



# Schlussbericht zum Thema

**Entwicklung von Resistenz- und  
Virulenzmanagement-Strategien beim  
Apfelgranulosevirus im ökologischen  
Obstbau**

**FKZ: 2815OE081; 2815OE109; 2815OE112**

**Projektnehmer: Julius Kühn-Institut;  
Universität Hohenheim;  
Kompetenzzentrum Obstbau-Bodensee**

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung  
und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des  
Deutschen Bundestages im Rahmen des  
Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere  
Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische und nachhaltige Land- und Lebensmittelwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖLN-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in Bonn in die Praxis umgesetzt. Das Programm untergliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder, den Forschungs- und den Informationsbereich.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter  
[www.bundesprogramm.de](http://www.bundesprogramm.de)

**Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:**

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung  
Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft  
Deichmanns Aue 29  
53179 Bonn  
Tel: 0228-6845-3280  
E-Mail: [boeln@ble.de](mailto:boeln@ble.de)

<b>Zuwendungsempfänger:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Julius Kühn-Institut (JKI), Darmstadt</li> <li>• Universität Hohenheim</li> <li>• Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum – Rheinpfalz (DLR), Rheinbach</li> <li>• Öko-Obstbau Norddeutschland (ÖON e.V.), Jork</li> <li>• Kompetenzzentrum Obstbau – Bodensee (KOB), Bavendorf</li> </ul>
<b>Förderkennzeichen:</b>	2815OE081 2815OE109 - 112
<b>Vorhabenbezeichnung:</b>	Entwicklung von Resistenz- und Virulenzmanagement-Strategien beim Apfelwicklergranulovirus im Ökologischen Obstbau (ÖkoReVir)
<b>Laufzeit:</b>	01.04.2017 – 31.03.2022
<b>Koordination:</b>	Prof. Dr. J. A. Jehle (JKI, Darmstadt)
<b>Beteiligte Institute:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Julius Kühn-Institut (JKI), Darmstadt</li> <li>• Universität Hohenheim</li> <li>• Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum – Rheinpfalz (DLR), Rheinbach</li> <li>• Öko-Obstbau Norddeutschland (ÖON e.V.), Jork</li> <li>• Kompetenzzentrum Obstbau – Bodensee (KOB), Bavendorf</li> </ul>

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Ernährung  
und Landwirtschaft

**BÖLN**

Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
und andere Formen nachhaltiger  
Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

## Inhalt

1	Einführung .....	3
1.1	Gegenstand des Vorhabens.....	3
1.2	Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen .....	3
1.3	Ziele und Aufgabenstellung des Projektes .....	3
1.4	Planung und Ablauf des Projektes .....	4
2	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde .....	4
3	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse .....	8
3.1	AP 1: Untersuchung der Resistenz in den Anlagen mit einer Teilwirkung des neuen CpGV ABC V15 (Madex® TOP) bzw. ABC V14 und Selektion neuer Isolate.....	8
3.1.1	Inzuchtnahme von AW-Populationen aus Problemanlagen .....	8
3.1.2	Testung neu selektierter CpGV-Isolate .....	8
3.2	AP 2: Monitoring der Entwicklung in den mit Madex® MAX behandelten Praxisanlagen sowie des Befalls und Resistenzstatus in den Langzeitversuchen mit dem neuen CpGV-Versuchspräparat ABC V14.....	9
3.2.1	Monitoring von Anlagen, die mit Madex® MAX behandelt wurden.....	10
3.2.1.1	Testung auf Resistenz im Labor .....	10
3.2.2	Monitoring von Anlagen, die mit ABC V14 behandelt wurden .....	12
3.2.2.1	Material und Methoden .....	12
3.2.2.2	Monitoring der Anlagen in der Region Nord.....	13
3.2.2.2.1	Befallsverlauf des Apfelwicklers in der Region Nord.....	13
3.2.2.2.2	Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region Nord.....	14
3.2.2.3	Monitoring der Anlagen in der Region West.....	19
3.2.2.3.1	Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2017 bis 2021 in der Region West.....	19
3.2.2.3.2	Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region West .....	20
3.2.2.4	Monitoring der Anlagen in der Region Süd .....	22
3.2.2.4.1	Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2018 bis 2021 in der Region Süd.....	22
3.2.2.4.2	Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region Süd.....	23
3.2.2.5	Monitoring der Anlagen in der Region Ost .....	25
3.2.2.5.1	Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2020 bis 2021 in der Region Ost .....	25
3.2.2.5.2	Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die Madex® TOP eingesetzt haben in der Region Ost.....	26
3.2.2.6	Testung auf Resistenz im Labor .....	27
3.3	AP 3: Simulation verschiedener Strategien zum Resistenzmanagement mit den verschiedenen verfügbaren neuen Isolaten im Labor.....	28
3.3.1	A) Selektionsexperiment .....	28
3.3.1.1	CpGV-M Resistenz .....	32
3.3.1.2	CpGV-S Resistenz.....	32
3.3.1.3	CpGV-E2 Resistenz.....	32
3.3.1.4	Stabilität der CpGV-Resistenz von BW-HU-15 Most ohne Selektionsdruck.....	34
3.3.1.5	Stabilität der CpGV-Resistenz der Selektionslinie P10S ohne Virusdruck.....	35
3.3.2	B) Untersuchungen zur vertikalen Transmission von CpGV beim Apfelwickler.....	36
3.3.2.1	Selektionsexperiment.....	36
3.3.2.1.1	PCR-Analysen des Referenzstammes BW-HU-15 Most (PK).....	37
3.3.2.1.2	PCR Analysen toter/viröser Larven der Selektionslinien unter Virusdruck.....	38
3.3.2.1.3	PCR-Analyse lebender Nachkommen (Larven, Falter, Puppen) der Selektionslinien auf virusfreiem Medium.....	40
3.3.2.2	AW-Freilandpopulation (BW-HU-19/20 Most) .....	42
3.4	AP 4: A) Verbesserung der Wirkung des CpGV durch Zusätze: z.B. Modulierung des Mitteldarmbioms durch Hefen, Testung im Labor und im Freiland und B) Wechselwirkungen mit anderen Mitteln .....	44
3.4.1	A) CpGV-Wirkungsverbesserung durch Hefen.....	44
3.4.1.1	Versuche im Labor.....	44
3.4.1.2	Versuche im Freiland .....	45
3.4.2	B) CpGV-Mischbarkeit mit anderen Präparaten .....	46
3.4.2.1	Cu-Ersatzstoffe (Pelargonsäure).....	46
3.4.2.2	Schwefelkalk (Curatio) .....	47
3.5	AP 5: Monitoring des Resistenzstatus in den Anlagen, die 2004 bis 2006 Resistenzen gegen CpGV-M aufgewiesen haben, seither aber unauffällig sind.....	49
3.6	AP 6: Test einer Einnetzung auf Praktikabilität und ihren Einfluss auf Wachstums-, Ertrags- und Qualitätsparameter im Ökologischen Obstbau .....	51

3.6.1	Versuchsaufbau .....	51
3.6.1.1	Keep in Touch® System .....	52
3.6.1.2	Antiacqua System .....	52
3.6.1.3	Handling der Systeme: Zeitpunkt des Schließens, Ausdünnung, Pflanzenschutzprogramm ..	53
3.6.2	Ergebnisse .....	53
3.6.2.1	'Topaz' .....	53
3.6.2.1.1	Blüte, Ertrag und Qualität.....	53
3.6.2.1.2	Stammzuwachs.....	55
3.6.2.1.3	Apfelwickler ( <i>Cydia pomonella</i> ), Kleiner Fruchtwickler ( <i>Grapholita lobarzewskii</i> ), Apfelschalengewickler ( <i>Adoxophyes orana</i> ) .....	56
3.6.2.1.4	Befall an grüner Apfelblattlaus ( <i>Aphis pomi</i> ) und Tastversuche zur Regulierung.....	56
3.6.2.1.5	Befall durch Blutlaus ( <i>Eriosoma lanigerum</i> ) .....	58
3.6.2.2	'Jonagored' .....	59
3.6.2.2.1	Blüte, Ertrag und Qualität.....	59
3.6.2.2.2	Stammzuwachs.....	61
3.6.2.2.3	Apfelwickler ( <i>Cydia pomonella</i> ), kleiner Fruchtwickler ( <i>Grapholita lobarzewskii</i> ), Apfelschalengewickler ( <i>Adoxophyes orana</i> ) .....	61
3.6.2.2.4	Befall an grüner Apfelblattlaus ( <i>Aphis pomi</i> ) und Tastversuche zur Regulierung.....	61
3.6.2.2.5	Befall durch Blutlaus ( <i>Eriosoma lanigerum</i> ) und Tastversuch zur Regulierung.....	63
3.6.2.2.6	Pfennigminiermotte ( <i>Leucoptera malifoliella</i> ) .....	65
3.6.2.2.7	Pilzliche Krankheitserreger: Apfelschorf ( <i>Venturia inaequalis</i> ), Blattfallkrankheit ( <i>Marssonina coronaria</i> ) .....	65
3.6.2.3	Praktikabilität der Systeme: Zeitmessungen .....	67
3.6.2.4	Wirtschaftlichkeit der Systeme .....	67
3.6.2.5	Praxisversuche .....	69
3.6.2.5.1	Praxisversuch1: Befall an grüner Apfelblattlaus ( <i>Aphis pomi</i> ) und Tastversuche zur Regulierung.....	69
3.6.2.5.2	Praxisversuch 2: Vergleich Braeburn unter Keep in Touch® und unter Hagelnetz .....	69
4	Diskussion der Ergebnisse .....	70
5	Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse .....	73
6	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen.....	73
7	Zusammenfassung .....	74
8	Literaturverzeichnis .....	77
9	Übersicht über alle im Berichtszeitraum der Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.), bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse.....	79
9.1	Vorträge 2017-2022 .....	79
9.2	Publikationen.....	82
9.3	Verwertung.....	83
9.4	Fachgespräche.....	83

# 1 Einführung

## 1.1 Gegenstand des Vorhabens

Das Ziel des Projekts „Entwicklung von Resistenz- und Virulenzmanagement-Strategien beim Apfelgranulovirus im ökologischen Obstbau“ (Akronym: ÖkoReVir) war es, in enger Zusammenarbeit von Forschung und Praxis eine tragfähige Strategie für ein nachhaltiges Resistenz- und Virulenzmanagement des Apfelwicklergranulovirus (CpGV) zu entwickeln und hieraus Empfehlungen für die Praxis des ökologischen Obstbaus zu erarbeiten. Die Strategie zur Bekämpfung des Apfelwicklers (AW) im ökologischen Obstbau basiert auf einer Kombination verschiedener Bausteine (Pheromon-Verwirrung, Apfelwicklergranuloviren (CpGV), entomopathogenen Nematoden, Bestandshygiene, etc.). Hierbei spielt die Anwendung von CpGV-Präparaten eine zentrale Rolle, da die Präparate für eine effiziente Bekämpfung des Apfelwicklers im ökologischen Anbau unabdingbar sind. Durch das Auftreten von Resistenzen ist die derzeitige Regulierungsstrategie nicht gesichert, langfristig droht der Verlust des wichtigsten Regulierungsbausteins. Zwar konnte in den vergangenen Jahren, durch intensive grundlagen- und praxisnahe Forschungsarbeiten und die Einführung resistenzbrechender CpGV-Isolate, kurzfristig die ökonomische Bedrohung des Öko-Apfelanbaus abgewendet werden, doch ergab sich aus neu beobachteten Resistenztypen in Süd- und Norddeutschland ein erheblicher Forschungs- und Entwicklungsbedarf zur Erarbeitung einer Empfehlung für ein langfristiges Bekämpfungsmanagement. Die Untersuchungen wurden in enger Zusammenarbeit des Instituts für Biologischen Pflanzenschutz des Julius Kühn-Instituts (JKI, Projektkoordination) mit der Universität Hohenheim (HOH), dem Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinpfalz (DLR), dem Öko-Obstbau Norddeutschland (ÖON) und dem Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee (KOB) durchgeführt werden.

## 1.2 Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen

Bekanntmachung über die Förderung von innovativen Vorhaben für einen nachhaltigen Pflanzenschutz vom 28. Juli 2015 - Modul B.

## 1.3 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Im Einzelnen verfolgte das Projekt folgende wissenschaftlich-technischen Ziele:

1. Monitoring und Untersuchung der Resistenzmechanismen von AW-Populationen aus Öko-Anlagen, bei denen 2015 erstmals das bisher potenteste, resistenzbrechende CpGV-Isolat ABC V15 nur eine Teilwirkung zeigte. Selektion von CpGV-Isolaten mit erhöhter Virulenz und deren Testung im Labor und im Freiland, um die Wirksamkeit von CpGV-Produkten langfristig zu sichern (Arbeitspaket AP1).
2. Monitoring des Befalls (Bonitur) und des Resistenzstatus (Labortest mit lebenden Larven) in Rahmen eines Langzeitversuchs in Praxisanlagen, in denen das zurzeit zugelassene resistenzbrechende CpGV-Präparate Madex® MAX sowie ein Versuchspräparat (ABC V14) mit Notfallzulassung nach Art. 53 VO 1107/2011 zum Einsatz kommen (AP2).
3. Monitoring des Resistenzstatus in den Anlagen, die 2004 bis 2006 Resistenzen gegen CpGV-M aufgewiesen hatten, seither aber unauffällig blieben (AP5).
4. Labor-Simulationen verschiedener Strategien zum Resistenzmanagement mit den verschiedenen verfügbaren neuen CpGV-Isolaten, um auf dieser Basis eine Beratungsempfehlung für die Anwendung verschiedener resistenzbrechender CpGV-Stämme geben zu können (AP3).

5. Verbesserung der CpGV-Wirkung durch Zusätze, z.B. Modulierung des Mitteldarmbioms durch Hefen und Testung im Labor und im Freiland. Überprüfung der Mischbarkeit des CpGV mit Präparaten, die im Rahmen einer Kupferminimierungsstrategie als Alternativen zur Schorfbekämpfung in der Praxis eingesetzt werden sollen (AP4).
6. Testung von Netzen als weiterer Baustein in der Bekämpfungsstrategie des Apfelwicklers (AP6).

Es wurde erwartet, dass die Ergebnisse einen sehr wichtigen Beitrag zur Fortentwicklung der derzeitigen Bekämpfungsstrategie des Apfelwicklers für den ökologischen Obstbau leisten und helfen, die langfristige, umweltschonende Bekämpfung des Apfelwicklers zu sichern. Die erarbeitenden Ergebnisse spielten auch für den integrierten Anbau eine bedeutsame Rolle, da CpGV-Präparate dort häufig in Kombination mit chemischen Pflanzenschutzmitteln zur Schadenskontrolle sowie zum Resistenzmanagement und zur Rückstandminimierung chemischer Pflanzenschutzmittel eingesetzt werden.

## 1.4 Planung und Ablauf des Projektes

Die Arbeiten wurden weitgehend wie geplant durchgeführt. Die Versuche zur Kombination von CpGV mit Hefen (siehe 1.3 (5.)) waren allerdings wenig erfolgversprechend und wurden deshalb im Jahr 2019 nicht mehr fortgeführt.

Während der Projektlaufzeit traten zahlreiche neue Fälle der Typ II-Resistenz gegenüber dem Isolat CpGV-S auf. Im Frostjahr 2017 konnte das Monitoring im Süden nur beschränkt erfolgen. Daher wurde eine Projektverlängerung beantragt, um u.a. das Monitoring weiterzuführen und zu beobachten, ob außer in einer Anlage (BW-HI) noch weitere Auffälligkeiten eintreten. Im Hinblick auf den verstärkten Einsatz von ABC V14, basierend auf dem Isolat CpGV-E2 (Genomgruppe B), in der Praxis, war es außerdem dringend erforderlich, den Selektionsversuch über mindestens zehn weitere Generationen mit CpGV-E2 im Labor fortzuführen, um so die Risiken einer Langzeitanwendung dieses Präparates abschätzen zu können.

Bezüglich der Inaktivierung des CpGV nach einer Applikation von Schwefelkalk auf mit CpGV behandelten Flächen, waren Fragen in der Praxis in Bezug auf die Wirksamkeit von CpGV-Produkten aufgetreten, die dringend beantwortet werden mussten und während der Projektverlängerung 2020-2022 bearbeitet wurden.

Das Projekt wurde vom JKI koordiniert. Dort wurden auch sämtliche Laboruntersuchungen des Arbeitspakets AP 3 sowie die Resistenztests und Laborversuche in Zusammenhang mit den entsprechenden Arbeitspaketen durchgeführt. Die in den AP 1, 2, 4 und 5 vorgenommenen Freilandarbeiten wurden in der Region Niederelbe durch den ÖON e.V. und in der Region West durch das DLR durchgeführt. Die Freilandarbeiten in der Region Süddeutschland wurden unter Einbeziehung von Hilfskräften der Universität Hohenheim von Frau Jutta Kienzle im Rahmen eines Werkvertrages mit dem JKI ausgeführt und koordiniert. Arbeitspaket AP 6 wurde am KOB Bavendorf durchgeführt.

## 2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im ökologischen Apfelanbau aber auch im integrierten Obstanbau sind Präparate auf der Basis des Apfelwicklergranulovirus (*Cydia pomonella* Granulovirus, CpGV) ein unverzichtbarer Grundpfeiler der Bekämpfung des Apfelwicklers (*AW*, *Cydia pomonella* L.). In Deutschland werden sie auf ca. 30 % der Gesamtanbaufläche des Apfels eingesetzt (Jehle et al., 2014; Koch et al., 2019), auf nahezu 100 % der ökologischen Apfelanbaufläche und ca. 25 % der Fläche in IP-Betrieben. Im Jahr 2005 wurde erstmals (Fritsch et al., 2005) in einzelnen ökologisch bewirtschafteten Apfelanlagen in Deutschland und später auch in einigen

Nachbarländern (Schmitt et al., 2013) eine Resistenz (Typ I-Resistenz) des Apfelwicklers gegenüber den damals verfügbaren Präparaten mit dem seit Ende der 1980er Jahre zugelassenen mexikanischen Isolat CpGV-M (Genomgruppe A) beobachtet.

