbehandlung (55 %). Die Einzelapplikationen der BCAs bewirkten hingegen keine signifikanten Befallsreduzierungen. Bei der dritten Bonitur lag die Befallshäufigkeit in den Kontrollparzellen bereits bei 73,4 %. Zu diesem Zeitpunkt konnten, vermutlich aufgrund des nun sehr hohen Befallsdrucks, jedoch keine Befallsunterschiede zu den übrigen Behandlungen mehr nachgewiesen werden.



**Abbildung 46:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten. Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Freiland)

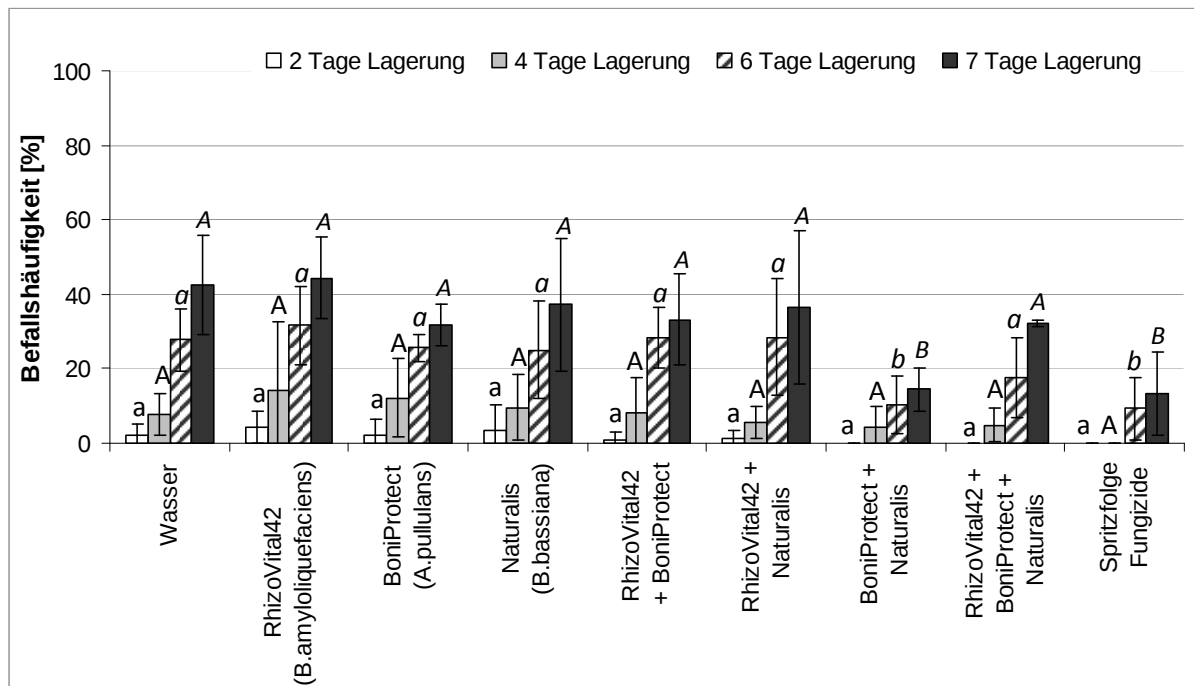
### Erfassung der Graufäuleentwicklung während der Lagerung

Im ersten Lagerversuch zeigten die BCA-Behandlungen nach einer zwei- und viertägigen Lagerung der Früchte keinen signifikanten Einfluss auf die Befallshäufigkeit von *B. cinerea* (Abb. 47). Nach einer sechstägigen bzw. siebentägigen Lagerung wiesen die mit Wasser behandelten Früchte eine Befallshäufigkeit von 48,7 % bzw. 74,9 % auf. An diesen Terminen zeigten die Früchte, die zuvor mit RhizoVital42® fl. und BoniProtect® forte sowie mit den meisten BCA-Kombinationen (RhizoVital42® fl. + BoniProtect® forte, BoniProtect® forte + Naturalis®, RhizoVital42® fl. + Boniprotect® forte + Naturalis®) behandelt wurden, einen im Vergleich zur Kontrollbehandlung signifikant geringeren Graufäulebefall.



**Abbildung 47:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten während der Lagerung (1. Lagerversuch, 16.5.2011). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Freiland)

Im zweiten Lagerversuch waren nach einer zwei- und viertägigen Lagerung ebenfalls keine signifikanten Behandlungsunterschiede in der Befallshäufigkeit von *B. cinerea* feststellbar (Abb. 48). Nach sechs- und siebentägiger Lagerung zeigten die zuvor mit der Kombination BoniProtect® forte + Naturalis® sowie die mit Fungiziden behandelten Früchte einen im Vergleich zur Kontrollbehandlung signifikant reduzierten Graufäulebefall.



**Abbildung 48:** Auswirkungen der BCA-Behandlungen auf den Graufäulebefall von Früchten während der Lagerung (2. Lagerversuch, 23.5.2011). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Freiland)

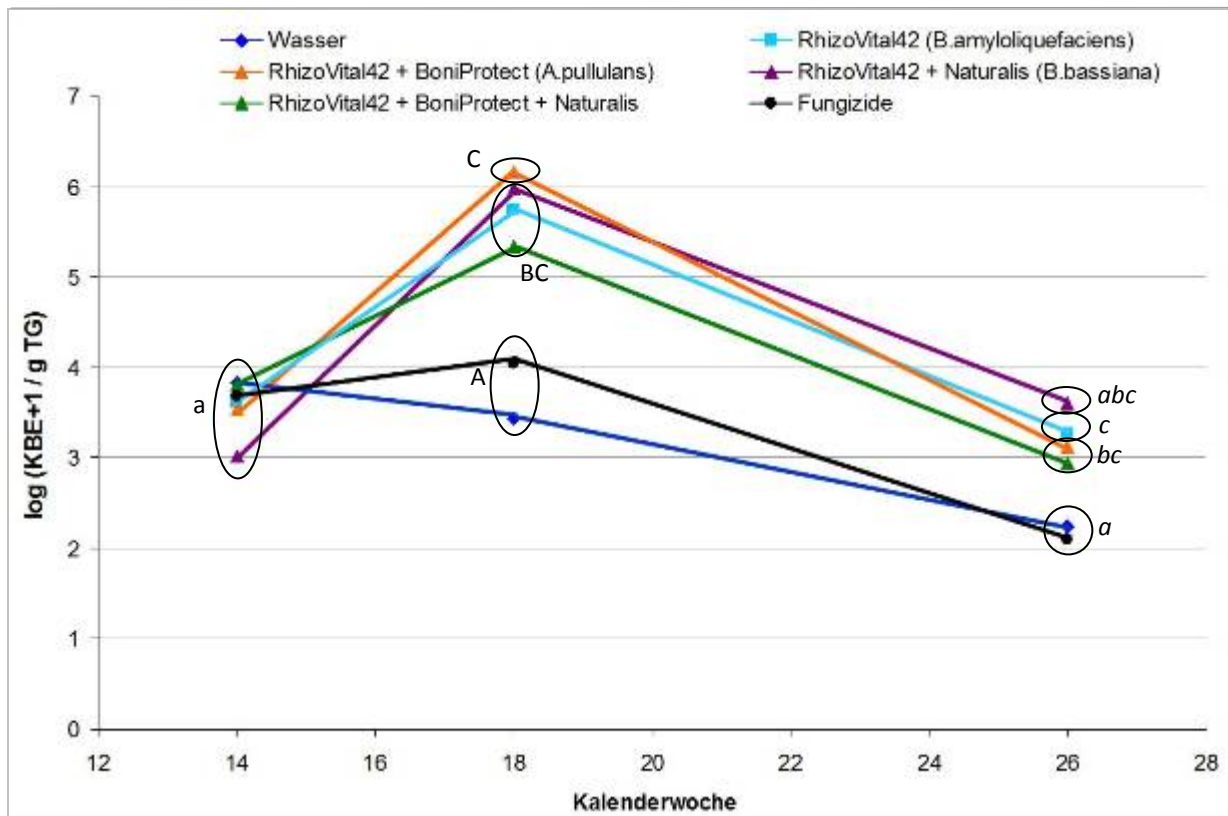
#### Erfassung der Nichtzielorganismen

Im Graufäule-Versuch II wurde kein stärkerer Befall mit Schädlingen wie Spinnmilben oder Blattläusen an den Pflanzen beobachtet. Die Erfassung des Spinnmilbenbefalls mittels destruktiver Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen. Es konnte weiterhin kein Einfluss der Behandlungen auf das Auftreten des Erdbeerblütenstechers und weiterer Pathogene nachgewiesen werden.