Umfangreiche Untersuchungen auffälliger Apfelwickler-Populationen mittels Biotests mit Eilarven sowie Einzelpaarkreuzungen von Adulten im Labor zeigten, dass unterschiedliche Ausprägungen der Resistenz gegenüber dem CpGV innerhalb der Freilandpopulationen vorhanden sind. Im Vergleich zu einem sensiblen Laborstamm war die Empfindlichkeit zum Teil um das 1.000- bis zu 100.000-fache herabgesetzt, in einer 2006 untersuchten Anlage sogar um das 1.000.000-fache (Fritsch et al., 2005; Asser-Kaiser et al., 2007). Resistente AW-Populationen erwiesen sich als genetisch heterogen, d. h. sie setzen sich sowohl aus resistenten als auch sensiblen Tieren zusammen (Eberle & Jehle, 2006). Genetische Untersuchungen an einem über Einzelpaarkreuzungen selektierten homogen resistenten AW-Stamm (CpRR1) ergaben, dass ein Gen auf dem Geschlechtschromosom Z, das monogenisch und konzentrationsabhängig dominant vererbt wird, für die CpGV-Resistenz gegenüber dem Isolat CpGV-M (Genomgruppe A), dem aktiven Wirkstoff in den Präparaten Madex®, Granupom® und Carpovirusine®, verantwortlich ist (Asser-Kaiser et al., 2007 und 2010; Gebhardt et al. 2014). Dieser ungewöhnliche Erbgang der Resistenz forciert eine rasche Selektion resistenter Individuen unter CpGV-Druck und erklärt einen raschen Aufbau resistenter Populationen unter intensivem Einsatz von CpGV-Präparaten in der Praxis.

Ab dem Jahr 2006 wurde mit der Entwicklung resistenzbrechender CpGV-Präparate begonnen (Eberle et al., 2008; Berling et al., 2009a/b; Kienzle et al., 2007; Zingg, 2008). Seit 2011 ist das resistenzbrechende Produkt Madex® MAX (Andermatt Biocontrol AG) und seit 2016 das Präparat Carpovirusine® Evo2 (Arysta) auf dem Markt, die beide auf einer Mischung von Isolaten aus der Genomgruppe A und E basieren (Gueli Alletti et al., 2017). Der Einsatz dieser Präparate (Tabelle 1) führte zunächst zu einer deutlichen Entlastung der Resistenzproblematik in betroffenen Betrieben.

Ein intensives Resistenzmonitoring und die Entwicklung einer Schnelltestmethode, bei der AW-Larven aus befallenen Früchten isoliert und im Labor direkt auf ihre Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV getestet werden, ermöglichten es, resistenzverdächtige Anlagen bereits während der Saison zu identifizieren (Schulze-Bopp & Jehle, 2013). Auf diese Weise wurden zwei AW-Populationen (NRW-WE und SA-GO) ermittelt, bei denen der Einsatz des resistenzbrechenden Präparates Madex® Max (Genomgruppe E) nur eine unzureichende Wirkung zeigte.

In Kreuzungsexperimenten wurde festgestellt, dass es sich bei der Resistenz gegenüber Viren der Genomgruppe E um einen neuen Resistenztyp (Typ II) handelt, bei dem eine Kreuzresistenz gegenüber CpGV-M (Genomgruppe A) und CpGV-S (Genomgruppe E) vorliegt, wobei die Resistenzmechanismen selbst verschieden sind. Die CpGV-M-Resistenz (Resistenztyp I) betrifft die *pe38*-Region des Virusgenoms, während die CpGV-S-Resistenz (Resistenztyp II) gegen einen bisher unbekanntem Faktor gerichtet ist. Der neue Resistenztyp II wird nach einem dominanten, autosomalen Muster vererbt und unterscheidet sich damit deutlich vom Vererbungsweg der Typ I-Resistenz (Jehle et al., 2017; Sauer et al., 2017a/b). Der Resistenztyp III wird als Kreuzresistenz gegenüber CpGV-M und CpGV-S vererbt, wobei die CpGV-M-spezifische Resistenz gegen *pe38* einmal Z-chromosomal (klassischer Resistenztyp I) ein andermal auch autosomal vererbt werden kann (Resistenztyp III) und damit eine ungewöhnliche chromosomale Mobilität aufweist.

Das einzige gegen die Typ II-Resistenz bisher wirksame Virusisolat ist CpGV-E2 (Genomgruppe B). Die Versuchspräparate ABC V15 (= Produkt Madex® TOP) und ABC V14 (Andermatt Biocontrol AG) enthalten CpGV-E2 (Genomgruppe B). Sequenzanalysen zeigten, dass ABC V15 Viren der Genomgruppe B (CpGV-E2) und der Genomgruppe E (CpGV-S) zu etwa gleichen Anteilen enthält, während ABC V14 nahezu ausschließlich Viren der Genomgruppe B beinhaltet (Gueli Alletti et al., 2017, Fan et al., 2019).

Ein Einsatz des Produktes Madex® TOP in Anlagen mit ausgeprägter Typ II-Resistenz gegenüber Genomgruppe E scheint daher wenig sinnvoll, da das unwirksame Isolat CpGV-S weiterhin ausgebracht und gleichzeitig die Aufwandmenge des wirksamen Isolats der Genomgruppe B (CpGV-E2) halbiert wird, was eine weitere Resistenzbildung begünstigen könnte.

Tabelle 1: Übersicht der Eigenschaften verschiedener CpGV-Präparate.

Präparate	Isolat	Genomgruppe(n)	Resistenzbrechung
Madex® 3, Carpovirusine	CpGV-M	A	-
Madex® MAX	GV-0006	A und E	Typ I
Carpovirusine Evo2™	GV-R5	A und E	Typ I
Madex® TOP	V15	E und B	Typ I, Typ II
ABC V14	V14	B	Typ I, Typ II

\*modifiziert nach Jehle et al., 2016, Gueli Alletti et al., 2017

Im Rahmen des Resistenzmonitorings wurden 2014 und 2015 weitere Betriebe im Alten Land, am Bodensee und in Südbaden identifiziert, in denen der neue Resistenztyp II auftrat und die derzeit zugelassenen resistenzbrechenden CpGV-Präparate auf Basis der Genomgruppe E nicht wirkten. Das einzige gegen die Typ II-Resistenz bisher wirksame CpGV-Isolat ist CpGV-E2 (Genomgruppe B), enthalten im Produkt Madex® TOP, das in einigen Betrieben mit Erfolg eingesetzt werden konnte. In einzelnen Anlagen an der Niederelbe und am Bodensee zeigte sich 2015 bei Einsatz von Madex TOP jedoch keine ausreichende Wirkung. Für Populationen, die bereits gegenüber CpGV der Genomgruppe E resistent sind, sollte künftig auf jeden Fall Madex® TOP durch das Versuchspräparat ABC V14 ersetzt werden.

Um das Potential der Resistenzentwicklung gegenüber neuen resistenzbrechenden CpGV-Isolaten abschätzen zu können, sollte der Resistenzstatus von Apfelwickler-Populationen, in denen eine Typ I-Resistenz gegenüber CpGV-M bereits zwischen 2004 und 2006 nachgewiesen wurde und die seither unter Einsatz resistenzbrechender CpGV-Präparate unauffällig blieben, überprüft werden.

Da die Typ II-Resistenz des Apfelwicklers gegenüber dem resistenzbrechenden CpGV (Genomgruppe E) auf eine Veränderung im Mitteldarm zurückzuführen ist, stellte sich die Frage, ob möglicherweise eine Modulierung des Mitteldarmbioms zu einer verbesserten Wirksamkeit der Viren führen kann. Hierfür bieten sich Zusatzstoffe auf der Basis von Hefen an, die bereits in Präparaten für die Regulierung von Lagerkrankheiten und Feuerbrand zugelassen sind. Untersuchungen, sowohl unter Laborbedingungen auf Äpfeln als auch im Freiland zeigten, dass der Zusatz von Hefen (*Aureobasidium pullulans*), die Wirksamkeit des CpGV verbessern und eine höhere Sterblichkeit von AW-Larven hervorrufen kann (Knight et al., 2015; Knight & Witzgall, 2013). Inwieweit ein derartiger Effekt auch bei resistenten AW-Populationen zu beobachten ist, sollte im Laborversuch und im Freiland untersucht werden.

Zudem wurden in den vergangenen Jahren umfangreiche Untersuchungen zur Mischbarkeit des CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten (Pflanzenstärkungsmittel und Fungizide), die ebenfalls im ökologischen Apfelanbau Anwendung finden, durchgeführt. Dabei zeigte sich bei Präparaten, die in Lösung stark alkalische pH-Werte aufwiesen (Wasserglas und Schwefelkalk), ein signifikanter Aktivitätsverlust (Fritsch et al., 2008, 2011, 2012, 2014). Durch klare Empfehlungen konnte der Praxis Sicherheit gegeben werden, wann Wirkverluste bei einer Tankmischung zu erwarten sind und welche Präparate mischbar sind. Dies war von großer

Bedeutung für das Virulenzmanagement, da unbeabsichtigte Bekämpfungslücken durch Anwendung von inaktivierten Viren ein hohes Risiko für den Aufbau einer erneuten Resistenz darstellen. Mit der Entwicklung neuer Kupferersatzstoffe (Pelargonsäure, Süssholzextrakt, Lärchenextrakt) stellt sich die Frage nach deren Mischbarkeit mit dem CpGV, auch im Hinblick auf die Akzeptanz dieser Bausteine zur Reduktion von Kupferpräparaten im ökologischen Apfelanbau. Aus der Praxis gibt es zudem erste Hinweise, dass die Anwendung von Schwefelkalkbrühe zur Schorfbekämpfung möglicherweise eine Wirkungsminderung des CpGV zur Folge haben kann. Diese Beobachtung sollte in einem Freilandexperiment geprüft werden, um negative Auswirkungen auf die Kupferminimierungsstrategie zu vermeiden.

In der Zwischenzeit wurde im Öko-Anbau an weiteren Bausteinen zur Regulierung des Apfelwicklers gearbeitet. Während sich der Einsatz von entomopathogenen Nematoden zur Reduktion größerer AW-Populationen in der Praxis etabliert hat, konnte der Einsatz von *Trichogramma* nicht zur vollkommenen Praxistauglichkeit weiterentwickelt werden (Kienzle et al., 2014). Im Rahmen der Versuchsarbeiten zum Einsatz von Nematoden zeigte sich auch, dass das Angebot von Winterverstecken im Unterstützungsmaterial eine wesentliche Rolle spielt. Tonkinstäbe und Weichholzpfähle bieten hier optimale Überwinterungsmöglichkeiten für den AW, so dass sich eine AW-Population sehr schnell aufbauen kann. Teil der derzeitigen Bausteinstrategie im Ökologischen Apfelanbau ist es daher auch, bei Altanlagen die Tonkinstäbe zu entfernen und bei Neuanlagen auf anderes Unterstützungsmaterial zu setzen. Basisstrategie ist die Anwendung von CpGV zum Niedrighalten der Population in Verbindung mit der Verwirrungsmethode. Steigt die Population an, werden entomopathogene Nematoden eingesetzt und befallene Früchte im Sommer abgesammelt, um die Population wieder zu reduzieren. Diese Strategie hat sich in vielen Betrieben bewährt.

Vor dem Hintergrund, dass das Niedrighalten der Population nicht immer überall erfolgreich ist, sind weitere Strategie-Bausteine notwendig, die bei hohen Populationsdichten den Befallsdruck auf ein verträgliches Niveau zurückführen können. In südlichen Ländern werden hierzu bereits flächendeckend Netze zur Regulierung des Apfelwicklers eingesetzt. Die Einzelreihen-Einnetzung ist nach bisherigen Ergebnissen auch bei hohem Befall erfolgreich. Für die Problembetriebe sollte es ein Verfahren sein, das sowohl bei bestehendem Hagelnetz als auch noch nicht abgedeckten Anlagen angewendet werden kann und von den Kosten her akzeptabel ist. Am ehesten kommt dabei das System „Keep in Touch®“ ([www.keepintouch.eu](http://www.keepintouch.eu)) in Frage. Bevor dieses System aber als „Notlösung“ empfohlen werden kann, waren viele offene Fragen zur Praktikabilität im Ökologischen Anbau (Möglichkeit der Bodenbearbeitung, Umständlichkeit bei verschiedenen Handarbeiten, Förderung von Blutläusen, etc.) zu klären. Darüber hinaus ist es im Vorfeld einer Praxiseinführung zwingend erforderlich, mögliche negative Einflüsse einer Abdeckung auf physiologische Wachstums- sowie Ertrags- und Qualitätsparameter zu eruieren. In diesen Bereichen kann aufgrund der klimatischen Unterschiede nicht auf die Erfahrungen aus anderen Anbauregionen zurückgegriffen werden. Um diese Fragen zu klären, sollte eine erste Anlage in einer Versuchsstation errichtet werden.

Für einen langfristigen Erhalt des CpGV zur Regulation des Apfelwicklers im Öko-Anbau ist eine Kombination von Resistenzmanagement (Bausteinstrategie, Wirkstoff-Wechsel, Applikationsstrategien) und Virulenzmanagement (Selektion von potenten CpGV-Isolaten in resistenten Apfelwickler Linien) notwendig. Aufgrund der Identifizierung eines zweiten Resistenztyps und den Erkenntnissen zum Resistenzmechanismus ergibt sich die Notwendigkeit, die Dynamik der Resistenzentwicklung gegenüber verschiedenen CpGV-Isolaten zu bestimmen, um so geeignete Resistenzmanagementstrategien zu entwickeln. Aufgrund der begrenzten genetischen Ressourcen verfügbarer CpGV-Isolate, müssen angepasste Strategien entwickelt werden, um eine Entstehung und Verbreitung der CpGV-Resistenz zu beschränken.

### **3 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse**

#### **3.1 AP 1: Untersuchung der Resistenz in den Anlagen mit einer Teilwirkung des neuen CpGV ABC V15 (Madex® TOP) bzw. ABC V14 und Selektion neuer Isolate**

Hierzu waren ein Monitoring und Untersuchungen zu Resistenzmechanismen von AW-Populationen aus Öko-Anlagen vorgesehen, bei denen 2015 erstmals das bisher potenteste, resistenzbrechende CpGV-Isolat ABC V15 nur eine Teilwirkung zeigte. Diese Arbeiten umfassten die Inzuchtnahme der jeweiligen AW-Populationen, Einzelpaarkreuzung oder Massenkreuzung unter Selektionsdruck und die Etablierung genetisch homogener Linien im Labor. Auf der Basis dieser Populationen/Linien sollte durch Selektion von CpGV-Isolaten die Virulenz erhöht werden (Virulenzmanagement). Neue Isolate sollten dann im Labor und im Freiland getestet werden. Ziel war es, die Wirksamkeit von CpGV-Produkten langfristig zu sichern.

##### **3.1.1 Inzuchtnahme von AW-Populationen aus Problemanlagen**

In den Jahren 2016 bis 2019 wurden in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern in Problemanlagen (BW HI, BW-HU und BW-DE) nach Einsatz des Versuchspräparates ABC V15 bzw. Produktes Madex® TOP Diapauselarven gesammelt. Bei der Überwinterung kam es jedoch wiederholt zu einer hohen Wintermortalität der Tiere und es zeigten sich Fertilitätsprobleme, so dass keine Zuchten aufgebaut werden konnten.

Nachdem sich im Rahmen des Resistenzmonitorings in einer Anlage (BW-HI) in Süddeutschland, in der bereits das Präparat ABC V14 seit 2017 zum Einsatz kam, Probleme zeigten, wurden 2020 erneut Diapausetiere gesammelt und überwintert. Im Frühjahr 2021 fand zwar eine Entwicklung bis zum Falterstadium statt, die Nachkommen gingen sogleich wieder in ein Diapausestadium über und wurden anschließend für vier Monate bei Dunkelheit und 4 °C gelagert. Ende November entwickelten sich die Tiere unter Langtagbedingungen (16 h hell/8 h dunkel) und bei 26 °C erneut bis zum Falter und es folgte eine Eiablage. Wie bereits in der Generation zuvor, entwickelten sich die Nachkommen nur bis zum letzten Larvenstadium und gingen erneut in Diapause. Die Etablierung einer Dauerzucht dieses AW-Freilandstammes war somit wiederholt fehlgeschlagen und die Untersuchungen zum Resistenzmechanismus konnten nicht wie geplant durchgeführt werden.

##### **3.1.2 Testung neu selektierter CpGV-Isolate**

Im Jahr 2018 wurde die Wirksamkeit eines neuen, von Andermatt Biocontrol AG selektierten CpGV-Isolates (Versuchspräparat ABC V45) an verschiedenen AW-Laborstämmen untersucht. Die Bioassays wurden nach der Methode von Asser-Kaiser et al. (2010) mit diskriminierender CpGV-Konzentration ( $5,8 \times 10^4$  OB/ml Medium) durchgeführt, wobei sowohl L1-Larven des sensiblen Laborstammes CpS als auch der homogen resistenten Laborstämme CpRR1 (Resistenztyp I), CpR5M (Resistenztyp II) und CpRGO (Resistenztyp III) eingesetzt wurden. Die Wirksamkeit des CpGV-Isolates wurde anhand der Mortalität der Versuchstiere nach 7- und 14-tägiger Inkubation bestimmt. Die Ergebnisse der Schnelltests sind in Abbildung 1 dargestellt.

Das neu selektierte CpGV-Isolat ABC V45 zeigte eine gute Wirksamkeit gegenüber allen getesteten AW-Stämmen. Die Empfindlichkeit der resistenten Stämme, die sich im Resistenztyp unterscheiden, war vergleichbar mit der des sensiblen Laborstammes CpS. Im Labor zeigte das neue CpGV-Isolat eine gute Wirksamkeit gegenüber den getesteten resistenten AW-Stämmen, wobei es gegenüber dem selektierten Stamm CpR5M (Resistenztyp II) geringfügig schwächer wirkte.

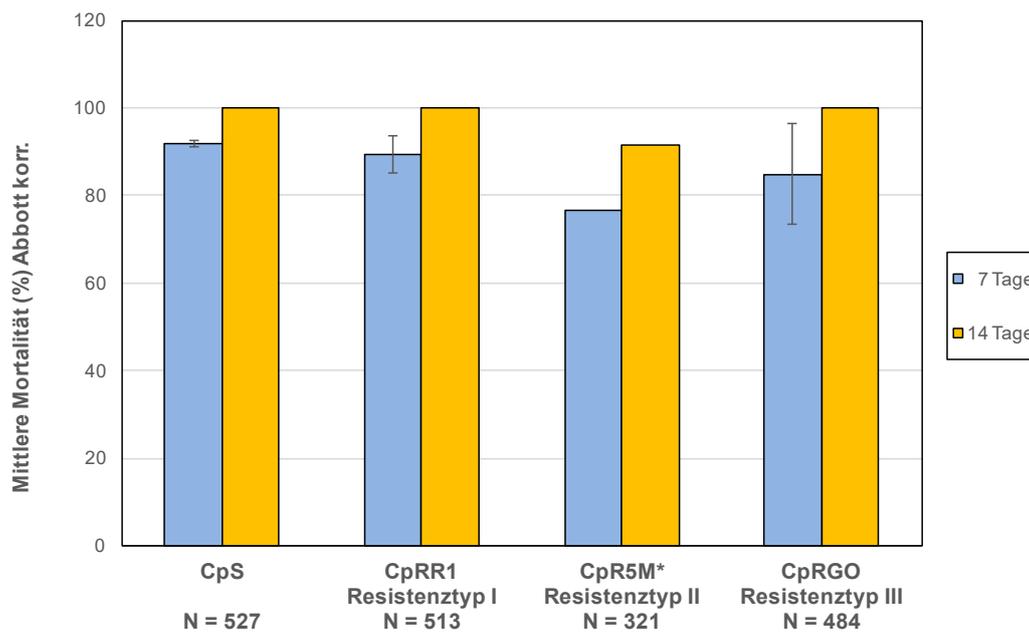


Abbildung 1: Ergebnisse der Schnelltests mit dem neu selektierten CpGV-Isolat ABC V45 (diskriminierende Konzentration  $5,8 \times 10^4$  OB/ml Medium) und verschiedenen AW-Stämmen. CpS bezeichnet den sensiblen Laborstamm und CpRR1, CpR5M und CpRGO die homogen resistenten Laborstämme des Resistenztyps I, II bzw. III. Die mittleren nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitätswerte (%) wurden in drei unabhängigen Wiederholungen bzw. bei CpR5M\* nur zwei Wiederholungen nach 7 und 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag (16/8 h hell/dunkel) ermittelt. N gibt die Anzahl Tiere im Versuch an, die senkrechten Linien symbolisieren die jeweilige Standardabweichung.

### 3.2 AP 2: Monitoring der Entwicklung in den mit Madex® MAX behandelten Praxisanlagen sowie des Befalls und Resistenzstatus in den Langzeitversuchen mit dem neuen CpGV-Versuchspräparat ABC V14

In Rahmen der Langzeitversuche wurde die Befallsentwicklung in den mit Madex® MAX behandelten Anlagen in den jeweiligen Regionen intensiv beobachtet. Unter besonderer Beobachtung standen die Anlagen mit bereits nachgewiesener Typ II-Resistenz, gegenüber CpGV-S (Genomgruppe E), die zunächst auf das neue Isolat ABC V15 (Produkt Madex® TOP) und ab 2017 auf das Versuchspräparat ABC V14 mit dem Isolat CpGV-E2 (Genomgruppe B) umgestellt wurden.

Bei Auftreten von aktivem Befall wurden in betroffenen Anlagen mit Larven befallene Äpfel für die Durchführung von Resistenzschnelltests im Labor nach der Methode von Schulze-Bopp und Jehle (2013) gesammelt. Mit dieser Methode können innerhalb einer Vegetationsperiode Aussagen über den Resistenzstatus der getesteten Anlagen getroffen werden. Bei Nachweis einer Resistenz (Typ II) gegenüber dem CpGV der Genomgruppe E wurden die Betriebe in den Langzeitversuch mit ABC V14 aufgenommen.

### 3.2.1 Monitoring von Anlagen, die mit Madex® MAX behandelt wurden

#### 3.2.1.1 Testung auf Resistenz im Labor

Im Projektzeitraum zwischen 2017 und 2021 wurden im Rahmen des Befallsmonitorings in den Regionen Süd, Ost, West und Nord insgesamt 30 auffällige Anlage mit unzulänglichem Regulierungserfolg nach Einsatz von Madex® Max identifiziert und ihr Resistenzstatus im Labor unter Verwendung des Reinisolates CpGV-S bestimmt (Tabelle 2). Für drei Anlagen, BW-SK-18, BW-RH-19 und SA-SG-19, konnte in den Schnelltests keine Resistenz nachgewiesen werden. In allen übrigen Anlagen zeigte sich dagegen bereits eine Resistenzbildung in unterschiedlich starker Ausprägung. Bei sechs der untersuchten Anlagen lagen die Mortalitätswerte der gesammelten AW-Larven noch über 90 %, was bereits als Hinweis für eine beginnende Resistenz gegenüber Madex® MAX bzw. dem Isolat CpGV-S der Genomgruppe E hinweist. Eine bereits ausgeprägte Resistenz zeigte sich in 11 Anlagen, mit ermittelten Mortalitätswerten < 50 %. Bei einer AW-Population (HE-WI) aus der Region West deutete 2017 eine Mortalität von 94,2 % im Labor bereits auf eine beginnende Resistenzbildung hin, was sich in den Resistenztests 2018 dann nochmals bestätigte mit einer Mortalität von noch 72,4 %. In drei Anlagen (HE-WI-17, BW-BO-18 und NS-HH-20), die eine Typ II-Resistenz zeigten, wurde bereits zwischen 2005 und 2006 eine Typ I-Resistenz gegenüber einem CpGV der Genomgruppe A (CpGV-M) nachgewiesen.

Die Ergebnisse des Resistenzmonitorings nach Einsatz von Madex® MAX zeigten eine weitere Zunahme von Anlagen, in denen eine Typ II-Resistenz des Apfelwicklers gegenüber dem CpGV-Isolat der Genomgruppe E auftritt. Die meisten Anlagen wurden in Norddeutschland identifiziert. Im Projektzeitraum zwischen 2017 und 2019 kamen 17 Anlagen hinzu und in den Jahren 2020 und 2021 nochmals 9 Anlagen. Damit wurden seit 2008 in 42 Anlagen AW-Populationen mit einer Typ II-Resistenz gegenüber Präparaten mit dem wirksamen Isolat CpGV-S (Madex® MAX bzw. Carpovirusine Evo2) identifiziert. In acht dieser Anlagen wurde bereits in früheren Jahren zwischen 2004 und 2009 eine Resistenz des Typs I gegenüber dem Isolat CpGV-M (Genomgruppe A) nachgewiesen. Aktuell liegt die Gesamtzahl der AW-Populationen mit bestätigter Typ I- und Typ II-Resistenz bei 64 (Tabelle 3).

Tabelle 2: Ergebnisse der Resistenzschnelltests von 2017 bis 2021 mit AW-Larven aus auffälligen Anlagen des Langzeitversuchs mit Madex® MAX, getestet mit dem Reinisolat CpGV-S (Genomgruppe E). Angegeben sind jeweils die Mortalitätswerte (%), ermittelt für eine diskriminierende Viruskonzentration von  $2 \times 10^5$  OB/ml Medium mit L2-L4 und nach 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag. Die Mortalität der jeweiligen Kontrolltiere (UB Kontrolle), die auf virusfreies Medium aufgesetzt wurden, gibt Hinweise auf die Wirksamkeit des in den Anlagen applizierten Präparates. N entspricht der Anzahl getesteter Tiere. + bedeutet Resistenz nachgewiesen und – keine Resistenz. Mit \*) markiert sind Schnelltests mit wenigen Versuchstieren.

Jahr	Region Süd und Ost				Region West				Region Nord			
	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz
2017					<b>HE-WI-17</b> Virus	69	94,2	+	<b>NS-MO-17</b> Virus	41	97,6	+
					UB Kontrolle	50	84,0		<b>UB Kontrolle</b>	19	84,2	
					<b>NRW-AL-17</b> Virus	45	55,7	+	<b>SH-SO-17</b> Virus	57	8,8	+
					UB Kontrolle	37	38,6		<b>UB Kontrolle</b>	61	21,3	
2018	<b>BW-BO-18</b> Virus	26	84,6	+	<b>HE-WI-18</b> Virus	76	72,4	+	<b>HH-NF-18</b> Virus	53	69,8	+
	UB Kontrolle	21	81,0		<b>UB Kontrolle</b>	45	46,7		<b>UB Kontrolle</b>	57	57,9	
	<b>BW-NE-18</b> Virus	40	33,3	+				<b>NS-MK-18</b> Virus	51	27,5	+	
	UB Kontrolle	65	13,8		<b>UB Kontrolle</b>			<b>UB Kontrolle</b>	42	16,7		
	<b>BW-SK-18</b> Virus	35	100	–				<b>NS-MOC-18</b> Virus	57	86,0	+	
	UB Kontrolle	22	100		<b>UB Kontrolle</b>			<b>UB Kontrolle</b>	32	75,0		
								<b>NS-MOR-18</b> Virus	49	28,6	+	
								<b>UB Kontrolle</b>	50	26,0		
								<b>NS-WI-18</b> Virus	36	19,4	+	
								<b>UB Kontrolle</b>	57	35,1		
2019	<b>BW-RH-19</b> Virus	29	100	–	<b>RP-MZ-19</b> Virus	78	37,2	+	<b>NS-BX-19</b> Virus	31	41,9	+
	UB Kontrolle	17	100		<b>UB Kontrolle</b>	137	21,7		<b>UB Kontrolle</b>	15	26,7	
	<b>BW-TT-19</b> Virus	43	44,2	+				<b>NS-KH-19</b> Virus	37	54,1	+	
	UB Kontrolle	46	39,1		<b>UB Kontrolle</b>			<b>UB Kontrolle</b>	32	31,3		
	<b>SA-MUZ-19</b> Virus	25	76,0	+								
	UB Kontrolle	32	71,9		<b>UB Kontrolle</b>							
<b>SA-SG-19</b> Virus	37	100	–									
UB Kontrolle	62	78,9		<b>UB Kontrolle</b>								
2020	<b>BB-FO-20</b> Virus	48	22,9	+	<b>RP-WA-20</b> Virus	89	69,7	+	<b>NS-GU-20</b> Virus	63	52,4	+
	UB Kontrolle	26	26,9		<b>UB Kontrolle</b>	97	49,5		<b>UB Kontrolle</b>	55	18,2	
	<b>BW-BR2-20</b> Virus	67	43,3	+	<b>SL-MH-20</b> Virus	6	16,7	+ *)	<b>NS-HH-20</b> Virus	31	87,1	+
	UB Kontrolle	62	27,4		<b>UB Kontrolle</b>	12	8,3		<b>UB Kontrolle</b>	28	82,1	
	<b>BW-DI-20</b> Virus	55	90,9	+								
	UB Kontrolle	53	7,9		<b>UB Kontrolle</b>							
2021	<b>BW-AI-21</b> Virus	61	96,7	+								
	UB Kontrolle	49	49,0		<b>UB Kontrolle</b>							
	<b>BW-LH-21</b> Virus	62	95,2	+								
	UB Kontrolle	66	21,1		<b>UB Kontrolle</b>							
	<b>BW-UE-21</b> Virus	28	96,4	+								
	UB Kontrolle	17	11,8		<b>UB Kontrolle</b>							

Tabelle 3: Übersicht des Resistenzmonitorings in Deutschland in den Jahren von 2004 - 2021. Der Nachweis der Resistenz erfolgte von 2004 – 2009 mittels LC50-Bestimmung mit L1-Larven nach Diapause im Labor und von 2010-2021 nach einer Schnelltest-Methode mit einer diskriminierenden Viruskonzentration ( $2 \times 10^5$  OB/ml) und L2 - L4-Larven aus Äpfeln. Auswertungszeitpunkt war jeweils nach 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag.

Jahr	Resistenz-Nachweis gegenüber		Total
	Genomgruppe A	Genomgruppe E	
2004 - 2009	22	2	24
2010 - 2016	-	14	14
2017 - 2019	-	17	17
2020 - 2021	-	9	9
2004 - 2021	22	42	64

### 3.2.2 Monitoring von Anlagen, die mit ABC V14 behandelt wurden

Alle Anlagen, die aufgrund von Resistenzen gegenüber CpGV-S mit dem Präparat ABC V14 behandelt wurden, wurden einem intensiven Monitoring unterzogen, um die Wirkung von ABC V14 zu verfolgen und eine etwaige erneute Resistenzbildung frühzeitig zu erkennen.

#### 3.2.2.1 Material und Methoden

In jedem Betrieb wurden zweimal jährlich 1000 zufällig ausgewählte Früchte auf Apfelwicklerbefall kontrolliert. Die Kontrolle erfolgte einmal Anfang Juli, um den Befallsdruck für die zweite Generation einzuschätzen und einmal vor der Ernte, um den Schaden und den Befallsdruck für das Folgejahr zu protokollieren. Im Norden, wo nicht immer zwei Generationen ausgebildet wurden, wurde dies entsprechend angepasst. Die befallenen Früchte wurden aufgeschnitten und genau untersucht. War ein Fraßgang vorhanden aber keine Larve und waren die Kerne nicht angefressen, wurde der Befall als „abgestoppt“ gewertet.

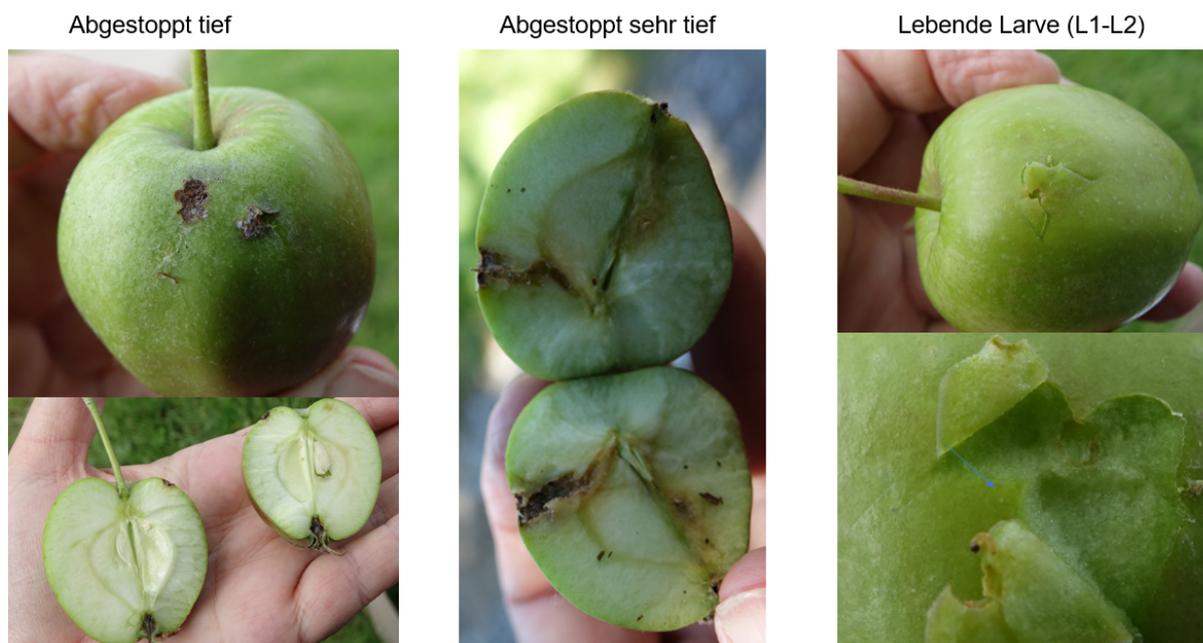


Abbildung 2: Tief und sehr tief abgestoppter Befall und lebende junge Larve mit aufgeschnittener Frucht

Um einschätzen zu können, ob die Larven ggf. erst relativ spät abgestorben waren, wurde der abgestoppte Befall noch in tief abgestoppten Befall (max. ca. 0,5 cm Fraßgang) und sehr tief abgestoppten Befall (max. bis zum Kernhaus, Kerne nicht angefressen) eingeteilt (Abbildung 2).