#### Nachweis der BCAs und der indigenen Mikroorganismen in der Phyllosphäre mittels Lebendkeimzahlbestimmung

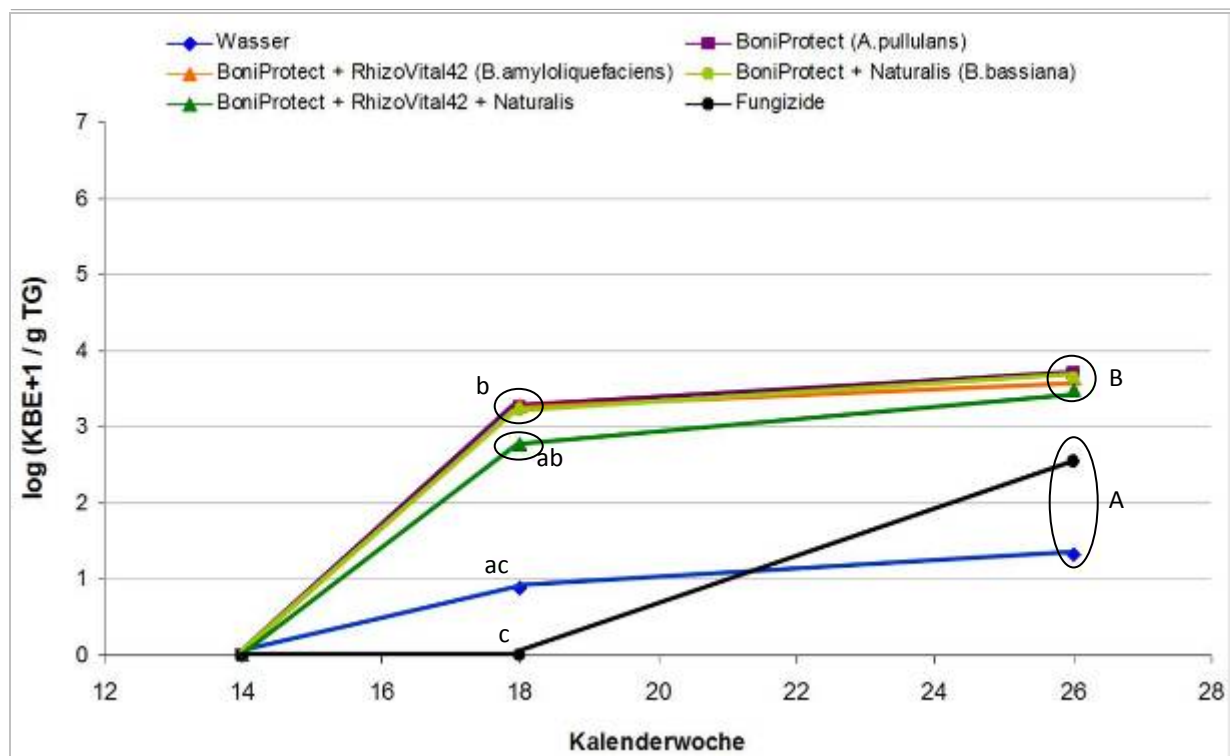
Ausgewählte Ergebnisse zur Bestimmung der Lebendkeimzahlen aus Blatt- und Fruchtextrakten sind den nachfolgenden Abb. 49 - 51 zu entnehmen. Abb. 49 zeigt die logarithmierten Lebendkeimzahlen von *Bacillus* spp. in den verschiedenen Blattextrakten im zeitlichen Versuchsverlauf. Wie auch im Versuchsjahr 2010 waren die Keimzahlen an allen Terminen auf Blättern, die zuvor mit RhizoVital42® fl. (*B. amyloliquefaciens* FZB42) behandelt wurden, im Vergleich zu den mit Wasser und Fungiziden behandelten Blättern signifikant höher. Die gleichzeitige Applikation mit den BCAs BoniProtect® forte (*A. pullulans*), Naturalis® (*B. bassiana*) sowie BoniProtect® forte + Naturalis® zeigte im Vergleich zur Einzelapplikation

von RhizoVital42<sup>®</sup> fl. keinen signifikanten Einfluss auf die Bacilli-Keimzahlen. Diese nahmen in allen BCA-Varianten von der zweiten bis zur dritten Probenahme stark ab. Ursache hierfür war vermutlich der große zeitliche Abstand zwischen der letzten BCA-Behandlung und der dritten Probenahme (vier Wochen). Dennoch waren die Bacilli-Keimzahlen an diesem Boniturtermin signifikant höher als die in der Kontrolle.



**Abbildung 49:** Lebendkeimzahlen von *Bacillus* spp. im Zeitverlauf in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander (Kruskal-Wallis-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Freiland)

Die logarithmierten Lebendkeimzahlen von *Aureobasidium* spp. in den unterschiedlichen Proben und im zeitlichen Versuchsverlauf sind in Abb. 50 dargestellt. Vor Ausbringung der BCAs konnte *Aureobasidium* spp. nicht isoliert werden. Nach Beginn der BCA-Behandlungen waren die Keimzahlen von *Aureobasidium* spp. an beiden Terminen bei den mit BoniProtect<sup>®</sup> forte (*A. pullulans*) behandelten Blattproben signifikant höher als bei den mit Wasser und Fungiziden behandelten Proben. Die Keimzahlen von *Aureobasidium* spp. wurden nicht durch die gleichzeitige Applikation mit den anderen BCAs beeinflusst. Im Gegensatz zu den Bacilli-Keimzahlen nahmen die *Aureobasidium*-Keimzahlen vom zweiten zum dritten Termin nicht ab, sondern sogar leicht zu.



**Abbildung 50:** Lebendkeimzahlen von *Aureobasidium* spp. im Zeitverlauf in Blattextrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen. Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander (Tukey-Test,  $\alpha=5\%$ ; Graufäule-Versuch II (2011, Freiland))

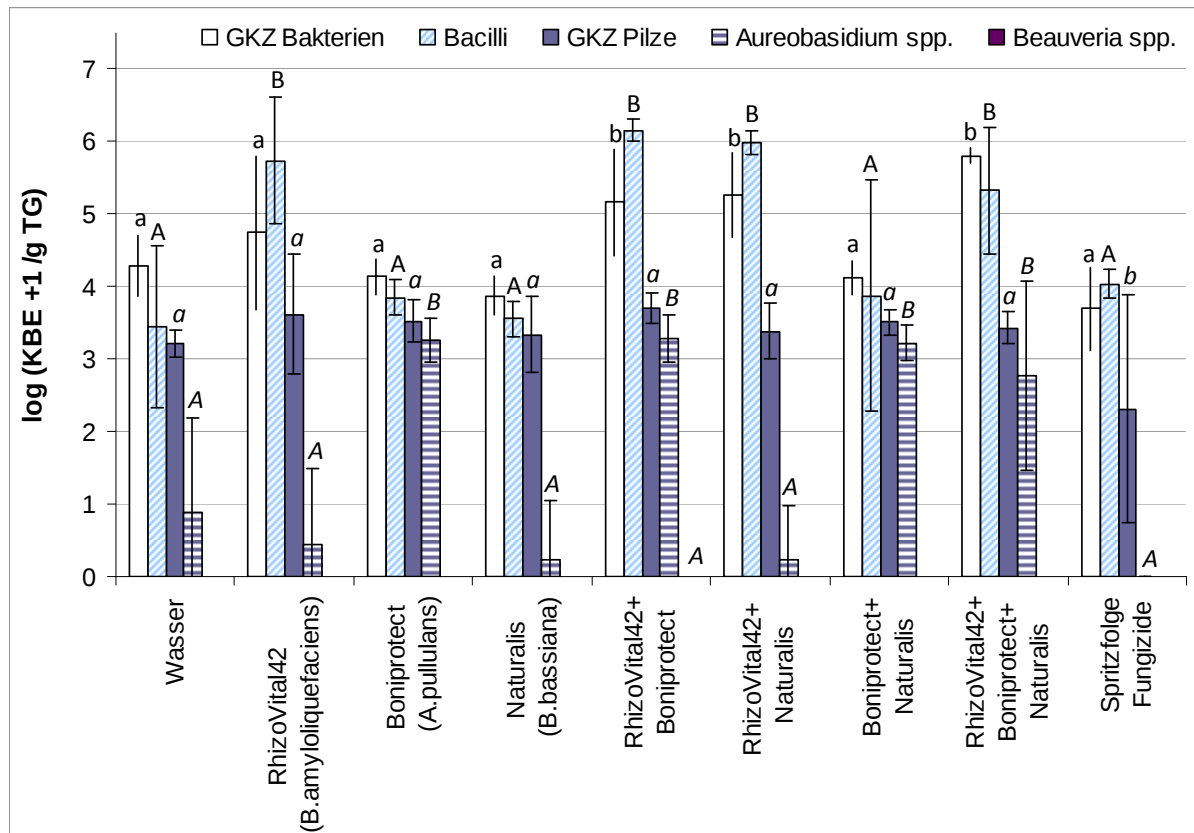
Der entomopathogene Pilz *Beauveria* spp. konnte 2011 nicht reisoliert werden.

Abb. 51 zeigt die Ergebnisse der Lebendkeimzahlbestimmungen im Hinblick auf mögliche Effekte der BCAs auf die natürliche Mikroflora der Phyllosphäre am 5.5.2011.

An diesem Termin waren die Pflanzen bereits viermal mit den BCAs behandelt, zuletzt zwei Tage vor Entnahme der Blätter. Damit repräsentierte nur die Wasserbehandlung die natürliche Zusammensetzung der Mikroflora der Blattoberfläche. Diese bestand wie 2010 zu einem Großteil aus Bakterien (ca.  $4,28 \times 10^4$  KBE/ g TG), wobei *Bacillus* spp. diesmal einen etwas kleineren Anteil ausmachten ( $3,4 \times 10^3$  KBE/g TG). Die Gesamtkeimzahlen der Pilze waren in der Kontrollbehandlung mit  $3,2 \times 10^3$  KBE/g TG hingegen etwa zehnmal so hoch wie 2010.

In der Kontrollbehandlung konnte *Beauveria* sp. nicht nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass dieser Pilz nicht natürlich auf der Blattoberfläche von Erdbeeren auftrat. Verglichen mit der Kontrollbehandlung waren die Keimzahlen von *Aureobasidium* spp. und Bacilli in entsprechend behandelten Blattproben signifikant erhöht.

Wie auch im Freilandversuch 2010 konnten keine Effekte der ausgebrachten BCAs auf die natürliche Mikroflora mittels Lebendkeimzahlbestimmung beobachtet werden.



**Abbildung 51:** Lebendkeimzahl von Mikroorganismen in Blattexttrakten unterschiedlich behandelter Erdbeerpflanzen (Probenahme: 5.5.2011). Säulen mit gleichen Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant von der entsprechenden Kontrollbehandlung (Dunnnett-Test,  $\alpha=5\%$ ); Graufäule-Versuch II (2011, Freiland)

### 3.4. Diskussion der Ergebnisse

Wesentliches Ziel des Projektes war die Entwicklung von Applikationssystemen, die für eine optimierte Schaderregerregulierung bei Erdbeeren im ökologischen Anbau geeignet sind.

Auch wenn im hier beschriebenen Teilprojekt Maßnahmen gegen Graufäule und Echten Mehltau im Vordergrund standen, wurden neben Mikroorganismen, die üblicherweise gegen Pilze eingesetzt werden, auch bewusst Entomopathogene gegen Graufäule und Echten Mehltau an Erdbeeren getestet. Hintergrund war eine ganzheitliche Betrachtung eines möglichen Applikationssystems bei ökologisch angebauten Erdbeeren, in dem auch Nutzorganismen gegen Schädlinge integriert werden sollten.