Wurde eine lebende Larve gefunden oder war noch sehr frischer Kot vorhanden, wurde der Befall als „lebende Larve“ eingestuft. Für zusätzliche Informationen zum Befallsverlauf und um ggf. auftretende Probleme besser einschätzen zu können, wurde das Larvenstadium visuell geschätzt. War keine Larve vorhanden, die Kerne aber angefressen, wurde vermerkt, dass die Larve wohl bereits die Frucht verlassen hatte. Auch dieser Befall wurde als Befall mit lebender Larve eingestuft.



Abbildung 3: Wellpappering am Stamm

Bei der Bonitur wurden sowohl die Größe der Larve und der Kopfkapsel als auch der Verlauf der Fraßspuren berücksichtigt. Wenn aktiver Befall in weitgehend einem Larvenstadium gefunden wurde, konnte dies ein Hinweis auf eine nicht optimal terminierte Spritzung und nicht unbedingt auf eine Resistenzentwicklung sein.

Zusätzlich zur Fruchtbonitur wurden in den Betrieben noch je nach Befallsintensität 25-40 Wellpapperringe angebracht, um die Anzahl der Diapauselarven und damit den Befallsdruck für das Folgejahr zu überprüfen. Dabei wurde die Wellpappe noch zusätzlich mit Klebeband umwickelt, um Vogelfraß zu verhindern (Abbildung 3). Die Wellpapperringe wurden im Herbst abgenommen. Die Ergebnisse entsprachen weitgehend dem aktiven Befall der Fruchtbonitur und sind daher hier nicht gesondert dargestellt.

### 3.2.2.2 *Monitoring der Anlagen in der Region Nord*

Die Arbeiten wurden durch den ÖON e.V. durchgeführt. Im Norden kamen im Projektverlauf sehr viele Anlagen mit Resistenzproblemen dazu. Teilweise war dies auch darauf zurückzuführen, dass diese Region traditionell nicht sehr stark mit Apfelwicklerproblemen zu kämpfen hat. Durch den Klimawandel ändert sich das zunehmend. Die Regulierungsstrategie auf den Betrieben hat sich dieser Situation noch nicht überall angepasst. In vielen Betrieben wurde der Einsatz der Verwirrungsmethode nicht praktiziert als es zur Resistenzbildung kam.

#### 3.2.2.2.1 *Befallsverlauf des Apfelwicklers in der Region Nord*

Die folgenden Abbildungen geben den Befallsverlauf des Apfelwicklers am Standort Jork der Jahre 2017 bis 2021 wieder. Im Jahr 2017 gab es, wie auch in den Jahren davor, in Norddeutschland nur eine Generation des Apfelwicklers mit einem ungewöhnlich frühen Ende der Eiablage (Ende Juli). In 2018 gab es dann erstmals wieder eine 2. Generation des Apfelwicklers, begünstigt durch das für Norddeutschland außergewöhnlich warme Jahr. Sowohl im Versuchsjahr 2019 als auch in 2020 gab es in einigen Teilen Norddeutschlands eine partielle 2. Generation. In 2021 gab es aufgrund der kühlen Witterung wieder nur eine Generation des Apfelwicklers (Abbildung 4).

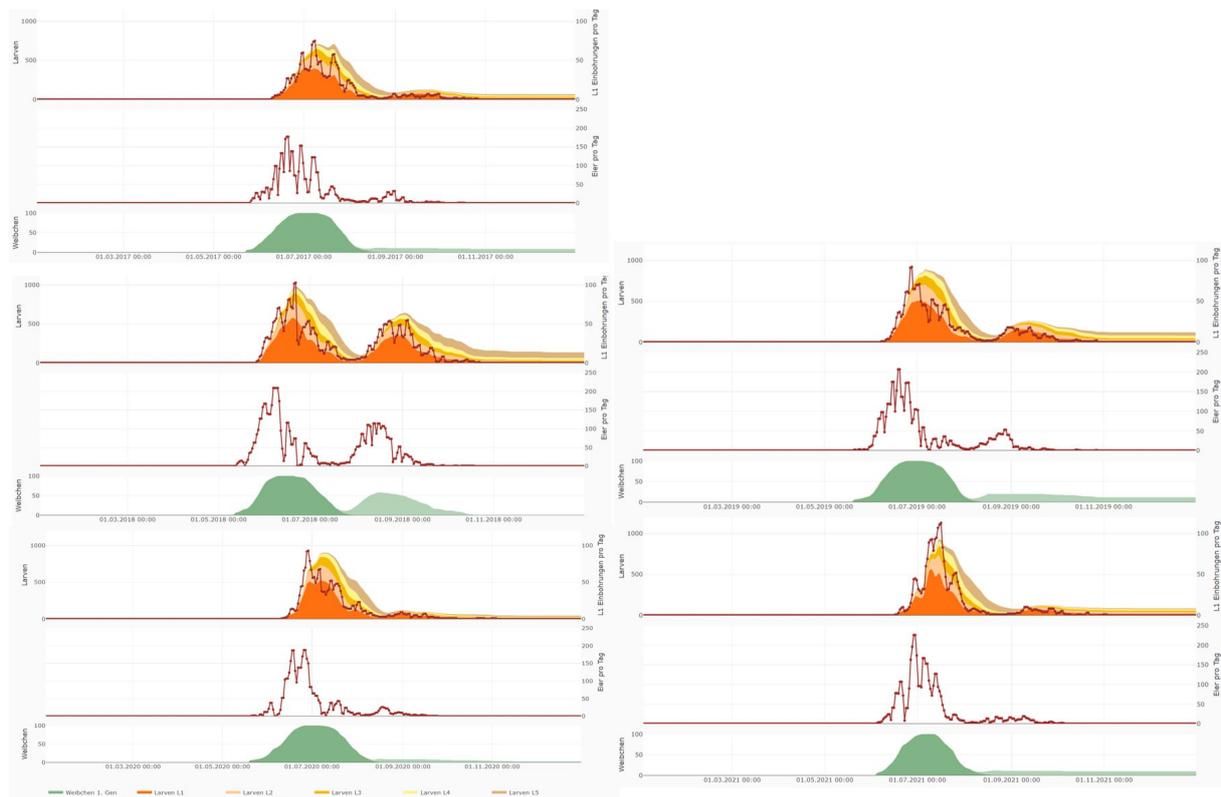


Abbildung 4: Befallsentwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2017 (oben links), 2018 (Mitte links), 2019 (Mitte rechts), 2020 (unten links) und 2021 (unten rechts). Darstellung anhand des in fruitweb.info verfügbaren Modells für eine Station im Alten Land.

### 3.2.2.2 Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region Nord

Die Abbildungen 5-7 zeigen die Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben im Norden. In der Regel fanden auf den Betrieben, in denen ABC V14 eingesetzt wurden, jeweils zwei Bonituren statt (Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2)). Betriebe, in denen ein hoher Apfelwicklerbefall festgestellt worden war und die insbesondere auch einen hohen Anteil an lebenden Larven aufwiesen, wurden nach vom JKI festgestellter CpGV-S Resistenz, in das Apfelwicklermonitoring mit aufgenommen.

So ist der Apfelwicklerbefall zu Beginn des Monitorings in den entsprechenden Betrieb relativ hoch, mit erfolgreichem Einsatz von ABC V14, konnte der Befall in den folgenden Jahren in allen bonitierten Betrieben erfolgreich reduziert werden.

#### Anlage HH-MM

In diesem Betrieb HH-MM wurde in 2016 eine Resistenz gegenüber CpGV-S festgestellt, ab dem Jahr 2017 wurde daraufhin das Produkt ABC V14 eingesetzt, zusätzlich wurde diese Anlage verwirrt.

Der Befall konnte daraufhin in den Folgejahren deutlich reduziert werden, das ABC V14 und befindet sich auf einem sehr geringen Niveau (Abbildung 5).

#### Anlage NS-BS

Der Betrieb NS-BS wies in 2009 und 2010 einen starken Befall auf. Bereits im Jahr 2011 wurde eine Resistenz gegenüber CpGV-S festgestellt. Daraufhin erfolgt ab 2012 der Einsatz mit ABC V15, ab 2016 wurde auf ABC V14 umgestellt.

Seit dem Einsatz des ABC V14 konnte der Befall auf diesem Betrieb deutlich reduziert werden und ist seitdem unauffällig, auch diese Anlage wird verwirrt (Abbildung 5).

#### *Anlage NS-CR*

Der Betrieb NS-CR wies in 2010 einen starken Befall auf. Im Jahr 2011 wurde eine Resistenz gegen CpGV-S festgestellt, daraufhin erfolgte ab 2012 der Einsatz mit ABC V15, ab 2016 wurde auf ABC V14 umgestellt. Seit dem Einsatz des ABC V14 konnte der Befall auf diesem Betrieb in allen Jahren auf einem sehr geringen Niveau gehalten werden (Abbildung 5). Diese Anlage wird verwirrt.

#### *Anlage NS-GH*

Auf dem Betrieb NS-GH wurde in 2016 in den mit einem Präparat auf Basis von CpGV-S behandelten Anlagen ein verstärkter Apfelwicklerbefall mit einer hohen Anzahl an überlebenden Larven beobachtet. Daraufhin wurde im Betrieb im Jahr 2017, ein Großteil der Anlagen mit dem ABC V14 behandelt. Mit der Umstellung auf ABC V14 konnte der Befall in den folgenden Jahren, in Kombination mit der Verwirrung, deutlich reduziert werden (Abbildung 5).

#### *Anlage NS-HOD*

Auf dem Betrieb NS-HOD wurde in 2016 in den mit einem Präparat auf der Basis von CpGV-S behandelten Anlagen ein verstärkter Apfelwicklerbefall mit hoher Anzahl an überlebenden Larven beobachtet. Ein Resistenztest erfolgte aber nicht. Daraufhin wurde im Betrieb im Jahr 2017 ein Vergleichsversuch mit ABC V14 und Madex® MAX aufgebaut. Die Wirkung von ABC V14 war sehr gut, der Befall konnte in den Folgejahren deutlich reduziert und auf einem geringen Niveau gehalten werden (Abbildung 5).

#### *Anlage NS-HOH*

Der Betrieb NS-HOH wies im Jahr 2016 einen hohen Apfelwicklerbefall auf, daher wurden aus dem Betrieb NS-HOH in 2017 Apfelwicklerproben an das JKI Darmstadt zur Untersuchung geschickt. Ab 2017 erfolgte in der Anlage versuchsweise der Einsatz des Isolats ABC V14 im Vergleich zu einem CpGV-S-haltigen Präparat. Der Betrieb NS-HOH hat daraufhin ABC V14 in Anlagen mit besonders starkem Vorjahresbefall eingesetzt, die weniger stark befallenen Anlagen wurden weiterhin mit CpGV-S behandelt.

Das eingesetzte ABC V14 zeigte eine gute Wirkung (Abbildung 5), so dass der Befall sehr gut reduziert werden konnte. Zusätzlich wird in dieser Anlage verwirrt.

#### *Anlage NS-JO*

Der Betrieb NS-JO zeigte im Jahr 2013 eine CpGV-S-Resistenz. Daraufhin wurde dieser Betrieb ab 2014 auf ABC V15 beziehungsweise ab 2016 auf ABC V14 umgestellt.

Seit der Umstellung auf ABC V14 in Kombination mit der Verwirrung, ist der Befall auf einem sehr geringen Niveau (Abbildung 5).

#### *Anlage NS-KH*

Der Betrieb NS-KH zeigte im Jahr 2019 einen erhöhten Apfelwicklerbefall mit einem vermehrten Anteil nicht abgestoppter Larven (Madex® MAX). Daraufhin wurden befallene Früchte eingesammelt und ans JKI geschickt. Im Jahr 2019 wurden Resistenzen gegenüber CpGV-S festgestellt, in dieser Anlage wurde daraufhin im Vegetationsjahr 2020 ABC V14 eingesetzt. Der Befall konnte durch den Einsatz von ABC V14 deutlich reduziert werden (Abbildung 5). Die Anlage wird zusätzlich verwirrt.

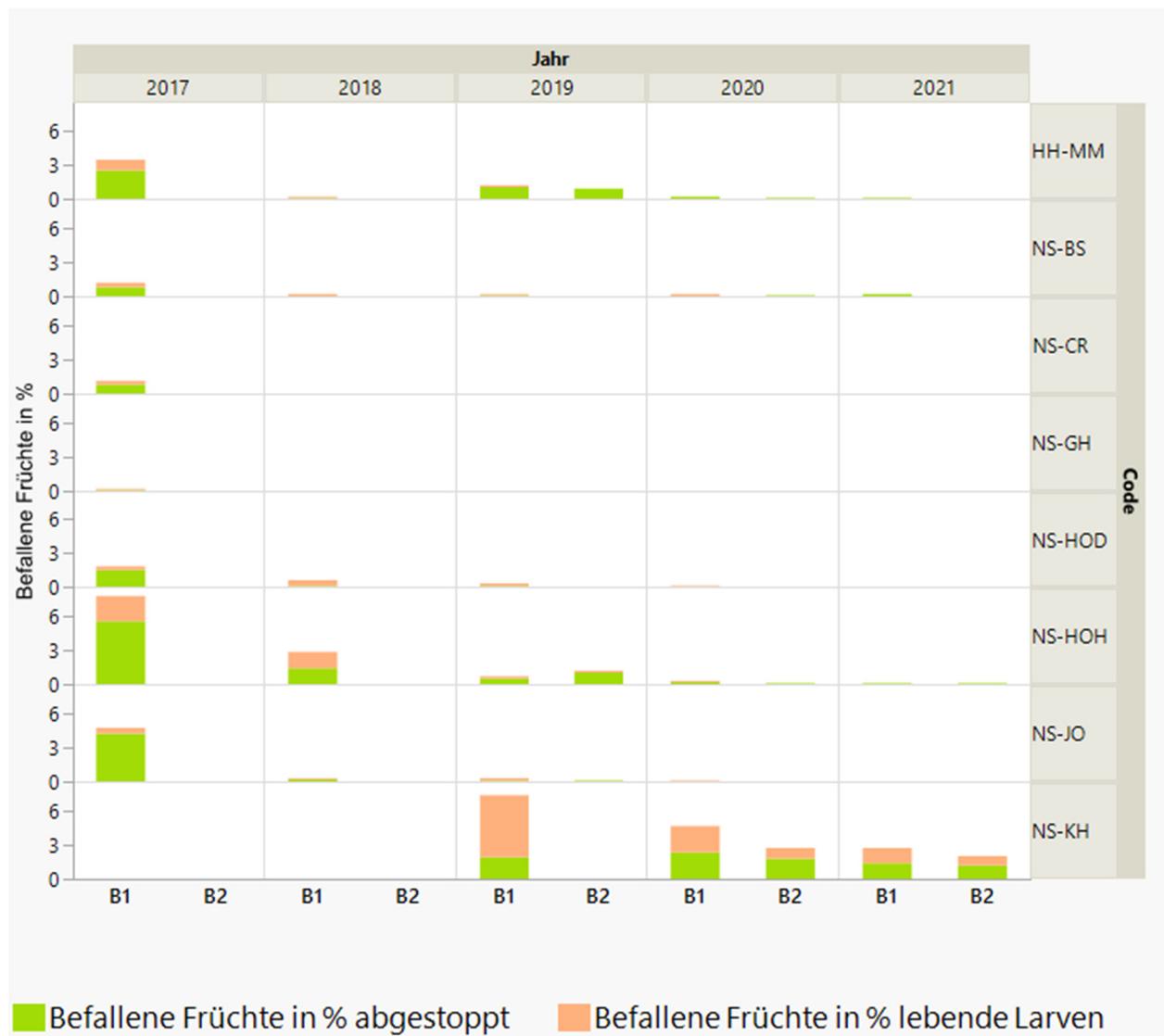


Abbildung 5: Abgestoppter und aktiver Befall in den Anlagen in der Region Nord in den Jahren 2017 bis 2021 an den Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2) in den mit ABC V14 behandelten Anlagen.

#### Anlage NS- NF

Der Betrieb NS-NF zeigte im Jahr 2018 einen auffällig hohen Befall, aufgrund einer vermuteten Minderwirkung wurden Früchte zur Beprobung an das JKI Darmstadt geschickt. Am JKI wurde eine Resistenz gegenüber CpGV-S festgestellt, daraufhin wurde in dieser Anlage ab der 2. Generation 2018 ABC V14 eingesetzt. Der zu Beginn hohe Ausgangsbefall, konnte durch den Einsatz von ABC V14 in den folgenden Jahren erfolgreich reduziert werden (Abbildung 6).

#### Anlage NS-JOG

Der Betrieb NS-JOG zeigte bereits im Jahr 2011 eine Resistenz gegenüber CpGV-S. Daraufhin wurde in dieser Anlage ab 2012 mit ABC V15 und ab 2016 mit ABC V14 behandelt. Seit der Umstellung auf ABC V14 in Kombination mit der Verwirrung, ist der Befall auf einem sehr geringen Niveau (Abbildung 6).

#### *Anlage NS-LJ*

Der Betrieb NS-LJ zeigte einen hohen Apfelwicklerbefall in 2016, daraufhin wurden Apfelwicklerproben an das JKI Darmstadt geschickt, die Resistenzen gegen CpGV-S feststellen konnten. Ab 2017 wurde auf diesem Betrieb ABC V14 eingesetzt.