Die Untersuchungen haben die aus der Literatur bekannten guten Wirkungen der BCAs (z.B. *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., *Ampelomyces quisqualis*) gegen *Botrytis cinerea* und / oder *Podosphaera aphanis* bestätigt. Überraschenderweise waren jedoch die entomopathogenen Pilze *Metarhizium anisopliae* und *Beauveria bassiana* im Blütentest am wirksamsten gegenüber *B. cinerea*. Blattscheibentests belegten auch eine gewisse Wirkung gegen *Podosphaera aphanis*. Es gibt kaum Berichte über eine mögliche Hemmung von *Botrytis cinerea* oder *Podosphaera aphanis* durch *Beauveria bassiana* oder *Metarhizium anisopliae*. Bislang zeigten nur Bark et al. (1996), dass Kulturfiltrat von *B. bassiana* die Keimung von *B. cinerea* – Sporen *in vitro* gehemmt und verzögert hat. In weiteren Studien wurde weiterhin davon berichtet, dass einige entomopathogene Arten der Gattung *Paecilomyces* die Entwicklung verschiedener Arten des Echten Mehltaus auf Blattscheiben hemmen können (Kavková and Čurn 2005; Szentiványi et al. 2006). Es ist außerdem bekannt, dass entomopathogene Pilze Enzyme wie z.B. Chitinasen produzieren, die beim Abbau der Kutikula von Insekten eine wichtige Rolle spielen (St. Leger et al. 1993). Eine Produktion von Chitinasen durch *Beauveria bassiana* oder *Metarhizium anisopliae* könnte dazu geführt haben, dass die chitinhaltigen Zellwände von *B. cinerea* und *P. aphanis* unter Laborbedingungen abgebaut worden sind. Daneben kann *Beauveria bassiana* verschiedene sekundäre Metabolite mit antimikrobiellen Eigenschaften bilden, die ebenfalls bei der Hemmung von *B. cinerea* und *P. aphanis* involviert gewesen sein könnten (Ownley et al. 2010).

Die in diesem Projekt gewonnenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein Einsatz von entomopathogenen Pilzen im ökologischen Erdbeeranbau nicht nur im Hinblick auf die Regulierung von Spinnmilben oder Weißen Fliegen interessant erscheint, sondern auch aufgrund möglicher positiver Nebenwirkungen auf das Auftreten von Nichtzielorganismen wie Graufäule oder Echter Mehltau. In 2011 wurde für das Produkt Naturalis® (*Beauveria bassiana* ATCC 74040) eine Zulassung als Pflanzenschutzmittel gegen Spinnmilben und Weiße Fliegen an Gemüse und Erdbeeren im Gewächshaus beim Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit beantragt (Quentin 2011). Eine mögliche Nebenwirkung gegen Graufäule oder Echten Mehltau hätte vor diesem Hintergrund eine besondere Bedeutung für den praktischen Einsatz im ökologischen Anbau.

Mit Hilfe von Dualkulturtests konnten Hemmwirkungen zwischen verschiedenen Antagonisten, insbesondere zwischen bakteriellen und pilzlichen Antagonisten nachgewiesen werden. In Tests auf Erdbeerblattscheiben konnten solche antagonistischen Wechselwirkungen für *Trichoderma harzianum* T58 und *Bacillus subtilis* FZB24 bestätigt werden, z.B. die Beeinträchtigung der guten Wirkung von *T. harzianum* T58 gegen *P. aphanis* durch eine gleichzeitige Applikation mit *B. subtilis* FZB24. Die weiteren Ergebnisse der Blattscheibentests zeigten hingegen, dass die meisten Antagonisten, die *in vitro* Hemmwirkungen gezeigt haben, gemeinsam gegen Echten Mehltau appliziert werden konnten, ohne die Einzelwirkungen der BCAs zu beeinträchtigen. In einigen BCA-Kombinationen konnten sogar fehlende Wirkungen einzelner Antagonisten durch andere Antagonisten kompensiert werden.

Insgesamt deuten die Ergebnisse zur Kombinierbarkeit der Antagonisten darauf hin, dass Hemmeffekte auch auf der Pflanze auftreten können, wenn mehrere nicht-kompatible mikrobiologische Präparate gemeinsam appliziert werden. Auch Robinson-Boyer et al. (2009) und Xu et al. (2010) konnten negative antagonistische Wechselwirkungen zwischen drei BCAs beobachten, weshalb sie den kombinierten Einsatz von BCAs nicht empfehlen. In ihren Studien erzielten einzelne Applikationen von *Bacillus subtilis* (Serenade<sup>TM</sup>), *Trichoderma harzianum* Rifai T22 (Trianium<sup>TM</sup>) und *Trichoderma atroviride* (Sentinel<sup>TM</sup>) bessere Wirkungen gegen *B. cinerea* auf Erdbeerblattscheiben als kombinierte BCA-Behandlungen. Diese, im Labor gewonnenen Ergebnisse, zeigen aber auch, dass mit verbesserten Wirkungen gegenüber den Pathogenen gerechnet werden kann, wenn kompatible BCAs kombiniert ausgebracht werden. Die Ergebnisse decken sich mit Ergebnissen weiterer Studien, in denen eine gemeinsame Applikation von *Bacillus mycoides* und *Pichia guilhermondii* im Vergleich zur Einzelapplikation der BCAs zu besseren Wirkungen gegen Graufäule an Erdbeerblättern und -früchten führte. Als mögliche Gründe für die synergistischen Effekte wurden mögliche Kompensationseffekte bei variierenden Umweltbedingungen (Guetsky et al. 2001) sowie unterschiedliche Wirkmechanismen angegeben (Guetsky et al. 2002a; Guetsky et al. 2002b). Auch Xu et al. (2011) stellten anhand eines mathematischen Modells die Hypothese auf, dass zwei mikrobielle Antagonisten mit verschiedenen Wirkmechanismen eine bessere Kontrolle von Blattpathogenen erzielen können.

Bei der Auswahl der mikrobiologischen Präparate für die folgenden Gewächshaus- und Freilandversuche lag das Hauptaugenmerk entsprechend auf möglichen Wechselwirkungen. Demnach wurden bewusst BCAs eingesetzt, deren kombinierte Applikation Hemm- oder Kompensationseffekte auf der Pflanze vermuten ließ, unabhängig davon, ob die entsprechenden Handelsprodukte für Boden- oder Blattapplikationen vorgesehen waren. In den Untersuchungen unter Gewächshaus und Freilandbedingungen (2011) konnten kaum Behandlungseffekte durch den Einsatz der mikrobiologischen Präparate RhizoVital42® fl., BoniProtect® forte und Naturalis® hinsichtlich des Fruchtbefalls an den Pflanzen bzw. im Bestand demonstriert werden. Nur die kombinierte Behandlung der Pflanzen mit BoniProtect® forte und Naturalis® bewirkte im Freiland eine signifikante Reduzierung der Graufäule, während die einzelnen BCAs keine Wirkungen erzielten. Möglicherweise haben positive Wechselwirkungen zwischen *Aureobasidium pullulans* und *Beauveria bassiana* zu einer besseren Wirkung gegenüber *B. cinerea* geführt. Trotz der wenigen Behandlungseffekte im Bestand bewirkten mit Ausnahme von Naturalis® alle geprüften BCAs und vor allem BCA-Kombinationen Nachernteeffekte in den Lagerversuchen.

Ursache für die geringen Behandlungseffekte der BCAs im Bestand könnte sein, dass sie im Vergleich zu einer Bodenapplikation in der Phyllosphäre ungeschützt den stark variierenden Umweltbedingungen ausgesetzt sind. UV-Strahlung, Niederschlag, Temperatur und relative Luftfeuchte beeinflussen die ökologische Fitness bzw. Aktivität der BCAs in der Phyllosphäre wesentlich und können die biologische Kontrolle von Pathogenen deutlich erschweren (Andrews 1992; Butt and Copping 2000; Fravel 2005; Alabouvette et al. 2006). Die Ergebnisse der Einlagerungsversuche deuten außerdem darauf hin, dass die BCAs trotz der geringfügigen Aktivität in der Phyllosphäre bis zur Ernte überlebt haben und die Graufäuleentwicklung an bereits geernteten Früchten verzögern konnten. Diese Erkenntnisse sind vor dem Hintergrund der enormen Bedeutung von *Botrytis cinerea* als Erreger von Nachernte- oder Lagerkrankheiten vielversprechend. Obwohl die Primärinfektion durch *B. cinerea* während der Blüte stattfindet, bleibt der Schaderreger bis zur Fruchtreife quieszent – oftmals sogar bis zur Lagerung von geernteten Früchten (Droby and Lichter 2004). Es ist zu vermuten, dass die Nachernteeffekte der BCAs BoniProtect® forte und RhizoVital42® fl. auf die kontrollierten und stabilen Bedingungen während der siebentägigen Lagerung zurückzuführen sind.

Es gibt bereits Berichte über Nachernteeffekte gegenüber *B. cinerea* an gelagerten Erdbeeren, hervorgerufen durch Vorerntebehandlungen mit *Aureobasidium pullulans* und *Bacillus subtilis*, einem ähnlichem *Bacillus*-Stamm (Lima et al. 1997; Adikaram et al. 2002; Sharma et al. 2009).

Die Untersuchungen zum Vorkommen bzw. Überleben der ausgebrachten Mikroorganismen in der Phyllosphäre unter Freilandbedingungen ergaben, dass die ausgebrachten Mikroorganismen *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* und *Aureobasidium pullulans* in höheren Keimzahlen detektiert werden konnten. Die Ergebnisse deuten außerdem auf eine sehr gute Persistenz des hefeähnlichen Pilzes *Aureobasidium pullulans* in der Phyllosphäre hin. Der ausgebrachte entomopathogene Pilz *Beauveria bassiana* konnte, wenn überhaupt, nur in geringen Zahlen von den Blättern abgewaschen und auf Selektivnährmedium nachgewiesen werden. Es wird vermutet, dass seine Sporen entweder durch Regen von den Blättern abgespült wurden oder dass sie auskeimten und der Pilz sich endophytisch in den Blättern entwickelte. In verschiedenen Studien konnte bereits belegt werden, dass *Beauveria bassiana* sich in Blättern verschiedener Kulturpflanzen endophytisch etablieren kann (Vega et al. 2008; Tefera and Vidal 2009). Es wird angenommen, dass sowohl *Beauveria bassiana* als auch die Wirtspflanze von dem endophytischen Wachstum des Entomopathogens profitieren: Der Endophyt wird vor abiotischem Stress, die Pflanze vor Schäden durch Schädlinge oder Pathogene geschützt (Ownley et al. 2010).

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der 454-Pyrosequenzierung und der fehlenden Wirkungen ist jedoch davon auszugehen, dass *Bacillus amyloliquefaciens* und *Trichoderma harzianum* im Freilandversuch 2010 hauptsächlich als Überdauerungsorgane (inaktive Endosporen bzw. Sporen) auf der Blattoberfläche vorlagen. Da die entsprechenden Handelsprodukte hauptsächlich für Bodenapplikationen vorgesehen sind und unter Umständen nicht die geeigneten Formulierungen für einen Einsatz in der Phyllosphäre enthielten, lösten die extremen abiotischen Bedingungen im Projektjahr 2010 vermutlich die Bildung von Sporen bzw. Endosporen durch *Trichoderma harzianum* und *Bacillus amyloliquefaciens* aus. Dabei gehört die Möglichkeit, ungünstige Bedingungen über einen langen Zeitraum zu überdauern, durchaus zu den erwünschten Eigenschaften bei BCAs. Sporen oder Endosporen könnten bei sich bessernden Bedingungen sofort in den vegetativen Zustand übergehen und anschließend ihre antagonistischen Wirkungen gegenüber den Pathogenen entfalten (Elad and Stewart 2004).

Im Gegensatz zum Freilandversuch 2010 kann davon ausgegangen werden, dass 2011 zumindest *Aureobasidium pullulans* und *Beauveria bassiana* nicht nur als Überdauerungsorgane, sondern auch als vegetative Zellen in der Phyllosphäre bzw. im Blatt vorlagen, da deren kombinierte Applikation signifikante Wirkungen gegenüber *B. cinerea* erzielte. Die im Vergleich zur Einzelapplikation von BoniProtect® forte (*A. pullulans*) und Naturalis® (*B. bassiana*) verbesserte Wirkung könnte auf synergistische Wechselwirkungen, z.B. hervorgerufen durch verschiedene Wirkmechanismen, zurückzuführen sein. *A. pullulans* gilt als ein der Phyllosphäre angepasster Mikroorganismus (Blakeman and Fokkema 1982), dessen antagonistische Wirkung gegenüber Pathogenen vermutlich durch Konkurrenz um Nährstoffe und Produktion von Enzymen (z.B.  $\beta$ -1-3-glucanase) hervorgerufen wird (Lima et al. 1997; Castoria et al. 2001). Aufgrund der geringen Anzahl an Untersuchungen zur Wirkung von *B. bassiana* gegenüber Pathogenen an oberirdischen Pflanzenteilen, sind seine Wirkmechanismen gegen Graufäule jedoch bislang noch unklar.

Insgesamt zeigten die Gewächshaus- und Freilandversuche, dass auch der Befallsdruck des Schaderregers entscheidend sein kann für den Erfolg der Mikroorganismen und den Ausgang der Untersuchung. Ist der Befallsdruck zu gering, so können keinerlei Effekte nachgewiesen werden. Ist er zu groß, so können die Mikroorganismen vermutlich nicht schnell genug wirken. Dieser Aspekt verdeutlicht, dass für zuverlässige Aussagen zum Einsatz von mikrobiologischen Präparaten mehrjährige Versuche notwendig sind, damit dieser Faktor berücksichtigt werden kann.

### ***3.5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse***

Eine unmittelbare und kurzfristige Umsetzung der im Rahmen des Projektes gewonnenen Erkenntnisse in die Praxis des ökologischen Erdbeeranbaus scheint derzeit nur sehr begrenzt möglich. Insbesondere der Freilandversuch 2010 ließ aufgrund extremer Witterungsbedingungen und geringem Befall keine eindeutige Aussage über die Wirkungen der BCAs unter Praxisbedingungen zu.

Im Rahmen des Projektes konnten jedoch folgende Erkenntnisse gewonnen werden:

- Viele der im Labor getesteten BCAs hatten eine gute bis sehr gute Wirkung gegen *B. cinerea* und *P. aphanis*.
- Auch entomopathogene Nutzorganismen (*Beauveria bassiana* und *Metarhizium anisopliae*) können Wirkungen gegen Graufäule und Echten Mehltau haben.
- Es bestehen synergistische, kompensierende und antagonistische Wechselwirkungen zwischen verschiedenen mikrobiellen Antagonisten.
- Der Einsatz von kompatiblen BCA-Kombinationen kann zu besseren Wirkungen gegenüber Graufäule und Echten Mehltau führen, z.B. *Bacillus subtilis* + *Metarhizium anisopliae* und *B. subtilis* + *Ampelomyces quisqualis*.
- Die im Laborversuch gegen Graufäule wirksamen BCAs erzielen im Bestand nur geringe Wirkungen.
- BCAs können jedoch die Graufäuleentwicklung auf Früchten nach der Ernte reduzieren.

Diese Erkenntnisse stellen wichtige Grundlagen für die künftige Entwicklung von Behandlungsstrategien dar. Für eine sichere Bewertung des Einsatzes von mikrobiologischen Präparaten unter Freilandbedingungen sind jedoch weitere Untersuchungen zwingend notwendig, in denen schwankende Umweltbedingungen, variable Produktqualitäten und ein unterschiedlicher Krankheitsdruck berücksichtigt werden. Erst im Anschluss kann die Erarbeitung von praxisrelevanten Applikationssystemen für eine effektive Regulierung von Krankheiten an ökologisch oder integriert angebauten Erdbeeren erfolgen. Für die Realisierung dieses Projektzieles wurde deshalb eine Projektverlängerung beantragt und genehmigt.

## 4 Zusammenfassung

In dem vorliegenden Projekt wurden insgesamt 89 mikrobielle Antagonisten (BCAs = Biological Control Agents) in Labortests auf ihre Wirksamkeit gegenüber *Botrytis cinerea* und *Podosphaera aphanis* untersucht. Die Ergebnisse wurden als Grundlage für die Auswahl von insgesamt zehn BCAs für anschließende Kompatibilitätstests in Dualkultur und auf Blattscheiben verwendet. Diese ergaben, dass sowohl antagonistische, kompensierende als auch synergistische Wechselwirkungen zwischen den BCAs bestehen.

In zwei Gewächshausversuchen zur Wirkung der mikrobiologischen Präparate AQ10<sup>®</sup>WG (*Ampelomyces quisqualis*), Trichostar<sup>®</sup> (*Trichoderma harzianum* T58) FZB24<sup>®</sup>fl (*Bacillus subtilis* FZB24) konnten signifikante Wirkungen gegenüber Echtem Mehltau gezeigt werden. In diesen Versuchen konnten keine Wechselwirkungen durch die gemeinsame Applikation von verschiedenen BCAs nachgewiesen werden.

Erste Gewächshaus- und Freilandversuche zur Wirkung von mikrobiologischen Präparaten gegenüber Graufäule zeigten, dass eine Behandlung der Früchte im Bestand mit Trianium-P (*Trichoderma harzianum* T22) zur Entwicklung eines grünen Pilzrasen von *Trichoderma harzianum* auf den geernteten Erdbeerfrüchten führen kann, was die Früchte unter Praxisbedingungen unverkäuflich machen würde. Die Versuche konnten aufgrund des geringen Graufäulebefalls und der extremen Witterungsverhältnisse im Freiland jedoch nicht eindeutig hinsichtlich der BCA-Wirkung bewertet werden.

In weiteren Untersuchungen zur Wirkung von RhizoVital42<sup>®</sup>fl. (*Bacillus amyloliquefaciens* FZB42), BoniProtect<sup>®</sup>forte (*Aureobasidium pullulans*) und Naturalis<sup>®</sup> (*Beauveria bassiana* ATCC 74040) gegen Graufäule unter Gewächshaus- und Freilandbedingungen konnten befallsreduzierende Wirkungen durch RhizoVital42<sup>®</sup>fl., BoniProtect<sup>®</sup>forte und verschiedene BCA-Kombinationen nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen zur Dynamik der BCAs und indigenen Mikroorganismen in der Phyllosphäre ergaben, dass die ausgebrachten Mikroorganismen mit Ausnahme von *Beauveria bassiana* im Vergleich zu den Kontrollen in stark erhöhten Zahlen auf den entsprechenden Blatt- und Fruchtproben auftraten.

Eine unmittelbare Übertragung der Ergebnisse in praxisrelevante Anwendungsbedingungen ist aufgrund witterungsbedingter unzureichender Aussagefähigkeit der Freilandversuche derzeit nicht möglich.

## **5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

Die Labortests zur Wirkung von insgesamt 89 BCAs gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis* wurden gemäß dem chronologischen Arbeitsplan abgeschlossen. Mit Hilfe der Testergebnisse wurden zehn BCAs für die Kompatibilitätstests selektiert. Damit konnte der erste Meilenstein erreicht werden.

Die Tests zur Kompatibilität von BCAs unter Laborbedingungen, insbesondere zu Hemmwirkungen zwischen verschiedenen Mikroorganismen, wurden in den Projektjahren 2009 und 2010 abgeschlossen. Ein Versuch mit BCA-Kombinationen gegen Graufäule an abgetrennten Erdbeerblüten konnte aufgrund witterungsbedingter Störungen der Blütenentwicklung nicht durchgeführt werden. In der Summe reichten die bisherigen Ergebnisse zur Kompatibilität jedoch aus, um den zweiten Meilenstein – die Bewertung der Kompatibilität verschiedener Mikroorganismen *in vitro* zur Planung der Gewächshaus- und Freilandversuche 2010 und 2011 – zu erreichen.

Die Untersuchungen hinsichtlich der Wirkung und Kombinierbarkeit ausgewählter Mikroorganismen im Gewächshaus gegenüber *B. cinerea* und *P. aphanis* wurden ebenfalls im Rahmen des Zeit- und Arbeitsplans durchgeführt. Aufgrund des erfolgten Präparatwechsels von Trianium-P auf BoniProtect® forte und der sich andeutenden Variabilität der Produktqualität sollten die Gewächshausversuche (Graufäule und Echter Mehltau) im Rahmen einer Projektverlängerung wiederholt und die Ergebnisse abgesichert werden.