In einer Anlage des Betriebes wurde trotz des Einsatzes von ABC V14 immer wieder ein höherer Befall festgestellt. Diese Anlage liegt direkt neben einer Erzeugerorganisation (Vertriebsgesellschaft/ Fruchtverarbeitung). Der hohe Befallsdruck ist wahrscheinlich auf die angrenzende Erzeugerorganisation zurückzuführen, da hier neben der Anlage aussortierte/ beschädigte Äpfel in Containern gelagert wurden. Die Wirkung von ABC V14 ist auch in diesem Betrieb sehr gut. (Abbildung 6)

#### *Anlage NS- MK*

Der Betrieb NS-MK zeigte Anfang Juli 2018 einen starken Apfelwicklerbefall. Im Jahr 2018 wurden Resistenzen gegen CpGV-S festgestellt, daraufhin konnte dieser Betrieb der 2. Generation 2018 ABC V14 einsetzen. Der zu Beginn hohe Apfelwicklerbefall konnte auf dem Betrieb durch den Einsatz von ABC V14 erfolgreich reduziert werden (Abbildung 6). Auf dem Betrieb wird zusätzlich verwirrt.

#### *Anlage NS- MOC*

Der Betrieb NS-MOC wurde im Jahr 2018, aufgrund der Resistenz gegenüber CpGV-S, ab der zweiten Generation auf ABC V14 umgestellt. Der zu Beginn hohe Ausgangsbefall auf dem Betrieb konnte mit ABC V14 sehr schnell reduziert werden, seit dem Einsatz von ABC V14 ist die Anlage unauffällig (Abbildung 6).

#### *Anlage NS- MOR*

In den letzten Jahren wurden seitens des Betriebsleiters ein vermehrter Anteil nicht abgestoppter Larven in der Anlage registriert, daraufhin wurden befallene Früchte mit Apfelwicklern gesammelt und ans JKI Darmstadt geschickt. Im Jahr 2018 wurden Resistenzen gegen CpGV-S festgestellt, in dieser Anlage erfolgte ab der 2. Generation 2018 der Einsatz ABC V14. Die zu Beginn sehr hohen Befallswerte, konnten durch den Einsatz von ABC V14 erfolgreich reduziert werden, seit dem Einsatz von ABC V14 ist die Anlage unauffällig (Abbildung 6).

#### *Anlage NS- WI*

Der Betrieb NS-WI zeigte im Jahr 2018 einen vermehrten Anteil nicht abgestoppter Larven. Im Jahr 2018 wurden Resistenzen gegen CpGV-S festgestellt. Daraufhin wurde in dieser Anlage im Vegetationsjahr 2018 zur zweiten Generation des Apfelwicklers ABC V14 eingesetzt werden. In Kombination mit der Verwirrung konnte der Befall in den folgenden Jahren stark reduziert werden (Abbildung 6).

#### *Anlage SAA-LP*

Der Betrieb SAA-LP zeigte immer wieder einen hohen Befall. In 2016 wurde erstmals ABC V14 in Kombination mit der Verwirrung eingesetzt, seither ist der Betrieb unauffällig (Abbildung 6).

#### *Anlage SH-SO*

Aufgrund des hohen Apfelwicklerbefalls in 2016 und 2017 wurden im Jahr 2017 Apfelwicklerproben an das JKI Darmstadt geschickt. Im Jahr 2017 wurden in der Anlage SH-SO Resistenzen gegen CpGV-S festgestellt, daraufhin wurde in dieser Anlage ab 2018 ABC V14 eingesetzt. ABC V14 zeigte auch hier eine sehr gute Wirkung, so dass in den folgenden Jahren der hohe Ausgangsbefall sehr gut reduziert werden konnte (Abbildung 6).

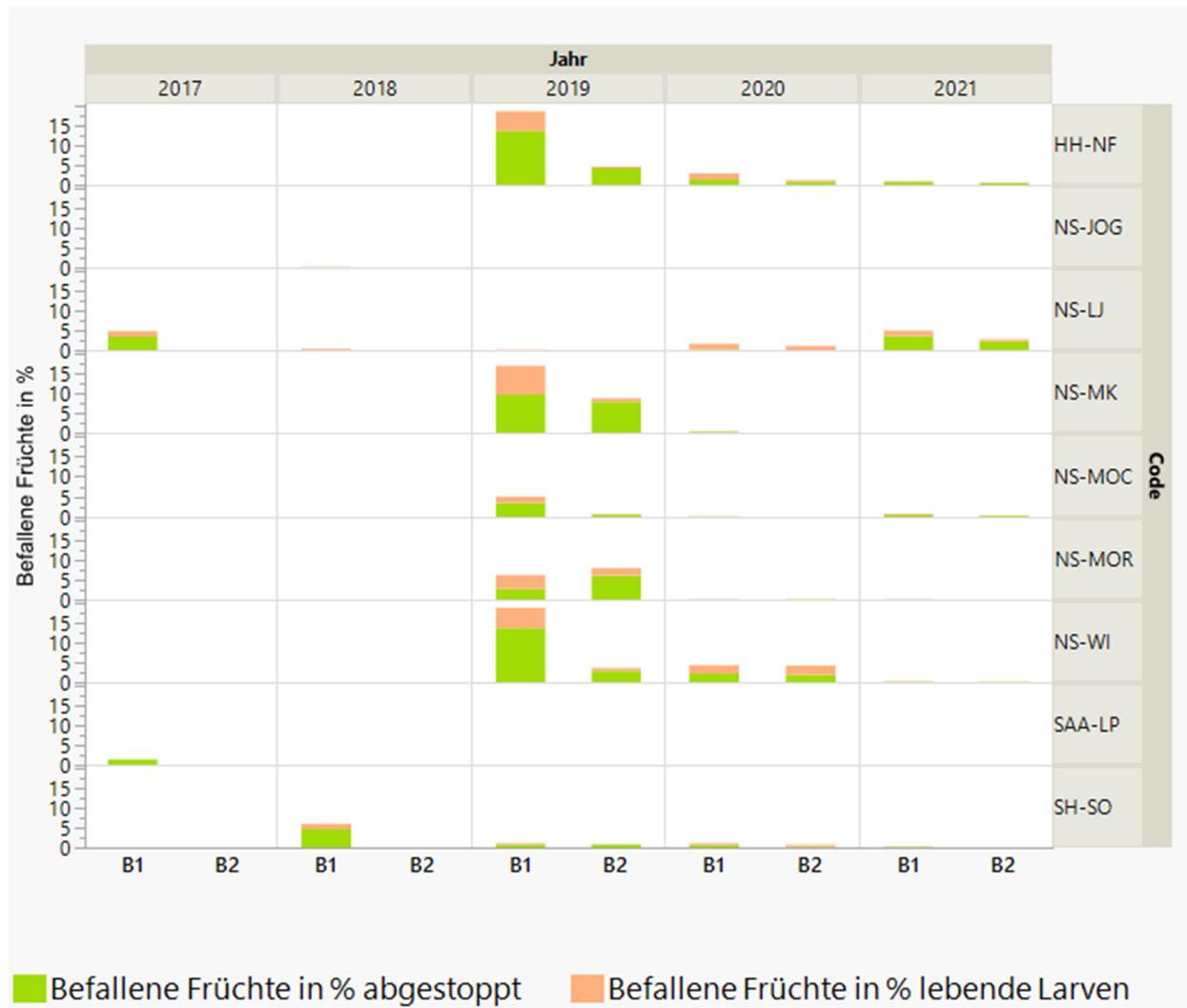


Abbildung 6: Abgestoppter und aktiver Befall in den Anlagen in der Region Nord in den Jahren 2017 bis 2021 an den Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2) in den mit ABC V14 behandelten Anlagen.

### NS-BUX

Der Betrieb NS-BUX zeigte in 2019 einen vermehrten Anteil nicht abgestoppter Larven. Bonituren an 1.000 zufällig ausgewählten Früchten Mitte Juli 2019 ergaben einen Fruchtbefall von 58,0 %, mit einem Anteil lebender Larven von 53,8 % und einem Anteil abgestoppter Larven von 46,2 %. Daraufhin wurden befallene Früchte eingesammelt und ans JKI geschickt, das eine Resistenz gegenüber CpGV-S feststellte. In dieser Anlage wurde zur zweiten Generation des Apfelwicklers im Vegetationsjahr 2019 bereits ABC V14 eingesetzt.

Im Jahr 2020 lag der Fruchtbefall bei 17,9 % zur 1. Bonitur mit einem Anteil abgestoppter Larven von 82,7 %, die 2. Bonitur erfolgte am 25. August, der Anteil abgestorbener Larven betrug zu diesem Zeitpunkt 95,1 %.

In 2021 konnte der Fruchtbefall durch den Einsatz von ABC V14 deutlich reduziert werden, zur ersten Fruchtbonitur wurde ein Befall von 6,3 % bonitiert, der Anteil abgestorbener Larven lag bei 92,1 %. Zur zweiten Fruchtbonitur lag der Fruchtbefall bei 4,2 % (Abbildung 7).

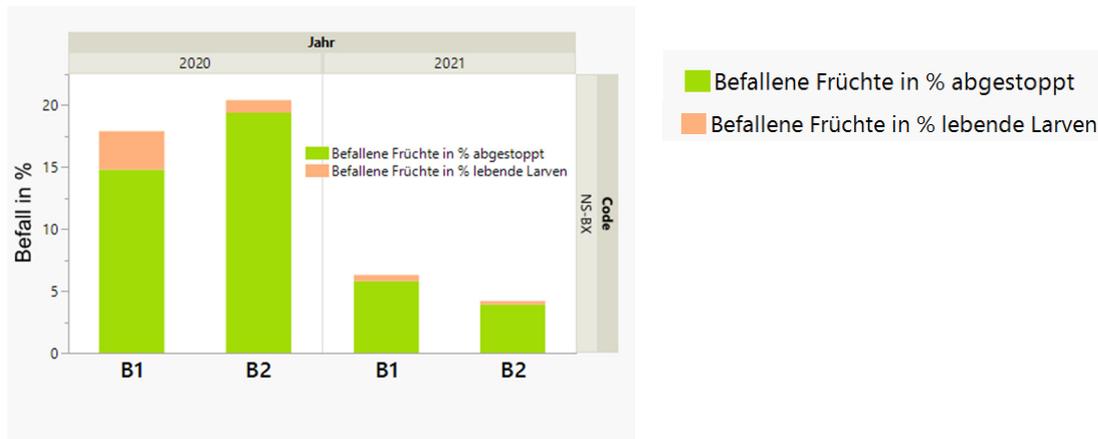


Abbildung 7: Abgestoppter (grün) und aktiver (orange) Befall in der Anlage NS-BUX in der Region Nord in den Jahren 2020 und 2021 an den Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2) in den mit ABC V14 behandelten Anlagen.

### 3.2.2.3 Monitoring der Anlagen in der Region West

Die Arbeiten wurden vom DLR Rheinpfalz durchgeführt.

#### 3.2.2.3.1 Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2017 bis 2021 in der Region West

In Abbildung 8 ist die Befallsentwicklung in den Jahren 2018 bis 2021 anhand des im Infodienst fruitweb (<https://app.fruitweb.info>) verfügbaren Modells dargestellt. Das Jahr 2018 war ein sehr warmes Jahr. Die erste Apfelwicklergeneration war hier stärker als die zweite. Im Jahr 2019 war die erste Generation noch stärker als im Vorjahr, dafür war auch hier die zweite Generation schwächer. Im Jahr 2020 war die erste Generation stärker als die zweite. Das Jahr 2021 zeigte eine deutlich schwächere zweite Generation. Von Mitte Mai bis in den Spätsommer waren Eiablagen zu beobachten und Apfelwicklerlarven zu finden. Es war wichtig die Behandlungsstrategie dementsprechend anzupassen.

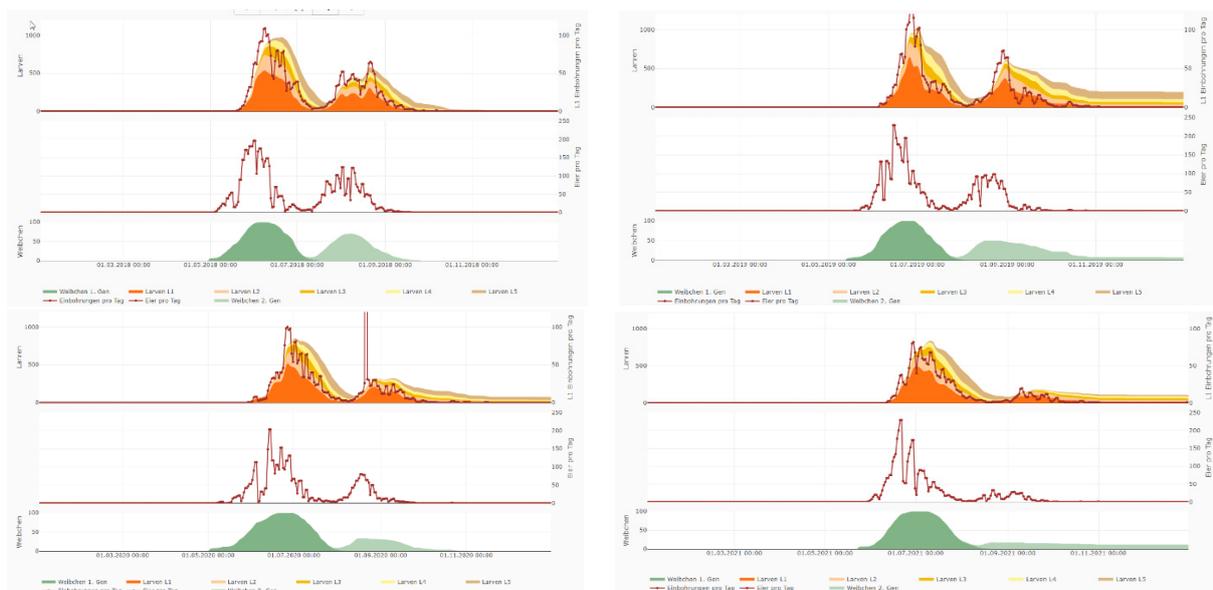


Abbildung 8: Befallsentwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2018 (oben links), 2019 (oben rechts), 2020 (unten links) und 2021 (unten rechts). Darstellung anhand des in fruitweb.info verfügbaren Modells für eine Station in der Region West.

### 3.2.2.3.2 Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region West

In der Region West wurde zwischen 2017 und 2021 auf mittlerweile fünf Betrieben (NRW-AL, NRW-WE, HE-WI, RP-FR und SL-SA) das Isolat ABC V14 eingesetzt. Abbildung 9 zeigt den Verlauf des Apfelwicklerbefalls von 2018 - 2021 von den fünf Betrieben in der Region West. Das Jahr 2017 konnte aufgrund von starken Spätfrost Ereignissen nicht ausgewertet werden. Im Folgenden wird der Apfelwicklerbefall der einzelnen Betriebe näher erläutert.

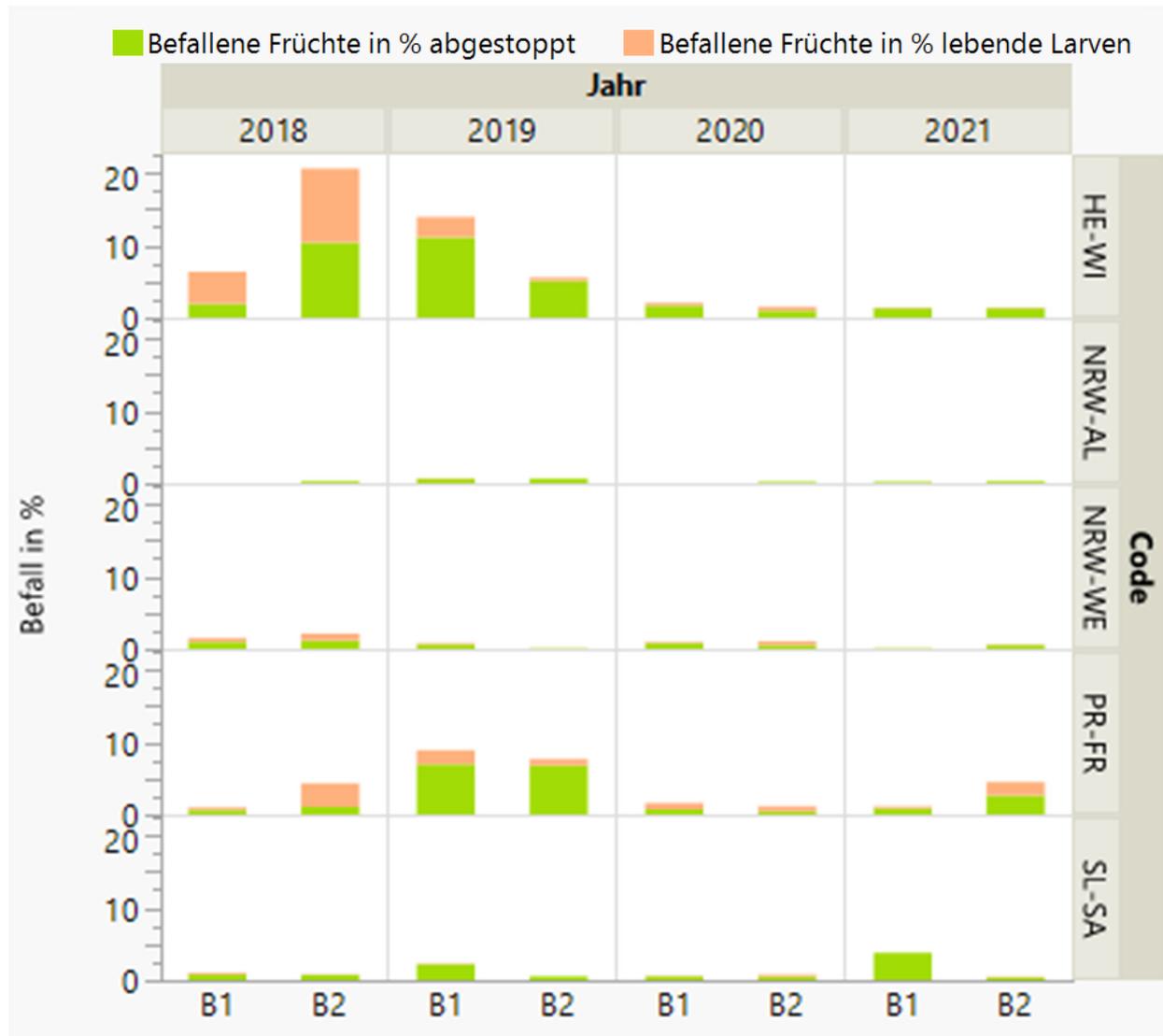


Abbildung 9: Abgestoppter und aktiver Befall in den fünf Anlagen in der Region West in den Jahren 2018 bis 2021 an den Bonituren im Frühsommer bei der 1. Generation (B1) und vor der Ernte bei der 2. Generation (B2) in den mit ABC V14 behandelten Anlagen.

#### Betrieb HE-WI

In der Apfelanlage der Betriebs HE-WI wurde ab dem Jahr 2017 bereits ein stärkerer Apfelwicklerbefall beobachtet. Bei der vom JKI durchgeführten Resistenzuntersuchung konnte gegenüber CpGV-S jedoch keine Resistenz nachgewiesen werden. Trotz einer Nematodenbehandlung im Herbst 2017 und einer regelmäßigen Behandlung mit voller Aufwandmenge mit Madex® MAX, wurde bei der Bonitur zum Zeitpunkt der zweiten Apfelwicklergeneration im Jahr 2018 erneut ein hoher Befall ermittelt. Bei der anschließenden Resistenzuntersuchung wurde ein Verdacht auf eine CpGV-S-Resistenz ermittelt. Ab 2019 wurden sämtliche Flächen des Betriebs erfolgreich mit dem Isolat ABC V14 behandelt.

Appliziert wurde ABC V14 mit der Düse Albus blau mit einem Druck von 10 bar, einer Wasseraufwandmenge von 700 l/ha und einer Fahrgeschwindigkeit von 6 km/h. Da in dieser Region ein trocknes, warmes Klima herrscht, wurde ab 2020 mit einer höheren Wasseraufwandmenge erreicht, dass auch die Zwischenräume bei dichtem Fruchtbehang ausreichend benetzt wurden und somit verhindert wurde, dass sich die Apfelwicklerlarven zwischen zwei zusammenhängenden Früchten einbohren. Die bonitierten Sorten waren 'Gala', 'Elstar', 'Boskoop', 'Jonagold' und 'Braeburn'. In den letzten Jahren konnte dieser Betrieb den Apfelwicklerbefall reduzieren und befindet sich auf einem guten Weg, den Schädling langfristig unter Kontrolle zu halten.

#### *Betrieb NRW-AL*

Im Jahr 2016 wurde in den Apfelanlagen des Betriebs NRW-AL ein hoher Befall an Apfelwicklern bei Einsatz von Madex® Max beobachtet, sodass der Verdacht auf eine vorhandene Resistenz bestand. Im Jahr 2017 diagnostizierte das JKI eine Resistenz gegenüber CpGV-S. Seit 2018 setzt der Betrieb mit Erfolg ABC V14 ein. Ab dem Jahr 2018 wurde konsequent und regelmäßig ABC V14 in dem Betrieb eingesetzt und zusätzlich mit RAK® 3 ganzflächig verwirrt. Der Befall war zu einem sehr hohen Prozentsatz abgestoppt.

#### *Betrieb NRW-WE*

Auf den Flächen des Betriebs NRW-WE wurde ab 2017 das Isolat ABC V15 ausgebracht. Im darauffolgenden Jahr 2018 wurden auf ABC V14 umgestellt und wöchentlich appliziert. Als Pheromonverwirrung wurde RAK® 3 ganzflächig eingesetzt. 2019 sowie 2020 wurde erneut das Isolat V14 zur Kontrolle des Apfelwicklers eingesetzt. In 2020 und 2021 wurde die Kombinationsverwirrung Isomate-C/OFM zur Verwirrung des Apfelwicklers und des Kleinen Fruchtwicklers eingesetzt. Zum Monitoring des Apfelwicklerbefalls und des Resistenzstatus wurden in den Jahren 2017-2021 jeweils 1000 Früchte aus der behandelten und der unbehandelten Versuchsparzelle der Sorte 'Santana' sowie aus den Sorten 'Jonagold', 'Boskoop', 'Melrose' und 'Topaz' herangezogen. Schon am Anfang der ersten Bonituren in 2017 war der Apfelwicklerbefall dieses Betriebs niedrig. Dies zog sich auch dank regelmäßiger und konsequenter Behandlung mit ABC V14 durch die nächsten Jahre, sodass abschließend gesagt werden kann, dass die Apfelwicklerregulierung mit ABC V14, zurzeit eine sichere Regulierung bietet in Kombination mit der Verwirrmethode.

#### *Betrieb RP-FR*

Die 'Elstar' Anlage wurde 1997 übernommen. Aufgrund von fehlenden Bewässerungsmöglichkeiten und vermutlichem Virusbefall der Bäume waren die Fruchtqualitäten für die Frischmarktvermarktung ungeeignet. Daher wurde die Anlage seit 10 Jahren extensiv bewirtschaftet und die Früchte der Apfelbäume als Wirtschaftsobst vermarktet. Bis 2014 kam Madex® 3 und später Madex® MAX zum Einsatz, allerdings wurde nicht konsequent und nur je nach Behang der Bäume behandelt. 2015 wurde die Elstar Anlage nicht behandelt. 2016 wurde mit Carpovirusine® behandelt. 2017 wurden sechs Behandlungen mit ABC V14 durchgeführt. Es wurde nicht konsequent, sondern nur nach Bedarf und Behang behandelt. 2018 wurde die Fläche mit der Sorte 'Natyra' nicht gegen den Apfelwickler behandelt. 2019 wurden die Flächen unregelmäßig mit Madex® TOP und im Jahr 2020 und 2021 unregelmäßig mit ABC V14 behandelt. Im Jahr 2020 wurden zwei Boniturflächen abgegeben. Durchgeführt wurden die Bonituren an folgenden Sorten: 'Gala', 'Elstar', 'Boskoop', 'Delbarestivale' und 'Natyra'. Abschließend kann gesagt werden, dass der Anteil des aktiven Apfelwicklerbefalls für die Verwendung des Isolats ABC V14 eigentlich zu hoch ist. Dies dürfte aber nicht an einer mangelnden Empfindlichkeit gegenüber dem Isolat liegen, sondern an der Anwendungspraxis mit sporadischen Behandlungen.

### Betrieb SL-SA

Bereits seit 2017 wird auf diesem Betrieb mit dem Isolat ABC V14 behandelt. Die Apfelwicklerbonitur wurde bei den Sorten 'Gala', 'Melrose', 'Topaz', sowie 'Jonagold' durchgeführt. Eine Versuchsparzelle der Sorte 'Melrose' grenzt an eine nicht behandelte Streuobstwiese und weist daher generell einen etwas höheren Befall auf. Im Jahr 2019 wurde auf dem Betrieb in den drei Parzellen 'Melrose' in einem Versuch die Wirkung mit einem neuen CpGV-Versuchspräparat der Fa. Andermatt Biocontrol AG, ABC V45, verglichen. Dazu wurden jeweils drei Wiederholungen angelegt. Behandelt wurden je vier Reihen mit ABC V14 und mit ABC V45. Bonitiert wurden jeweils 1000 Früchte von den mittleren zwei Reihen um möglichst äußere Einflüsse auszuschließen. Zwischen ABC V14 und ABC V45 konnte kein Unterschied ermittelt werden. Insgesamt ist der Befallsdruck des Apfelwicklers bei diesem Betrieb aufgrund einer konsequenten Regulierungsstrategie und der guten Wirkung von ABC V14 sehr gering.

#### 3.2.2.4 Monitoring der Anlagen in der Region Süd

Die Arbeiten wurden im Rahmen eines Werkvertrages mit dem JKI in Zusammenarbeit mit Hilfskräften der Universität Hohenheim durchgeführt.

Die Daten aus dem Frostjahr 2017 sind nicht dargestellt, weil in diesem Jahr nur sehr wenige Früchte bonitiert werden konnten. Die befallenen Früchte wurden untersucht, ob der Befall abgestoppt war oder nicht. Aufgrund des sehr geringen Behangs konnte aber keine Höhe des Befalls sinnvoll festgestellt werden. Daher sind die Daten von 2017 nicht in der Übersichtsgrafik dargestellt.

Es gab in 2017 aber keine Auffälligkeiten bezüglich der Wirkung von ABC V14. Die Betriebe mit Resistenzen gegenüber CpGV-S liegen am Bodensee und in Südbaden.

##### 3.2.2.4.1 Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2018 bis 2021 in der Region Süd

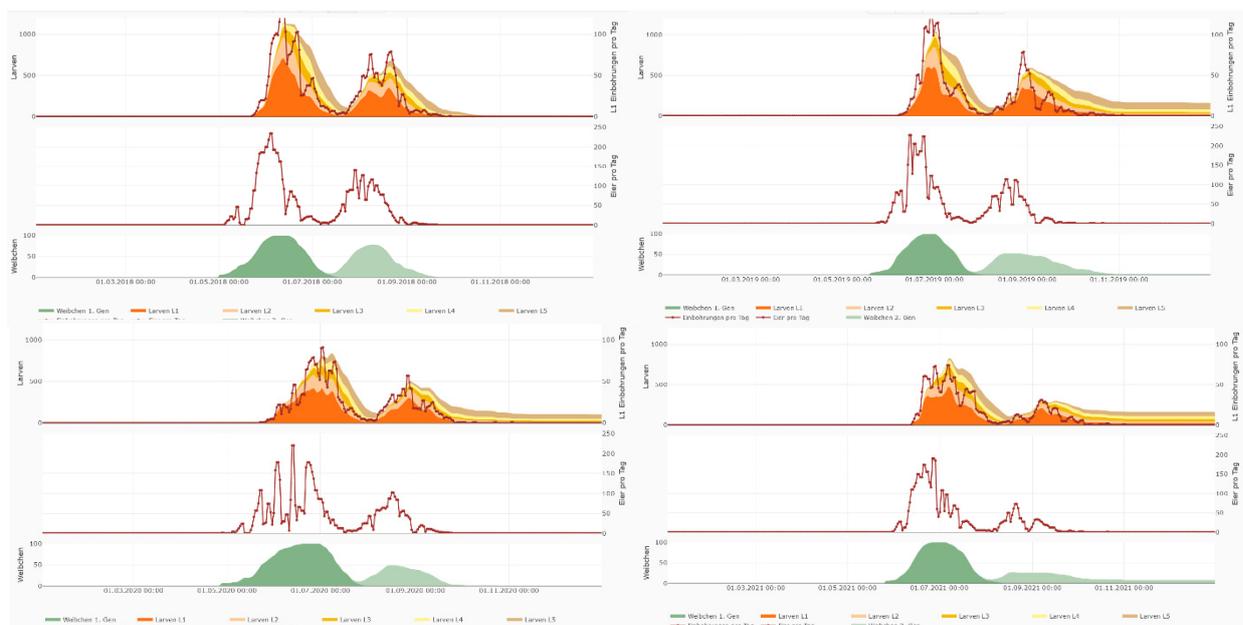


Abbildung 10: Befallsentwicklung des Apfelwicklers in der Region Süd den Jahren 2018 (oben links), 2019 (oben rechts), 2020 (unten links) und 2021 (unten rechts). Darstellung anhand des in [www.fruitweb.info](http://www.fruitweb.info) verfügbaren Modells für eine Station am Bodensee.

In Abbildung 10 ist die Befallsentwicklung in den Jahren 2018 bis 2021 anhand des im infodienst fruitweb ([www.fruitweb.info](http://www.fruitweb.info)) verfügbaren Modells dargestellt. Im Jahr 2018 war der Sommer sehr warm und es wurde eine starke erste und zweite Generation ausgebildet. Im Jahr 2019 war die zweite Generation weniger stark. In den Jahren 2020 und 2021 gab es eine deutlich schwächere zweite Generation.

Die Modellierung zeigt aber auch, dass fast den ganzen Sommer über Schlupf von Apfelwicklerlarven stattfindet, so dass mehr oder weniger Belag gehalten werden muss.

#### *3.2.2.4.2 Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die ABC V14 eingesetzt haben in der Region Süd*

In Abbildung 11 ist die Befallsentwicklung in den verschiedenen Jahren zu den beiden Bonituren dargestellt. Die dargestellten Betriebe wurden im Jahr nach der Feststellung der Resistenz und dem Beginn der Behandlung mit ABC V14 in das Monitoring aufgenommen. Neu aufgenommene Betriebe zeigten im ersten Jahr aufgrund des hohen Befallsdrucks vom Vorjahr einen hohen Befall, bei dem aber das meiste abgestoppt war. Dadurch verringerte sich die Population, so dass das zusätzlich eingesetzte Verwirrungsverfahren besser wirken konnte (die Betriebe hatten alle auch vor dem Einsatz von ABC V14 verwirrt). Bereits bei der zweiten Generation war der Befall dann deutlich reduziert.

##### *Betrieb BW-BR 2*

Dieser Betrieb wurde im Jahr 2020 getestet und zeigte eine deutliche CpGV-S-Resistenz. Er befindet sich in ca. 400 m Entfernung zum Betrieb BW-BR, der bereits seit langem eine Resistenz aufweist. Der Befall war am stärksten in einer spitz zulaufenden Ecke der Anlage zur Straße hin, in der die Verwirrung aufgrund der Anlagenform nicht ausreichend wirken kann. Auf diesen Anlagenteil ist auch der bei der Ernte immer noch relativ hohe Befall von 3 % zurückzuführen. Die Wirkung von ABC V14 war aber sehr gut: Fast alle Befallsstellen waren abgestoppt.

##### *Betrieb BW-BO*

Dieser Betrieb wurde im Herbst des sehr heißen Jahres 2018 getestet und wies eine deutliche Resistenz auf. Er wirtschaftet seit über 30 Jahren ökologisch. Der Einsatz von CpGV war korrekt und nicht unterdosiert, er hatte auch gleichzeitig verwirrt. Oberhalb der Anlagen befinden sich am Hang Streuobstbäume, die frostgeschädigt waren und daher nur wenig Ertrag hatten. Der Befall war in einer Einflugzone von diesen Bäumen her deutlich erhöht. ABC V14 zeigte eine sehr gute Wirkung, der hohe Befall konnte sehr gut reduziert werden. Aufgrund der Nähe der Streuobstbäume blieb aber immer ein gewisser Befallsdruck in den Folgejahren. Der Befall wurde aber durch ABC V14 sehr gut abgestoppt.

##### *Betrieb BW-BR*

Der Betrieb wies bereits im Jahr 2016 eine CpGV-S-Resistenz auf. Daraufhin wurde erst mit ABC V15 und dann mit ABC V14 behandelt, ebenfalls kombiniert mit der Verwirrmethode. Im Jahr 2018 wurde eine Hecke aus verwilderten Apfelbäumen am Rand der Anlage gerodet, die immer wieder für Befall im Umfeld gesorgt hatte. Seither ist der Befall auf sehr niedrigem Niveau.

##### *Betrieb BW-DE*

Der Betrieb BW-DE wurde im Jahr 2017 aufgrund von Resistenz gegenüber CpGV-S auf ABC V15 umgestellt. Vor allem eine Anlage, die von Streuobstbäumen umgeben ist, war betroffen. Auch diese Anlage wird verwirrt. Die Wirkung von ABC V14 war auch in diesem Betrieb sehr

gut. In zwei Anlagen war jedoch immer etwas Befallsdruck zu beobachten, der auf die umliegenden Streuobstbäume zurückzuführen ist.

#### *Betrieb BW-HI*

Dieser Betrieb hat eine etwas ungewöhnliche Apfelwicklerpopulation. Er war bereits von der Resistenz gegenüber CpGV-M im Jahr 2005 betroffen, so dass die Population schon lange immer wieder beobachtet wurde. Charakteristisch war hier, dass zu Beginn der ersten Generation kaum Befall gefunden wurde. Dieser trat erst später als in den anderen Anlagen und mit einem nach hinten verschobenen Schlupfhöhepunkt auf. Auch die zweite Generation war selten ausgeprägt. Es spricht vieles für einen hohen Anteil an obligatorisch univoltinen Tieren. Bei der zweiten Bonitur kurz vor der Ernte wurde daher auch in 2017 und 2018 kaum Befall gefunden. Eine Ausnahme stellte das kalte und nasse Jahr 2021 dar. Hier gab es einen sehr späten Befallshöhepunkt Ende Juli (als B1 hier dargestellt, da vorher kaum Befall gefunden wurde) und Mitte August wurde noch viel Befall gefunden.

Im Jahr 2018 fielen hier wenige Reihen einer Sorte auf, in denen sehr viel aktiver Befall gefunden wurde. Es konnte keine Verbindung mit einer „Spritzlücke“ hergestellt werden. Im Rest der Anlage wurde abgestoppter Befall gefunden, nur in diesen Reihen so gut wie nicht. Die Früchte wurden mehrmals abgesammelt und an das JKI zur Testung geschickt (siehe 1.2.2.6). Da es nur wenige Reihen waren und der Gesamtbefall nicht besonders hoch war, konnten pro Sammlung nur etwa 100 Früchte verschickt werden. Als das Phänomen in 2019 wieder auftrat, wurde auf die Bonitur und das Aufschneiden der Früchte verzichtet, um möglichst viele Früchte mit Larven an das JKI senden zu können. In diesem Jahr wurden alle 8 bis 10 Tage in diesen Reihen alle Früchte mit aktivem Befall abgesammelt. Daher erfolgte in 2019 keine Bonitur. Es wurden auch viele Wellpapperinge angebracht, um Diapauselarven zu gewinnen. In den Jahren 2020 und 2021 wurde bonitiert und abgesammelt. Der Befall blieb in der Anlage im Gegensatz zu den Entwicklungen, die man von Anlagen mit beginnender Resistenz kennt, recht gering, so dass wohl davon ausgegangen werden konnte, dass nicht alle Larven aus diesem aktiven Befall im Folgejahr zur Befallsentwicklung beigetragen haben.