Ausgewählte mikrobiologische Präparate wurden in den Projektjahren 2010 und 2011 im Freiland am Standort Geisenheim gegen *B. cinerea* getestet. In 2010 konnte die Wirksamkeit der eingesetzten Präparate aufgrund der extremen Witterungsbedingungen und des geringen Graufäulebefalles nicht eindeutig bewertet werden.

Der in 2011 durchgeführte Freilandversuch konnte hingegen bewertet werden, sollte jedoch im Rahmen der Projektverlängerung wiederholt werden. Die aus 2011 gewonnenen Ergebnisse waren nur bedingt geeignet, um Applikationssysteme für eine Anwendung in Praxisbetrieben zu erstellen und damit den dritten Meilenstein zu erreichen. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die Erreichung dieses Meilensteins im Rahmen der Projektverlängerung möglich sein wird.

Es war außerdem geplant, auf der Versuchsfläche im Anschluss an die Graufäuleversuche jeweils einen Versuch zur Wirksamkeit mikrobiologischer Präparate gegen Echten Mehltau durchzuführen, da erfahrungsgemäß im Herbst nach dem ersten Ertragsjahr verstärkt mit einem Befall der Pflanzen mit Echtem Mehltau zu rechnen ist. Da aber zum Ende des Graufäuleversuchs 2010 ein enormer Pflanzenausfall auftrat, wurde eine Neupflanzung der Fläche für eine exakte Durchführung der Versuche 2011 erforderlich. Als Ursache der starken Pflanzenausfälle wurde witterungsbedingte Vernässung des Bodens angesehen. Da nach der Neupflanzung kein Befall mit Echtem Mehltau auftrat, konnte der Freilandversuch zur Wirkung ausgewählter mikrobiologischer Präparate im Herbst 2010 nicht durchgeführt werden. Im Projektjahr 2011 wurden die Pflanzen nach der Ernte praxisüblich gemulcht. Es ist jedoch auch in 2011 kein Befall mit *P. aphanis* an den neu austreibenden Pflanzen aufgetreten, so dass der geplante Freilandversuch erneut nicht durchgeführt werden konnte. Andere Versuchsansteller konnten 2011 ebenfalls nur einen geringen Mehлтаubefall feststellen (Evenhuis 2012).

Die Erprobung der mikrobiologischen Präparate unter Praxisbedingungen hat in 2011 begonnen. Im Frühjahr 2011 wurden an der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen einige mikrobiologische Präparate gegen *P. aphanis* im Tunnel eingesetzt. Auch in diesem Versuch trat kein Mehлтаubefall an den Pflanzen auf. Die Praxisversuche sollen in der Projektverlängerung soweit möglich intensiviert werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- Adikaram, N., D. Joyce and L. Terry (2002). "Biocontrol activity and induced resistance as a possible mode of action for *Aureobasidium pullulans* against grey mould of strawberry fruit." *Australasian Plant Pathology* 31(3): 223-229.
- Alabouvette, C., C. Olivain and C. Steinberg (2006). "Biological Control of Plant Diseases: The European Situation." *European Journal of Plant Pathology* 114(3): 329-341.
- Amsalem, L., S. Freeman, D. Rav-David, Y. Nitzani, A. Sztejnberg, I. Pertot and Y. Elad (2006). "Effect of climatic factors on powdery mildew caused by *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae* on strawberry." *European Journal of Plant Pathology* 114(3): 283-292.
- Andrews, J. H. (1992). "Biological Control in the Phyllosphere." *Annual Review of Phytopathology* 30: 603-635.
- Bark Y.G., L. D. G., Kim Y.H., Kang S.C. (1996). "Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*." *Korean Journal of Plant Pathology* 12(2): 245-250.
- Blakeman, J. P. and N. J. Fokkema (1982). "Potential for Biological Control of Plant Diseases on the Phylloplane." *Annual Review of Phytopathology* 20(1): 167-190.
- Boller, E. (1984). "Eine einfache Ausschwemm-Methode zur schnellen Erfassung von Raubmilben, Thrips und anderen Kleinarthropoden im Weinbau." *Schweiz. Zeitschrift für Obst-und Weinbau* 120: 16-17.
- Buée, M., M. Reich, C. Murat, E. Morin, R. H. Nilsson, S. Uroz and F. Martin (2009). "454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity." *New Phytologist* 184(2): 449-456.
- Butt, T. M. and L. G. Copping (2000). "Fungal biological control agents." *Pesticide Outlook* 11(5): 186-191.
- Carisse, O. and J. Bouchard (2010). "Age-related susceptibility of strawberry leaves and berries to infection by *Podosphaera aphanis*." *Crop Protection* 29(9): 969-978.
- Castoria, R., F. De Curtis, G. Lima, L. Caputo, S. Pacifico and V. De Cicco (2001). "*Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action." *Postharvest Biology and Technology* 22(1): 7-17.
- Daugaard, H. and H. Lindhard (2000). "Strawberry cultivars for organic production." *Gartenbauwissenschaft* 65: 213-217.
- De Cal, A., C. Redondo, A. Sztejnberg and P. Melgarejo (2008). "Biocontrol of powdery mildew by *Penicillium oxalicum* in open-field nurseries of strawberries." *Biological Control* 47(1): 103-107.
- Dodgson, J., A. Hall and S. Parker (2008). Rule based prediction system to optimize fungicide applications for control of *Podosphaera aphanis*. VI International Strawberry Symposium ISHS, Huelva, Spain.
- Droby, S. and A. Lichter (2004). Post-Harvest *Botrytis* Infection: Etiology, Development and Management. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, Springer Netherlands: 349-367.
- Elad, Y. (2000). "Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action." *Crop Protection* 19(8-10): 709-714.

- Elad, Y., B. Kirshner, N. Yehuda and A. Sztejnberg (1998). "Management of powdery mildew and gray mold of cucumber by *Trichoderma harzianum* T39 and *Ampelomyces quisqualis* AQ10." *BioControl* 43(2): 241-251.
- Elad, Y., J. Kohl and N. J. Fokkema (1994). "Control of infection and sporulation of *Botrytis cinerea* in bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi." *European Journal of Plant Pathology / European Foundation for Plant Pathology* 100(5): 315-336.
- Elad, Y., N. E. Malathrakakis and A. J. Dik (1996). "Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops." *Crop Protection* 15(3): 229-240.
- Elad, Y. and Stewart (2004). *Microbial Control of Botrytis spp. Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 223-241.
- Elad, Y., B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen (2004). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.
- EPPO (1996). PP 1/16(2): Guideline for the efficacy evaluation of fungicides. *Botrytis cinerea* on strawberries, European and Mediterranean Plant Protection Organisation.
- EPPO (1997). PP 1/192(2): Guideline for the efficacy evaluation of acaricides. Mites on strawberry. European and Mediterranean Plant Protection Organisation.
- EPPO (2007). PP 1/252 (1): Efficacy evaluation of insecticides. Aphids on strawberry. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 37: 81–85.
- Evenhuis, A. and P. J. Wanten (2006). "Effect of polyethene tunnels and cultivars on grey mould caused by *Botrytis cinerea* in organically grown strawberries." *Agriculturae Conspectus Scientificus* 71: 111-114.
- Evenhuis, B. (2012). pers. Mitt.
- Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*. Palo Alto, Annual Reviews. 43: 337-359.
- Freeman, S., D. Minz, I. Kolesnik, O. Barbul, A. Zveibil, M. Maymon, Y. Nitzani, B. Kirshner, D. Rav-David, A. Bilu, A. Dag, S. Shafir and Y. Elad (2004). "*Trichoderma* Biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and Survival in Strawberry " *European Journal of Plant Pathology* 110(4): 361-370.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, A. Dinoor and Y. Elad (2002a). "Establishment, Survival and Activity of the Biocontrol Agents *Pichia guilhermondii* and *Bacillus mycoides* Applied as a Mixture on Strawberry Plants." *Biocontrol Science and Technology* 12(6): 705-714.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. Elad and A. Dinoor (2001). "Combining Biocontrol Agents to Reduce the Variability of Biological Control." *Phytopathology* 91(7): 621-627.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. Elad, E. Fischer and A. Dinoor (2002b). "Improving Biological Control by Combining Biocontrol Agents Each with Several Mechanisms of Disease Suppression." *Phytopathology* 92(9): 976-985.
- Hamp, T. J., W. J. Jones and A. A. Fodor (2009). "Effects of Experimental Choices and Analysis Noise on Surveys of the "Rare Biosphere". *Applied and Environmental Microbiology* 75(10): 3263-3270.
- Helbig, J. (2002). "Ability of the antagonistic yeast *Cryptococcus albidus* to control *Botrytis cinerea* in strawberry." *BioControl* 47(1): 85-99.

- Helbig, J. and H. Bochow (2001). "Effectiveness of *Bacillus subtilis* (isolate 25021) in controlling *Botrytis cinerea* in strawberry." Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 108(6): 545-559.
- Hirsch, J., G. Sandhya, S. Strohmeier, M. Pfannkuchen, K. U. Devi and A. Reineke (2011). Using 454 pyrosequencing for assessing the effect of artificially applied *Beauveria bassiana* on fungal diversity in agricultural soils in India. IOBC wprs Bulletin "Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes", Innsbruck, Austria.
- Jones, W. (2010). "High-Throughput Sequencing and Metagenomics." Estuaries and Coasts 33(4): 944-952.
- Junge, H. (2008). pers. Mitt. (ABiTEP GmbH, Berlin, Germany).
- Kavková, M. and V. Čurn (2005). "*Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a potential mycoparasite on *Sphaerotheca fuliginea* (Ascomycotina: Erysiphales)." Mycopathologia 159(1): 53-63.
- Kiss, L. (2003). "A review of fungal antagonists of powdery mildews and their potential as biocontrol agents." Pest Management Science 59(4): 475-483.
- Kiss, L., J. C. Russell, O. Szentiványi, X. Xu and P. Jeffries (2004). "Biology and Biocontrol Potential of *Ampelomyces* Mycoparasites, Natural Antagonists of Powdery Mildew Fungi." Biocontrol Science and Technology 14(7): 635-651.
- Kovach, J., R. Petzoldt and G. E. Harman (2000). "Use of Honey Bees and Bumble Bees to Disseminate *Trichoderma harzianum* 1295-22 to Strawberries for *Botrytis* Control." Biological Control 18: 235-242.
- Legard, D. E., C. L. Xiao, J. C. Mertely and C. K. Chandler (2000). "Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry." Plant Disease 84: 531-538.
- Lima, G., A. Ippolito, F. Nigro and M. Salerno (1997). "Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots." Postharvest Biology and Technology 10(2): 169-178.
- Longa, C. M. O., I. Pertot and S. Tosi (2008). "Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential." Journal of Basic Microbiology 48(4): 269-277.
- Maas, J. L., Ed. (1984). Compendium of Strawberry Diseases. The Disease Compendium Series of The American Phytopathological Society, The American Phytopathological Society.
- Magan, N. (2004). Physiological Approaches to Improving the Ecological Fitness of Fungal Biocontrol Agents. Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential. T. M. Butt, Jackson, C. and Magan, N., CABI Publishing: 239-251.
- Moser, R., I. Pertot, Y. Elad and R. Raffaelli (2008). "Farmers' attitudes toward the use of biocontrol agents in IPM strawberry production in three countries." Biological Control 47(2): 125-132.
- Nabigol, A. (2011). "Chemical composition and anti-fungal activities of three essential oils from *Satureja* spp. on four post-harvest pathogens of strawberry fruit " Journal of Horticultural Science & Biotechnology 86(4): 371-376.

- Nabigol, A. and H. Morshedi (2011). "Evaluation of the antifungal activity of the Iranian thyme essential oils on the postharvest pathogens of Strawberry fruits." *African Journal of Biotechnology* 10(48): 9864-9869.
- Näveke, R. and K. P. Tepper (1979). *Einführung in die mikrobiologischen Arbeitsmethoden*. Stuttgart, New York. Gustav Fischer Verlag.
- Ownley, B. H., K. D. Gwinn and F. E. Vega (2010). *Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution*
- Parikka, P. (2004). "Disease resistance in strawberry breeding programmes - major pathogens in European strawberry production." *Acta Horticulturae* 649: 49-52.
- Pertot, I., R. Zasso, L. Amsalem, M. Baldessari, G. Gino Angeli and Y. Elad (2008). "Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems." *Crop Protection* 27: 622-631.
- Prokkola, S. and P. Kivijärvi (2007). "Effect of biological sprays on the incidence of grey mould, fruit yield and fruit quality in organic strawberry production." *Agricultural and Food Science* 16(1): 25-33.
- Quentin, U. (2011). pers. Mitt. (Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG, Bad Camberg, Germany).
- Robinson-Boyer, L., M. J. Jeger, X.-M. Xu and P. Jeffries (2009). "Management of strawberry grey mould using mixtures of biocontrol agents with different mechanisms of action." *Biocontrol Science and Technology* 19(10): 1051-1065.
- Romero, D., M. E. Rivera, F. M. Cazorla, A. De Vicente and A. Pérez-garcía (2003). "Effect of mycoparasitic fungi on the development of *Sphaerotheca fusca* in melon leaves." *Mycological Research* 107(1): 64-71.
- Sesan, T. E. (2006). "Integrated control of strawberry diseases." *Phytopathologica Polonia* 39: 133-148.
- Sharma, R. R., D. Singh and R. Singh (2009). "Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review." *Biological control : theory and applications in pest management* 50(3): 205-221.
- St. Leger, R. J., R. C. Staples and D. W. Roberts (1993). "Entomopathogenic Isolates of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, and *Aspergillus flavus* Produce Multiple Extracellular Chitinase Isozymes." *Journal of Invertebrate Pathology* 61(1): 81-84.
- Steinbüchel, A. and F. B. Oppermann-Sanio (2003). *Mikrobiologisches Praktikum*. Berlin, Heidelberg, Springer.
- Szentiványi, O., K. Varga, R. Wyand, H. Slatter and L. Kiss (2006). "*Paecilomyces farinosus* destroys powdery mildew colonies in detached leaf cultures but not on whole plants." *European Journal of Plant Pathology* 115(3): 351-356.
- Tanovic, B., J. Milivojevic and M. Nikolic (2008). Biological and chemical control of *Botrytis cinerea* in strawberry cv. 'Clery'. VI International Strawberry Symposium ISHS, Huelva, Spain.
- Tefera, T. and S. Vidal (2009). "Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*." *BioControl* 54(5): 663-669.

- Trapp, M. (2011). "Pflanzenschutzmittelliste für den ökologischen Beerenobstanbau ", from [http://www.foeko.de/Dokumente/ps\\_beerenobst.pdf](http://www.foeko.de/Dokumente/ps_beerenobst.pdf) (Stand Januar 2011).
- Vega, F. E., F. Posada, M. Catherine Aime, M. Pava-Ripoll, F. Infante and S. A. Rehner (2008). "Entomopathogenic fungal endophytes." *Biological Control* 46(1): 72-82.
- Vukovitz, G. (1980). *Obstkrankheiten - Teil IV Beerenobst*. Graz, Leopold Stocker Verlag.
- Weber, R. W. S. (2011). "Resistance of *Botrytis cinerea* to Multiple Fungicides in Northern German Small-Fruit Production." *Plant Disease* 95(10): 1263-1269.
- Wooley, J. C., A. Godzik and I. Friedberg (2010). "A Primer on Metagenomics." *PLoS Comput Biol* 6(2): e1000667.
- Xiao, C. L., C. K. Chandler, J. F. Price, J. R. Duval, J. C. Mertely and D. E. Legard (2001). "Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems." *Plant Disease* 85: 901-909.
- Xu, X., J. Robinson, M. Jeger and P. Jeffries (2010). "Using combinations of biocontrol agents to control *Botrytis cinerea* on strawberry leaves under fluctuating temperatures." *Biocontrol Science and Technology* 20(4): 359-373.
- Xu, X. M., P. Jeffries, M. Pautasso and M. J. Jeger (2011). "Combined Use of Biocontrol Agents to Manage Plant Diseases in Theory and Practice." *Phytopathology* 101(9): 1024-1031.
- Zimmer, J. (2008). pers. Mitt. (DLR-Rheinpfalz, Kompetenzzentrum Gartenbau, Bad Neuenahr-Ahrweiler, Germany).

## 7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

### Internet

Projektinformationen zum "Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren - Teilprojekt: Graufäule und Echter Mehltau unter besonderer Berücksichtigung möglicher Wechselwirkungen" unter <http://orgprints.org/15420/> und <http://www.bundesprogramm.de/fkz=06OE354>.

Informationen zum Projekt in englischer Sprache: "Application of biocontrol agents to regulate grey mould and powdery mildew on strawberries" unter <http://www.fa-gm.de/fachgebiet-phytomedizin/projekte-pf/erdbeerprojekt/index.html>

Poster mit Projektübersicht unter <http://www.fa-gm.de/fachgebiet-phytomedizin/projekte-pf/erdbeerprojekt/index.html>

### Tagungsbandbeiträge

J. Sylla, E. Krüger, B. W. Alsanius, D. Becker, W. Wohanka: Control of Strawberry Grey Mould by Biocontrol Agents and their Survival in the Phyllosphere. 7th International Strawberry Symposium, Beijing, China, February 18-22, 2012, p.372

Justine Sylla, Beatrix W. Alsanius, Erika Krüger, Dorit Becker, Walter Wohanka: Application of biocontrol agents against grey mould on strawberries: interactions between biocontrol agents in the phyllosphere and their effects on the natural microflora. 1st International Symposium on Microbial Horticulture, Alnarp, Sweden, May 15-19, 2011, S13

Sylla, J., Krüger, E., Alsanius, B.W., Becker, D., Wohanka, W.: Compatibility of Biocontrol Agents With Regard to Their Efficacy Towards Grey Mould and Powdery Mildew on Strawberries. 28th International Horticultural Congress, Lisboa, Portugal, August 22-27, 2010, p. 145 (P 72)

J. Sylla, E. Krüger, B. Alsanius, D. Becker, W. Wohanka: Compatibility of biocontrol agents with regard to their efficiency towards grey mould and powdery mildew on strawberries. Meeting of the IOBC/WPRS Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens ": Climate change: challenge or threat to biocontrol, Graz, Austria, June 7-10, 2010, p. 55 (S 01.325)

### Vorträge

Justine Sylla: Erfahrungen zum experimentellen Einsatz von mikrobiologischen Präparaten gegen *Botrytis cinerea* an Erdbeeren unter Freilandbedingungen. DPG-Arbeitskreistagung Biologischer Pflanzenschutz von Pflanzenkrankheiten, 16. März 2012, Einbeck

Justine Sylla: Application of biocontrol agents to regulate grey mould and powdery mildew on strawberries. Microbial Horticulture Workshop, Université Laval, Québec, Canada, February 16-17, 2012

Sylla, J.: Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren – Teilprojekt Graufäule und Echter Mehltau. Vorstellung der Projektergebnisse 2011. BÖL-Treffen, 28. November 2011, Geisenheim

Justine Sylla, Beatrix W. Alsanius, Erika Krüger, Dorit Becker, Walter Wohanka: Application of biocontrol agents against grey mould on strawberries: interactions between biocontrol agents in the phyllosphere and their effects on the natural microflora. 1st International Symposium on Microbial Horticulture, Alnarp, Sweden, May 15-19, 2011, S13

Sylla, J.: Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren – Teilprojekt Graufäule und Echter Mehltau. Vorstellung der Projektergebnisse 2010. BÖL-Treffen, 18. Januar 2011, Geisenheim

Sylla, J.: Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren – Teilprojekt Graufäule und Echter Mehltau. Vorstellung der Projektergebnisse. BÖL-Treffen, 24. November 2009, Darmstadt

Sylla, J.: Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren - Teilprojekt: Graufäule und Echter Mehltau. Projektvorstellung. Ökologische Beerenobsttagung, 4. März 2009, Weinsberg

Sylla, J.: Einsatz mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Krankheiten an Erdbeeren. Projektvorstellung. DPG-Arbeitskreistagung Biologischer Pflanzenschutz von Pflanzenkrankheiten, 27. März 2009, Berlin

## **Poster**

J. Sylla, E. Krüger, B. W. Alsanius, D. Becker, W. Wohanka: Control of Strawberry Grey Mould by Biocontrol Agents and their Survival in the Phyllosphere. 7th International Strawberry Symposium, Beijing, China, February 18-22, 2012