#### *Betrieb BW-HK*

Der Betrieb BW-HK wurde aufgrund von Resistenzentwicklung im Jahr 2017 auf ABC V14 umgestellt. Auch hier ist die Anlage von Streuobstwiesen umgeben. Der höhere Befallsdruck im Jahr 2019 war vor allem an den Rändern zu beobachten. Die Wirkung von ABC V14 war aber ebenfalls sehr gut, so dass der Befall in den Folgejahren stark reduziert wurde. Auch diese Anlage wurde verwirrt.

#### *Betrieb BW-HU*

Der Betrieb BW-HU zeigte im Jahr 2014 hohen Befall und Resistenzen gegenüber CpGV-S. Dies war wohl darin begründet, dass gerodete Bäume einer sehr extensiv behandelten Mostobstanlage in der Nähe der Erwerbsanlage gelagert wurden. Das daraufhin im Jahr 2015 eingesetzte Präparat ABC V15 war nur begrenzt wirksam und es kam zu einem hohen Befall. Daher wurde der Betrieb im Jahr 2016 auf ABC V14 umgestellt. Seither ist der Befall unauffällig mit Ausnahme einer Anlage, die an eine Streuobstreihe grenzt. ABC V14 ist auf diesem Betrieb sehr gut wirksam.

#### *Betrieb BW-NE*

Dieser Betrieb wies im Jahr 2018 in mehreren Reihen, die nicht unter Hagelnetz waren, starken Befall auf. Es wurde eine CpGV-S-Resistenz festgestellt. In der Nachbarschaft war eine sehr extensiv bewirtschaftete Anlage, die gerodet wurde. Der hohe Befall konnte mit ABC V14 sehr gut und schnell reduziert werden. Seither ist die Anlage unauffällig.

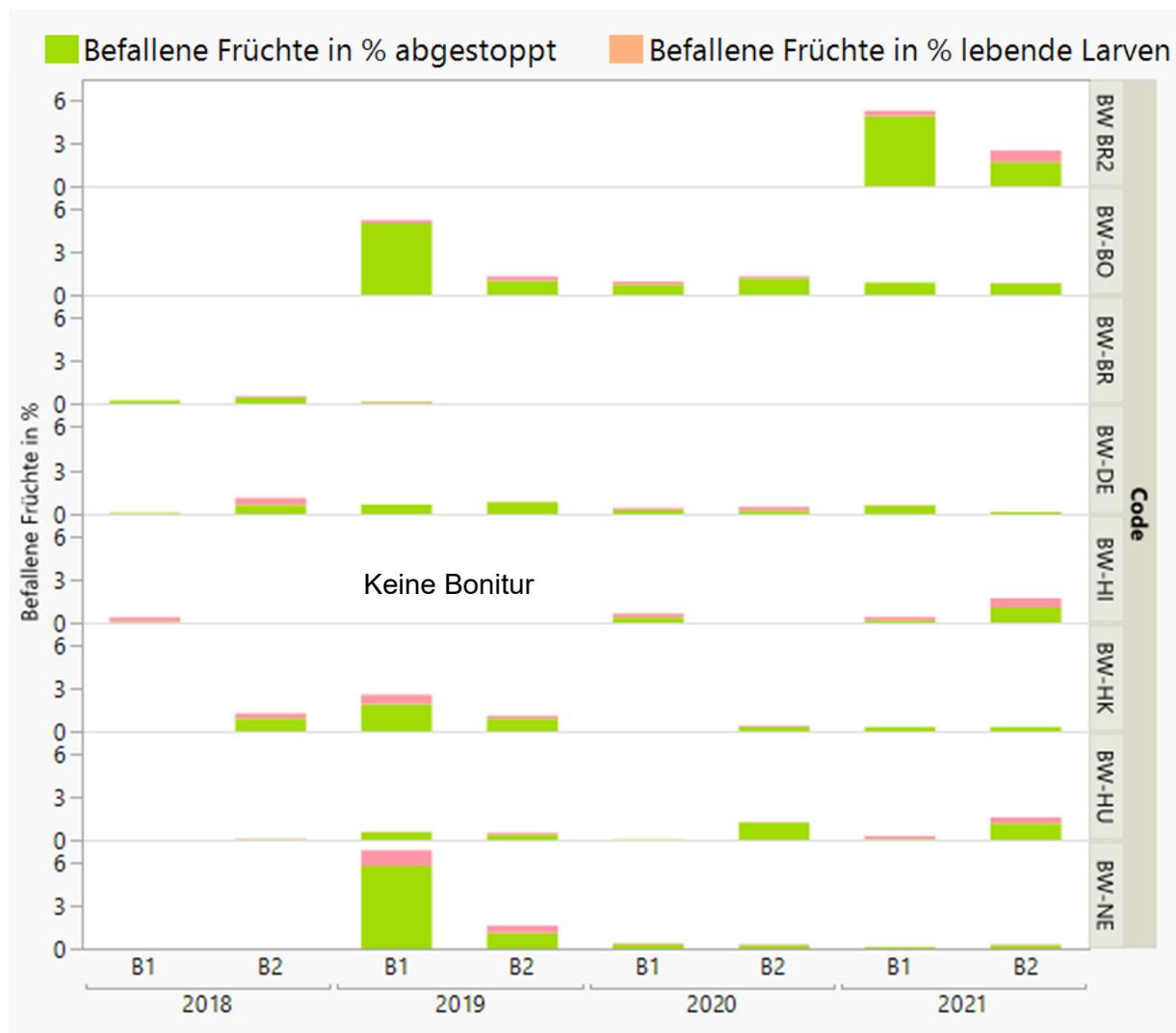


Abbildung 11: Abgestoppter und aktiver Befall in den Anlagen in der Region Süd in den Jahren 2018 bis 2021 an den Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2) in den mit ABC V14 behandelten Anlagen.

### 3.2.2.5 Monitoring der Anlagen in der Region Ost

Die Arbeiten wurden unter Anleitung durch das JKI von Hilfskräften der Universität Hohenheim durchgeführt. Es waren zwei Betriebe betroffen, die räumlich etwa 200 km auseinanderliegen.

#### 3.2.2.5.1 Entwicklung des Apfelwicklers in den Jahren 2020 bis 2021 in der Region Ost

In den Jahren 2020 und 2021 war die erste Generation des Apfelwicklers in dieser Region wesentlich stärker ausgeprägt als die zweite Generation (Abbildung 12). Dadurch kam es in 2020 noch zu relativ hohen Fruchtschäden durch den starken Befallsdruck aus dem Vorjahr. Der Befall wurde zwar zum großen Teil abgestoppt, die Schäden auf den Früchten waren aber bereits erfolgt.

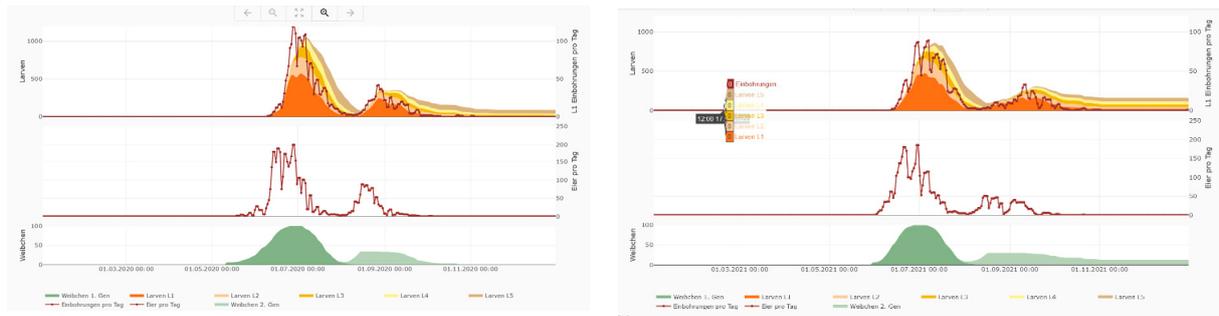


Abbildung 12: Befallsentwicklung des Apfelwicklers in der Region Ost in den Jahren 2020 (links) und 2021 (rechts). Darstellung anhand des in [www.fruitweb.info](http://www.fruitweb.info) verfügbaren Modells für eine Station in der Region.

### 3.2.2.5.2 Ergebnisse des Monitorings auf den Betrieben, die Madex® TOP eingesetzt haben in der Region Ost

In der Region Sachsen wurden zwei Anlagen mit beginnender Resistenz und sehr starkem Befall in 2019 ab 2020 auf Madex® TOP umgestellt und in das Monitoring einbezogen (Abbildung 13).

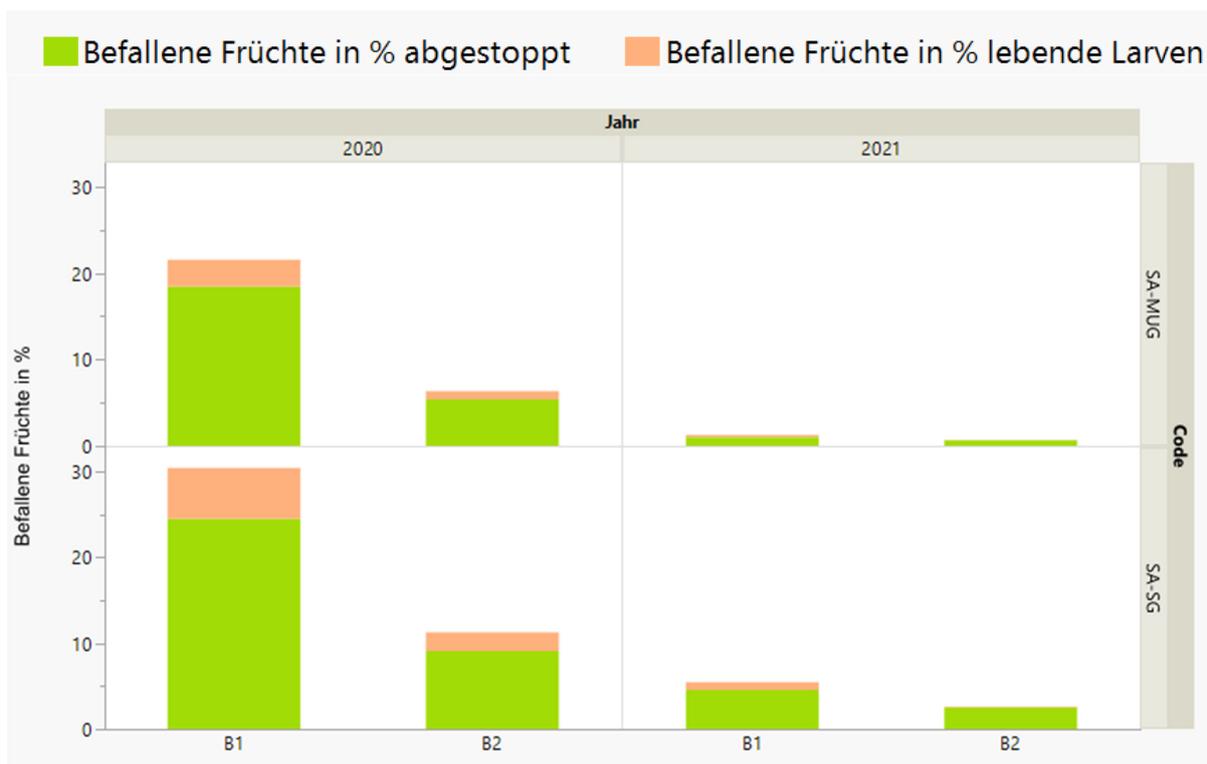


Abbildung 13: Abgestoppter und aktiver Befall in den Anlagen in der Region Sachsen in den Jahren 2020 bis 2021 an den Bonituren im Frühsommer (B1) und vor der Ernte (B2) in den mit Madex® TOP behandelten Anlagen.

#### Betrieb SA-MUG

In diesem Betrieb trat in 2019 in verschiedenen Anlagen starker Befall auf. Daraufhin wurde in 2020 auf Madex® TOP umgestellt. Zusätzlich wurde in der Anlage verwirrt. Der Befall in der ersten Generation war dann noch sehr hoch aber zum größten Teil abgestoppt. Im Jahr 2021 war der Befall dann deutlich geringer und fast ganz abgestoppt.

### Betrieb SA-SG

In diesem Betrieb kam es 2019 ebenfalls zu sehr hohem Befall. Nach Umstellung auf Madex® TOP zeigt sich noch ein sehr hoher aber größtenteils abgestoppter Befall in der ersten Generation. Auch in der zweiten Generation gab es noch sehr viel abgestoppten Befall. In 2021 ging der Fruchtschaden dann auf ein akzeptables Niveau zurück und war fast ganz abgestoppt.

#### 3.2.2.6 Testung auf Resistenz im Labor

Von den auf das Versuchspräparat ABC V14 umgestellten Betrieben zeigten sich zwischen 2017 und 2021 in sieben Anlagen Auffälligkeiten bei der Bonitur und daher wurden Tiere für die Bestimmung des Resistenzstatus im Labor gesammelt (Tabelle 4). In den Schnelltests mit dem Reinisolat CpGV-E2 wurde bei Tieren aus drei Anlagen (BW-HK-17, NS-HOH-17 und SL-SA-17) eine Mortalität von 100 % erreicht und somit war eine Minderwirkung von ABC V14 nicht gegeben. Bei zwei AW-Populationen erreichte die Larvenmortalität 80 %, allerdings standen hier nur sehr wenige Testtiere zur Verfügung. In den Folgejahren blieb die Anlage BW-DE-17 unauffällig. In der 2017 und 2018 getesteten Anlage (BW-HI) in Süddeutschland gab es immer ein kleines Zeitfenster in einer eng begrenzten Zone in der Anlage, wo sehr viel aktiver Befall beobachtet wurde, obwohl die Behandlungen weitergeführt wurden. Diese Tiere zeigten in beiden Jahren eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV-Isolat im Test mit einer Mortalität von 66,7 % bzw. 60 %.

Tabelle 4: Ergebnisse der Resistenzschnelltests von 2017 bis 2021 mit AW-Larven aus auffälligen Anlagen des Langzeitversuchs mit ABC V14 bzw. Madex® TOP, getestet mit dem Reinisolat CpGV-E2 (Genomgruppe B). Angegeben sind jeweils die Mortalitätswerte (%), ermittelt für eine diskriminierende Viruskonzentration von  $2 \times 10^5$  OB/ml Medium mit L2-L4 und nach 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag. Die Mortalität der jeweiligen Kontrolltiere (UB Kontrolle), die auf virusfreies Medium aufgesetzt wurden, gibt Hinweise auf die Wirksamkeit der in den Anlagen applizierten Präparate. N entspricht der Anzahl getesteter Tiere. + bedeutet Resistenz nachgewiesen und – keine Resistenz. Mit \*) markiert sind Schnelltests mit wenigen Versuchstieren.

Jahr	Region Süd und Ost				Region West				Region Nord			
	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz	Anlage	N	% Mortalität 14 dpi	Resistenz
<b>Behandlung der Anlagen mit ABC V14 / im Test CpGV-E2 Reinisolat</b>												
2017	<b>BW-DE-17</b> Virus	5	80,0	- *)	<b>SL-SA-17</b> Virus	15	100	-	<b>NS-HOH-17</b> Virus	26	100	-
	UB Kontrolle	2	50,0		UB Kontrolle	18	38,9		UB Kontrolle	18	100	
	<b>BW-HI-17</b> Virus	12	66,7	(+)								
	UB Kontrolle	8	37,5									
	<b>BW-HK-17</b> Virus	64	100	-								
	UB Kontrolle	39	94,9									
2018	<b>BW-HI-18</b> Virus	40	60,0	(+)								
	UB Kontrolle	52	30,8									
2021									<b>NS-LJ-21</b> Virus	10	80,0	- *)
									UB Kontrolle	2	100	
<b>Behandlung der Anlage mit Madex TOP / im Test CpGV-E2 Reinisolat</b>												
2021	<b>BW-HH-21</b> Virus	37	94,6	-					<b>NS-BO-21</b> Virus	13	100	-
	UB Kontrolle	69	86,9						UB Kontrolle	29	89,7	

Es konnte nicht geklärt werden, ob es sich in dieser Anlage um eine beginnende Resistenz gegenüber dem CpGV der Genomgruppe B handelte, da eine Weiterzucht gesammelter Tiere für weiterführende Untersuchungen nicht erfolgreich waren. Von 2017 bis 2020 wurden alle

verfügbaren Larven gesammelt und wiederholt versucht, Tiere aus dieser Anlage in Zucht zu nehmen. Problematisch war dabei eine hohe Wintermortalität der Diapausetiere, aber auch, dass die Nachkommen bereits nach einer Generation unter Langtagbedingungen im Labor immer wieder in ein Diapausestadium übergangen. Möglicherweise ist bei dieser AW-Population eine obligate Diapause genetisch determiniert und es besteht ein Zusammenhang mit der beobachteten Minderwirkung von ABC V14. Weiterführende Untersuchungen zum Resistenzmechanismus in dieser AW-Population sind daher zu empfehlen. In den anderen getesteten Anlagen, die von 2017 bis 2021 mit ABC V14 behandelt wurden, zeigte sich insgesamt eine sehr gute Wirkung des Versuchspräparats.