Sylla, J., Krüger, E., Alsanius, B.W., Becker, D., Wohanka, W. Einsatz und Kompatibilität Mikrobiologischer Präparate zur Regulierung von Graufäule und Echtem Mehltau an Erdbeeren unter Freilandbedingungen. 57. Deutsche Pflanzenschutztagung, Berlin, 06.09.-09.09.2010

Sylla, J., Krüger, E., Alsanius, B.W., Becker, D., Wohanka, W.: Compatibility of Biocontrol Agents With Regard to Their Efficacy Towards Grey Mould and Powdery Mildew on Strawberries. 28th International Horticultural Congress, Lisboa, Portugal, August 22-27, 2010

J. Sylla, E. Krüger, B. Alsanius, D. Becker, W. Wohanka: Compatibility of biocontrol agents with regard to their efficiency towards grey mould and powdery mildew on strawberries. Meeting of the IOBC/WPRS Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens ": Climate change: challenge or threat to biocontrol, Graz, Austria, June 7-10, 2010

J. Sylla, E. Krüger-Steden, B. Alsanius, D. Becker and W. Wohanka: Compatibility of Biocontrol Agents - *in vitro*. µHORT Research School, SLU Alnarp, Sweden, March 8-19, 2010

Sylla, J., Wohanka, W., Krüger-Steden, E. und Becker, D.: Application of Biocontrol Agents to Regulate Diseases on Strawberries. Grey Mould (*Botrytis cinerea*) and Powdery Mildew (*Podosphaera aphanis*). Seminar „Microbial Horticulture“, 7. bis 18. September 2009, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp (Schweden)

# ANHANG

**Tabelle A: Verwendete Nährmedien und Nährlösungen für die Laborversuche zur Kompatibilität von BCAs**

| Medium  | Rezeptur des Mediums                                                          |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------|
| PDA     | 39 g/L Potato Dextrose Agar (Merck, Deutschland)                              |
| 0.1 TSA | 4 g/L Tryptic Soy Agar (BD, Frankreich)<br>15 g/L Bacto Agar (BD, Frankreich) |
| PDB     | 24 g/L Potato Dextrose Broth (BD, Frankreich)                                 |

**Tabelle B: Verwendete Nährmedien für die Lebendkeimzahlbestimmungen**

| Lebendkeimzahlen von                              | Medium                                                                    | Rezeptur des Mediums                                                                                                                                                                                                                                                                  | Inkubationszeit  |
|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Gesamtkeimzahl Bakterien                          | R2A<br>(mit Fungiziden)                                                   | 18,2 g/L R2A Agar (BD, France)<br>0,1 g/L Cycloheximid                                                                                                                                                                                                                                | 7 Tage bei 20 °C |
| Gesamtkeimzahl Pilze                              | PDA dil.<br>(verdünnt, mit Antibiotikum)                                  | 10,0 g/L Potato Dextrose Agar (Merck, Deutschland)<br>12,0 g/L Bacto Agar (BD, Frankreich)<br>0,1 g/L Streptomycinsulfat<br>0,01 g/L tetracycline hydrochlorid                                                                                                                        | 7 Tage bei 20 °C |
| Keimzahl Bacilli *                                | TSA dil.<br>(verdünnt, mit Fungizid )                                     | 4,0 g/L Tryptic Soy Agar, BD, Frankreich<br>13,5 g/L Bacto Agar (BD, Frankreich)<br>0,1 g/L Cycloheximid                                                                                                                                                                              | 2 Tage bei 27 °C |
| Keimzahl <i>Trichoderma</i> spp.<br>(nur in 2010) | TSM<br>(mit Antibiotika)<br><br>Verändert nach Elad et al.(1981)          | 20,0 g/L Bacto Agar (BD, Frankreich)<br>3,3 g/L Glucose * H <sub>2</sub> O<br>0,9 g/L K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub><br>0,15 g/L KCL<br>0,2 g/L MgSO <sub>4</sub> * 7 H <sub>2</sub> O<br>1,0 g/L NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub><br>2 ml/L Bengarosal<br>0,3 g/L Streptomycinsulfat | 7 Tage bei 20 °C |
| Keimzahl <i>Beauveria</i> spp.                    | BSM<br>(mit Antibiotika und Fungiziden)<br><br>nach Strasser et al.(1996) | 18,0 g/L Bacto Agar (BD, Frankreich)<br>20,0 g/L Glucose (99,9%)<br>10,0 g/L Soja-Pepton<br>0,05 g/L Cycloheximid<br>0,1 g/L Dodine<br>0,1 g/L Streptomycinsulfat<br>0,05 g/L Tetracycline hydrochloride                                                                              | 7 Tage bei 20 °C |
| <i>Aureobasidium</i> spp.<br>(nur in 2011)        | SA<br>(mit Antibiotikum)                                                  | 65,0 g/L Sabouraud Glucose Agar (Nordwald, Deutschland)<br>0,3 g/L Streptomycinsulfat                                                                                                                                                                                                 | 5 Tage bei 20 °C |

\* Für die Bestimmung der Bacilli-Keimzahlen auf TSA dil. wurden die Extrakte vor dem Ausplattieren für 15 Minuten auf 80°C erhitzt, um die aktiven Zellen abzutöten. Bei den Zellen, die auf verdünntem TSA wachsen, handelt es sich anschließend um Bacilli, deren Endosporen das Hitzebad überdauert haben.

**Tabelle C:** Auflistung der vollständigen Ergebnisse der Dualkulturtests. Antagonisten mit grauer Schrift konnten nicht identifiziert und taxonomisch zugeordnet werden

| Rang | Antagonist                                   | Präparat                | Mittlere Hemmzone [cm] |
|------|----------------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| 1    | <i>Serratia proteamaculans</i> BSR1-2-6      |                         | 4.6                    |
| 2    | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>            | RhizoVital® 42fl.       | 4.2                    |
| 3    | <i>Burkholderia glumae</i>                   |                         | 4.2                    |
| 4    | <i>Bacillus subtilis</i> A                   |                         | 4.0                    |
| 5    | <i>Bacillus subtilis</i> A                   |                         | 3.8                    |
| 6    | <i>Enterobacter radicicitans</i> 1           | in Entwicklung (Abitep) | 3.8                    |
| 7    | <i>Bacillus subtilis</i>                     | FZB24® fl.              | 3.8                    |
| 8    | <i>Bacillus subtilis</i> 1Pe4 - 13           |                         | 3.7                    |
| 9    | <i>Bacillus</i>                              |                         | 3.7                    |
| 10   | <i>Burkholderia glumae</i>                   |                         | 3.7                    |
| 11   | <i>Bacillus subtilis</i> QST 713             | Serenade®               | 3.6                    |
| 12   | Nr. 975                                      |                         | 3.6                    |
| 13   | <i>Pseudomonas trivialis</i> RE*1-1-14       |                         | 3.5                    |
| 14   | <i>Collimonas fungivorans</i> A23            |                         | 3.5                    |
| 15   | <i>Bacillus licheniformis</i>                |                         | 3.3                    |
| 16   | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> e-p10 P69 |                         | 3.3                    |
| 17   | <i>Serratia plymuthica</i> HRO-C48           |                         | 3.2                    |
| 18   | <i>Streptomyces graminofaciens</i>           |                         | 3.1                    |
| 19   | <i>Serratia plymuthica</i> RR2-5-10          |                         | 2.8                    |
| 20   | <i>Bacillus subtilis</i> B2g                 |                         | 2.8                    |
| 21   | U439b                                        |                         | 2.8                    |
| 22   | RI 5                                         |                         | 2.8                    |
| 23   | <i>Brevibacillus brevis</i>                  |                         | 2.6                    |
| 24   | II 16/1                                      |                         | 2.7                    |
| 25   | We8b                                         |                         | 2.6                    |
| 26   | 98A (Actinomycet)                            |                         | 2.6                    |
| 27   | <i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA342        |                         | 2.5                    |
| 28   | WE 18                                        |                         | 2.5                    |
| 29   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>               |                         | 2.4                    |
| 30   | E183                                         |                         | 2.4                    |
| 31   | II 79/2                                      |                         | 2.4                    |
| 32   | I 135a                                       |                         | 2.3                    |
| 33   | A 267 Actinomycet                            |                         | 2.2                    |
| 34   | IV298a                                       |                         | 2.1                    |
| 35   | U461a                                        |                         | 2.1                    |
| 36   | (Brevi-) <i>Bacillus brevis</i>              |                         | 2                      |
| 37   | <i>Pseudomonas trivialis</i> 3Re2-7          |                         | 1.9                    |
| 38   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>               |                         | 1.9                    |
| 39   | <i>Bacillus mycoides</i>                     |                         | 1.8                    |
| 40   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>               |                         | 1.7                    |
| 41   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                |                         | 1.7                    |
| 42   | Nr. 20(2)                                    |                         | 1.7                    |
| 43   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                |                         | 1.6                    |
| 44   | RI 11                                        |                         | 1.6                    |
| 45   | <i>Serratia plymuthica</i>                   |                         | 1.6                    |
| 46   | <i>Enterobacter radicicitans</i> 2           |                         | 1.5                    |
| 47   | <i>Streptomyces albidoflavus</i> 1W1         |                         | 1.5                    |
| 48   | <i>Bacillus</i>                              |                         | 1.4                    |
| 49   | <i>Bacillus mycoides</i>                     |                         | 1.3                    |
| 50   | Nr. 1010                                     |                         | 1.3                    |
| 51   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                |                         | 1.2                    |
| 52   | RI 6                                         |                         | 1.2                    |

| Rang | Antagonist                                      | Präparat | Mittlere Hemmzone [cm] |
|------|-------------------------------------------------|----------|------------------------|
| 52   | RI 6                                            |          | 1.2                    |
| 53   | <i>Bacillus pumilis</i> BB1-3-5                 |          | 1.1                    |
| 54   | <i>Pseudomonas aurantiaca</i> SDK2-2-6          |          | 1.1                    |
| 55   | <i>Burkholderia bryophila</i> sp. nov. A5       |          | 1.1                    |
| 56   | G22                                             |          | 1.1                    |
| 57   | IV906                                           |          | 1                      |
| 58   | We 8a                                           |          | 1                      |
| 59   | <i>Erwinia herbicola</i>                        |          | 0.9                    |
| 60   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                   |          | 0.8                    |
| 61   | <i>Pseudomonas putida</i> 1T1                   |          | 0.8                    |
| 62   | <i>Subtercola pratensis</i> Rübel1-3-7          |          | 0.8                    |
| 63   | <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> |          | 0.8                    |
| 64   | <i>B. subtilis</i>                              |          | 0.6                    |
| 65   | Actinomycet                                     |          | 0.6                    |
| 66   | <i>Streptomyces</i> sp.                         |          | 0.5                    |
| 67   | <i>B. thuriengensis</i> subsp. <i>Aizawai</i>   |          | 0.5                    |

**Tabelle D:** Auflistung der vollständigen Ergebnisse der Blattscheibentests. Antagonisten mit grauer Schrift konnten nicht identifiziert und taxonomisch zugeordnet werden

| Rang | Antagonist                                   |                   | Mittlerer Wirkungsgrad [%] |
|------|----------------------------------------------|-------------------|----------------------------|
| 1    | <i>Ampelomyces quisqualis</i>                | AQ10® WG          | 95.25                      |
| 2    | <i>Penicillium oxalicum</i>                  |                   | 93.74                      |
| 3    | <i>Aureobasidium pullulans</i>               |                   | 93.74                      |
| 4    | <i>Bacillus subtilis</i> 1Pe4 - 13           |                   | 87.48                      |
| 5    | <i>Trichoderma harzianum</i> T22             | Trianum-P         | 87.48                      |
| 6    | <i>Trichoderma viride</i> ICC080             |                   | 87.48                      |
| 7    | <i>Bacillus circulans</i>                    |                   | 83.95                      |
| 8    | WE 18                                        |                   | 83.95                      |
| 9    | <i>Trichoderma harzianum</i> ICC012          |                   | 83.31                      |
| 10   | <i>Bacillus</i>                              |                   | 83.31                      |
| 11   | <i>Verticillium lecanii</i> 18               |                   | 83.31                      |
| 12   | <i>Bacillus mycoides</i>                     |                   | 81.22                      |
| 13   | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> e-p10 P69 |                   | 80.99                      |
| 14   | <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>            | RhizoVital42® fl. | 79.13                      |
| 15   | <i>Staphylococcus</i>                        |                   | 78.60                      |
| 16   | <i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA342        | Cedemon®          | 78.60                      |
| 17   | <i>Trichoderma harzianum</i> T58             | Trichostar®       | 76.24                      |
| 18   | RI 5                                         |                   | 75.03                      |
| 19   | <i>Trichoderma harzianum</i> T39             |                   | 74.96                      |
| 20   | <i>Erwinia herbicola</i>                     |                   | 73.24                      |
| 21   | <i>Burkholderia bryophila</i> sp. nov. A5    |                   | 71.49                      |
| 22   | <i>Clonostachys rosae</i> IK 726             |                   | 71.49                      |
| 23   | <i>Bacillus subtilis</i>                     |                   | 71.46                      |
| 24   | <i>Bacillus</i>                              |                   | 69.68                      |
| 25   | (Brevi-) <i>Bacillus brevis</i>              |                   | 66.74                      |
| 26   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                |                   | 66.61                      |
| 27   | <i>Trichoderma harzianum</i> T50             | Vitalin           | 66.11                      |
| 28   | <i>Bacillus</i>                              |                   | 64.33                      |
| 29   | <i>Trichoderma harzianum</i>                 |                   | 64.33                      |
| 30   | <i>Pseudomonas aurantiaca</i> SDK2-2-6       |                   | 64.33                      |
| 31   | Actinomycet                                  |                   | 63.63                      |
| 32   | <i>Streptomyces graminofaciens</i>           |                   | 63.63                      |

| Rang | Antagonist                                                   | Mittlerer Wirkungsgrad [%] |
|------|--------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 33   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                                | 62.44                      |
| 34   | <i>Pseudomonas trivialis</i> RE*1-1-14                       | 62.44                      |
| 35   | <i>Bacillus</i>                                              | 62.44                      |
| 36   | <i>Streptomyces albidoflavus</i> 1W1                         | 61.98                      |
| 37   | <i>Microsphaeropsis</i> -Isolat                              | 61.98                      |
| 38   | <i>Staphilococcus</i>                                        | 61.98                      |
| 39   | <i>Bacillus</i>                                              | 58.27                      |
| 40   | <i>Bacillus subtilis</i> FZB24®fl.                           | 58.27                      |
| 41   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                                | 58.27                      |
| 42   | <i>Trichoderma asperellum</i>                                | 58.27                      |
| 43   | <i>Metschnikowia fructicola</i>                              | 57.23                      |
| 44   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                               | 55.41                      |
| 45   | IV906                                                        | 55.41                      |
| 46   | <i>Streptomyces</i> spp.                                     | 54.54                      |
| 47   | WE I                                                         | 54.09                      |
| 48   | I 135a                                                       | 53.62                      |
| 49   | <i>Bacillus subtilis</i> B2g                                 | 52.48                      |
| 50   | <i>Brevibacillus brevis</i>                                  | 52.48                      |
| 51   | <i>Trichoderma atroviride</i>                                | 50.06                      |
| 52   | <i>Pseudomonas putida</i> 1T1                                | 49.92                      |
| 53   | 1010                                                         | 45.44                      |
| 54   | <i>Trichoderma harzianum</i>                                 | 45.44                      |
| 55   | <i>Bacillus pumilis</i> BB1-3-5                              | 43.66                      |
| 56   | <i>Beauveria bassiana</i> Naturalis®                         | 42.97                      |
| 57   | <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> 12                          | 41.14                      |
| 58   | <i>Metarhizium anisopliae</i>                                | 38.22                      |
| 59   | II 79/2                                                      | 37.57                      |
| 60   | <i>Bacillus mycoides</i>                                     | 37.40                      |
| 61   | <i>Verticillium lecanii</i> 23                               | 37.40                      |
| 62   | <i>Collimonas fungivorans</i> A23                            | 37.40                      |
| 63   | <i>Trichoderma harzianum</i> T39                             | 36.35                      |
| 64   | <i>Bacillus subtilis</i> A                                   | 31.14                      |
| 65   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                               | 31.14                      |
| 66   | <i>Bacillus subtilis</i> QST 713 Serenade®                   | 29.05                      |
| 67   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                               | 29.05                      |
| 68   | <i>Serratia plymuthica</i> HRO-C48                           | 28.72                      |
| 69   | <i>Actinomyces</i>                                           | 27.26                      |
| 70   | <i>Actinomyces</i>                                           | 27.26                      |
| 71   | <i>Pseudomonas</i>                                           | 27.26                      |
| 72   | <i>Bacillus thuriengensis</i> subsp. <i>Aizawai</i> Xentari® | 27.26                      |
| 73   | <i>Bacillus</i>                                              | 27.26                      |
| 74   | <i>Serratia proteamaculans</i> BSR1-2-6                      | 24.88                      |
| 75   | <i>Bacillus thuriengensis</i>                                | 24.88                      |
| 76   | Isolat von Gurken-Wurzel                                     | 18.17                      |
| 77   | <i>Enterobacter radicicitans</i> 1                           | 12.36                      |
| 78   | <i>Enterobacter radicicitans</i> 2                           | 8.19                       |
| 79   | U461a                                                        | -0.02                      |
| 80   | <i>Serratia plymuthica</i> RR2-5-10                          | -8.51                      |
| 81   | <i>Bacillus laevolacticus</i>                                | -18.80                     |
| 82   | <i>Bacillus</i>                                              | -18.80                     |
| 83   | <i>Serratia plymuthica</i> Rhizostar®fl.                     | -27.30                     |
| 84   | U439b                                                        | -33.06                     |
| 85   | G22                                                          | -36.39                     |
| 86   | <i>Burkholderia glumae</i>                                   | -45.48                     |
| 87   | <i>Subtercola pratensis</i> Rübel1-3-7                       | -63.67                     |

| Rang | Antagonist                 | Mittlerer Wirkungsgrad [%] |
|------|----------------------------|----------------------------|
| 88   | <i>Burkholderia glumae</i> | -90.95                     |
| 89   | <i>Clonostachys rosae</i>  | Nicht auswertbar           |

**Tabelle E:** Auflistung der vollständigen Ergebnisse der Blütentests

| Rang | Antagonist                          | Präparat    | Mittlerer Wirkungsgrad [cm] |
|------|-------------------------------------|-------------|-----------------------------|
| 1    | <i>Metarhizium anisopliae</i>       |             | 71.06                       |
| 2    | <i>Beauveria bassiana</i>           | Naturalis®  | 63.06                       |
| 3    | <i>Metschnikowia fructicola</i>     |             | 61.53                       |
| 4    | <i>Clonostachys rosae</i> IK 726    |             | 57.71                       |
| 5    | <i>Trichoderma harzianum</i> T58    | Trichostar® | 57.68                       |
| 6    | <i>Microsphaeropsis</i> -Isolat     |             | 54.43                       |
| 7    | <i>Clonostachys rosae</i>           |             | 47.43                       |
| 8    | <i>Trichoderma harzianum</i>        |             | 46.89                       |
| 9    | <i>Verticillium lecanii</i> 18      |             | 44.72                       |
| 10   | <i>Trichoderma harzianum</i> T22    | Triatum-P   | 35.24                       |
| 11   | Wasser                              |             | 33.17                       |
| 12   | <i>Penicillium oxalicum</i>         |             | 31.24                       |
| 13   | <i>Verticillium lecanii</i> 23      |             | 25.24                       |
| 14   | <i>Trichoderma atroviride</i>       |             | 23.06                       |
| 15   | <i>Trichoderma harzianum</i> T39    |             | 19.84                       |
| 16   | <i>Ampelomyces quisqualis</i>       | AQ10® WG    | 19.61                       |
| 17   | <i>Trichoderma harzianum</i> ICC012 |             | 17.18                       |
| 18   | <i>Trichoderma virens</i>           |             | 16.04                       |
| 19   | <i>Trichoderma harzianum</i> T50    | Vitalin     | 15.02                       |
| 20   | <i>Trichoderma viride</i> ICC080    |             | 14.50                       |
| 21   | <i>Aureobasidium pullulans</i>      |             | 8.87                        |
| 22   | <i>Trichoderma asperellum</i>       |             | 7.88                        |
| 23   | <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> 12 |             | -3.02                       |