In die Testung mit einbezogen wurden 2021 zwei Anlagen, die mit Madex® TOP behandelt wurden. In den Schnelltests zeigte das Reinisolat CpGV-E2 eine gute Wirksamkeit, auch die Mortalität der Kontrolltiere lag hoch und deutete nicht unbedingt auf eine Minderwirkung des eingesetzten CpGV-Produktes hin.

### **3.3 AP 3: Simulation verschiedener Strategien zum Resistenzmanagement mit den verschiedenen verfügbaren neuen Isolaten im Labor**

Bei der Langzeitanwendung resistenzbrechender Viruspräparate, die auf einer Mischung von Isolaten aus der Genomgruppe A und E basieren (Gueli Alletti et al., 2017) und seit 2011 zum Einsatz kamen, wurden in den letzten Jahren in Deutschland im Rahmen des Resistenz-Monitorings immer mehr CpGV-resistente AW-Populationen identifiziert, die neben der Typ I-Resistenz inzwischen auch eine Typ II-Resistenz aufwiesen. Um Aussagen über das Potential und die Dynamik einer Resistenzbildung gegenüber den neuen resistenzbrechenden Isolaten der Genomgruppe E und auch B machen zu können, wurden im Labor Selektionsversuche durchgeführt.

Darüber hinaus zeigten bisherige Ergebnisse aus verschiedenen Laboruntersuchungen erste Hinweise auf eine vertikale Übertragung der Viren von einer Generation auf die nächste, was von anderen Baculoviren bereits bekannt ist (Cory und Myers, 2003; Akhaneaev et al. 2020). In vielen Fällen können subletale Infektionen Einfluss nehmen auf die Immunantwort zur Unterdrückung der Pathogen-Replikation oder auf Wirtsmerkmale, die phänotypisch resistente Individuen hervorbringt (Myers und Kuken, 1995; Rothman und Myers, 1996; Bower et al., 2009). Da eine latente Virusinfektion möglicherweise mit der Entwicklung von Resistenzen zusammenhängt, wurde dieses Phänomen systematisch mittels PCR-Analysen untersucht.

#### **3.3.1 A) Selektionsexperiment**

Die Laborversuche wurden mit einem seit 2015 in Zucht genommenen AW-Freilandstamm (BW-HU-15 Most) durchgeführt, der bereits über eine Kreuzresistenz gegenüber der Genomgruppe A und E verfügte. Die Selektionsversuche erfolgten zunächst über zehn aufeinander folgenden Generationen bzw. Passagen (P1-P10) unter Virusexposition, wobei die Virusisolate CpGV-M (Genomgruppe A), CpGV-S (Genomgruppe E) und CpGV-E2 (Genomgruppe B) in einer relativ niedrigen Viruskonzentration (300 OB/ml Medium) verabreicht wurden. Der Anteil überlebender Larven lag jeweils bei 30-40 %. Neben der kontinuierlichen Verabreichung eines jeden der verschiedenen Virusisolate, wurden die Virusisolate CpGV-S und CpGV-E2 alternierend von einer Generation zur nächsten gewechselt (Strategie A) und bei Strategie B wurden diese Virusisolate erst nach jeder zweiten Generation gewechselt, was im Freiland einem Isolatewechsel im Jahresrhythmus entspricht. Als Referenz diente virusfreies Zuchtmedium (K), das einer Kohorte der Testlarven zeitgleich verabreicht wurde.

Nach Vollendung der 10. Passage unter Virusdruck, wurden alle Selektionslinien unter der Bezeichnung P10M, P10S, P10E2, P10S/E2 (1:1) und P10S/E2 (2:2) sowie der Referenzstamm P10K auf virusfreiem Zuchtmedium im Labor bei 26 °C und Langtag über elf Generationen weiter gezüchtet (W1-W11). Im Anschluss hieran, wurde die Weiterzucht nur noch mit den Selektionslinien P10K, P10S und P10E2 fortgeführt bis zur W24. In jeder Folgegeneration wurde jeweils am Ende der Larvalentwicklung (nach 21 Tagen), die spontan auftretende virusbedingte Mortalität dokumentiert.

Diese variierte innerhalb aller selektierten Stämme in der Mehrzahl der Generationen W1 bis W11 von 0 bis 30 % und mit wenigen Ausnahmen auch bis etwa 50 %. Extremwerte von über 70 % Mortalität traten nur in der ersten Generation ohne Virusdruck (W1) auf (Abbildung 14). Ab der 12. Generationen ohne Virusdruck sank das Mortalitätsniveau deutlich unter 20 % und erreichte in den Folgegenerationen bis W24 nahezu 0 % (Abbildung 15).

Für die Untersuchung latent subletaler Infektionen, wurden sowohl adulte als auch virustote Tiere aus den Weiterzuchten entnommen und für spätere Analysen mittels PCR-Technik eingefroren. Zur Überprüfung einer möglichen Resistenzentwicklung, wurden zudem mit den Nachkommen aus den Folgegenerationen (W1-W4 und W9-W10) *Full Range*-Bioassays zur Ermittlung der mittleren letalen Konzentration (LC50) mit Eilarven durchgeführt. Die hieraus ermittelten Mortalitätsdaten dienen der statistischen Berechnung von LC50-Werten, die aus den Konzentrations-Wirkungsgeraden und ihren Steigungen (Probitanalyse, Programm ToxRat Solutions Standard Version 3.2 (ToxRat Solutions GmbH) ermittelt wurden.

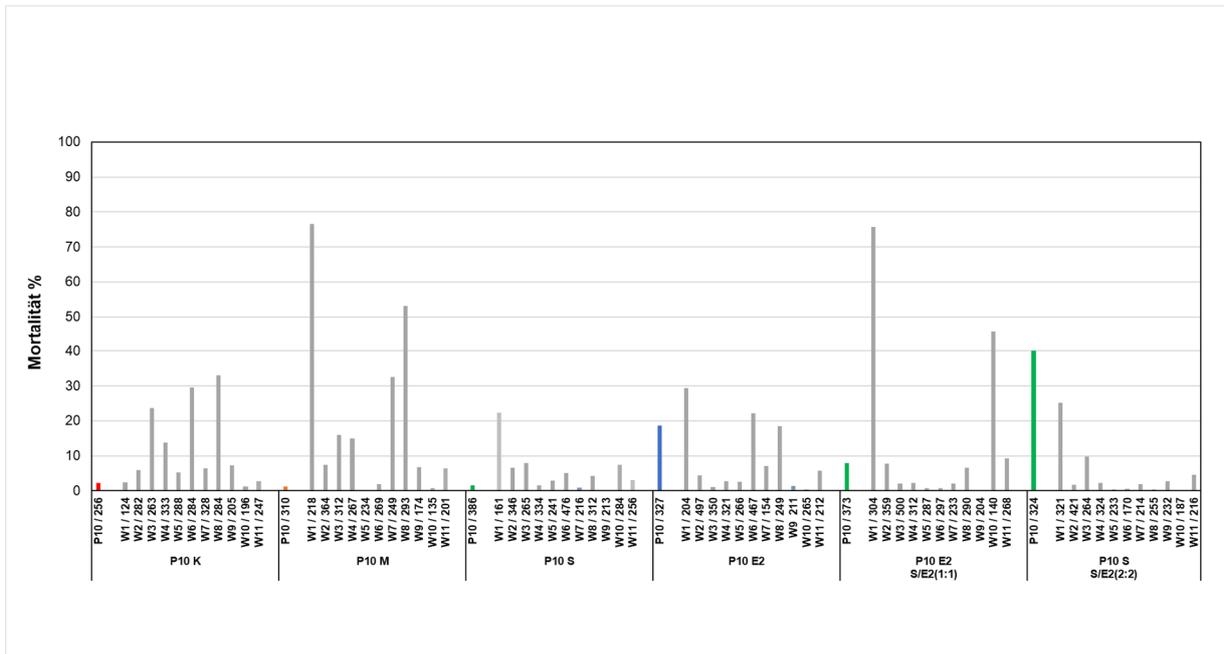


Abbildung 14: Prozentuale Mortalität ohne Virusdruck in den Folgegenerationen (W1-W11 graue Säulen) der unter Virusdruck über zehn Generationen selektierten Linien P10M, P10S, P10E2, P10 S/E2 (1:1) und P10 S/E2 (2:2) und des Referenz-Stammes P10K, ermittelt nach 21 Tagen Inkubation auf Zuchtmedium bei 26 °C und Langtag. Die farbigen Säulen entsprechen der Selektionsmortalität der jeweils letzten Passage (P10) unter Virusdruck (300 OB/ml Medium), gelb=CpGV-M, grün=CpGV-S und blau=CpGV-E2; rot steht für den Referenz-Stamm P10K. Die Zahlen geben die Anzahl der Tiere im Versuch an.

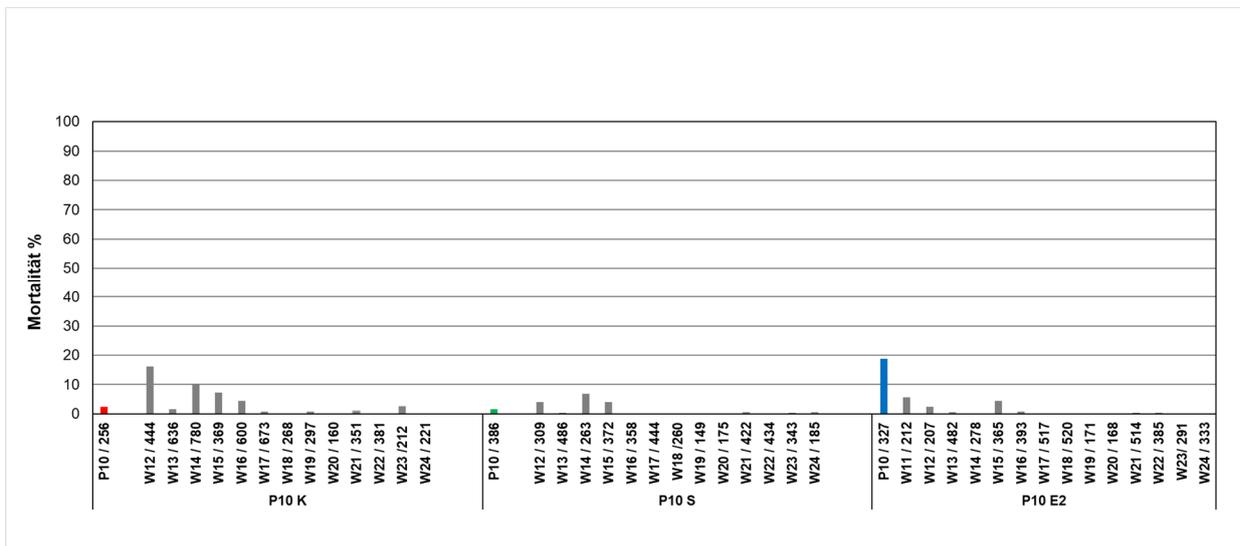


Abbildung 15: Prozentuale Mortalität ohne Virusdruck in den Folgegenerationen (W12-W24 graue Säulen) der unter Virusdruck über zehn Generationen selektierten Linien P10S, P10E2 und des Referenz-Stammes P10K, ermittelt nach 21 Tagen Inkubation auf Zuchtmedium bei 26 °C und Langtag. Die farbigen Säulen entsprechen der Selektionsmortalität der jeweils letzten Passage (P10) unter Virusdruck (300 OB/ml Medium), grün=CpGV-S und blau=CpGV-E2; rot steht für den Referenz-Stamm P10K. Die Zahlen geben die Anzahl der Tiere im Versuch an.

Eine Gegenüberstellung der LC50-Werte mit den entsprechenden Steigungen der Konzentrations-Wirkungsgeraden, basierend auf full range-Bioassays nach 14 Tagen, zeigt die folgende Tabelle 5 für alle Selektionslinien gegenüber jedem der drei getesteten CpGV-Isolate (CpGV-M, -S und -E2).

Tabelle 5: Mittlere letale Konzentrationen (LC50) gegenüber CpGV-M, -S und -E2 ermittelt in full range-Bioassays (14 Tage Inkubation bei 26 °C und Langtag) mit Eilarven der Nachkommen (W1-W10) der mit CpGV-M, -S und -E2 selektierten Stämmen P10M, P10S, P10E2, P10S/E2 (1:1), P10S/E2 (2:2) und des Referenzstammes P10K. Gegeben ist die Anzahl der Testtiere, die LC50-Werte mit den zugehörigen 95 % Vertrauensgrenzen, die Steigung und der Standardfehler (SE) der Probit-Geraden sowie die X2-Werte mit den zugehörigen Freiheitsgraden (DF) berechnet in der Probit Analyse (ToxRat Solutions Standard Version 3,2). Der Faktor gibt die Erhöhung des Resistenzniveaus an und entspricht dem Quotienten aus der LC50 der jeweiligen Selektionslinie und der LC50 der Kontroll-Linie P10K.

Selektionslinie	N	Steigung (SE)	LC <sub>50</sub> [OB/ml] (95 % Vertrauensgrenzen)	X <sup>2</sup> (DF)	Faktor
<b>CpGV-M</b>					
P10K	1735	1,65 (0,002)	1,77 x 10 <sup>3</sup> (1,19 - 2,56)	19,7 (6)	1
P10M	838	1,33 (0,009)	1,03 x 10 <sup>4</sup> (0,32 - 5,38)	86,0 (6)	5,8
P10S	829	0,74 (0,004)	9,82 x 10 <sup>4</sup> (3,37 - 73,99)	29,7 (5)	55,5
P10E2	1161	0,86 (0,003)	4,53 x 10 <sup>4</sup> (2,29 - 11,05)	28,0 (6)	25,6
P10S/E2 (1:1)	764	0,55 (0,003)	8,90 x 10 <sup>4</sup> (5,39 - 16,83)	4,1 (5)	50,3
P10S/E2 (2:2)	1030	1,13 (0,005)	3,85 x 10 <sup>3</sup> (1,44 - 11,30)	66,6 (6)	2,2
<b>CpGV-S</b>					
P10K	2516	0,93 (0,002)	2,64 x 10 <sup>3</sup> (1,16 - 5,78)	83,0 (6)	1
P10M	1299	0,55 (0,002)	7,33 x 10 <sup>3</sup> (1,29 - 37,96)	38,5 (5)	2,8
P10S	1335	0,41 (0,002)	7,37 x 10 <sup>5</sup> (0,63 - n.d.)	75,7 (6)	279,2
P10E2	1406	0,71 (0,003)	1,71 x 10 <sup>4</sup> (0,97 - 3,43)	13,7 (5)	6,5
P10S/E2 (1:1)	1187	0,54 (0,003)	1,93 x 10 <sup>5</sup> (0,51 - 100,64)	41,7 (6)	73,1
P10S/E2 (2:2)	1383	1,01 (0,004)	1,38 x 10 <sup>3</sup> (0,84 - 2,09)	16,1 (6)	0,5
<b>CpGV-E2</b>					
P10K	1022	1,04 (0,002)	1,15 x 10 <sup>3</sup> (0,02 - 41,62)	82,6 (4)	1
P10M	375	1,25 (0,019)	3,29 x 10 <sup>3</sup> (n.d.)	60,6 (3)	2,9
P10S	427	1,66 (0,059)	3,11 x 10 <sup>2</sup> (1,90 - 4,33)	0,7 (3)	0,2
P10E2	797	1,78 (0,038)	3,60 x 10 <sup>2</sup> (2,56 - 4,65)	1,8 (3)	0,3
P10S/E2 (1:1)	537	1,78 (0,024)	1,18 x 10 <sup>3</sup> (0,64 - 2,09)	13,0 (4)	1
P10S/E2 (2:2)	617	1,72 (0,023)	7,60 x 10 <sup>2</sup> (6,05 - 9,37)	3,3 (3)	0,7

### 3.3.1.1 CpGV-M Resistenz

Die sequenzielle Selektion auf CpGV-M zeigte keine nennenswerte Erhöhung des Resistenzniveaus bei P10M. Auch bei der unter Strategie B selektierten Linie P10S/E2 (2:2) war keine Veränderung der M-Resistenz zu erkennen. Bei den übrigen Selektionslinien stieg das Resistenzniveau jedoch um Faktor 25-55 an.

### 3.3.1.2 CpGV-S Resistenz

Bei permanenter Virus-Exposition auf CpGV-S (Selektionslinie P10S) stieg das Resistenzniveau gegenüber der Genomgruppe E um mehr als das 270-fache an. Ein erhöhter LC50-Wert (Faktor 73) im Vergleich zur Referenzlinie P10K (Faktor 1) zeigte sich auch bei der Selektionslinie P10 S/E2 (1:1) bei alternierender Verabreichung der Isolate CpGV-S und CpGV-E2. Alle übrigen Selektionslinien blieben gegenüber der Genomgruppe E unauffällig. Das Ergebnis, dass beim Wechsel der beiden Isolate CpGV-S und –E2 nach jeder zweiten Generation (Selektionslinie P10S/E2 (2:2)) keine Veränderung sowohl der M- als auch S-Resistenz erfolgte, war unerwartet und lässt sich auf der Grundlage bisheriger Erkenntnisse nicht erklären.

### 3.3.1.3 CpGV-E2 Resistenz

Das resistenzbrechende und sehr wirksame Isolat CpGV-E2 blieb bei allen Selektionsvarianten in seiner Wirksamkeit unverändert. Nach 10 Generationen unter Virusdruck konnte im vorliegenden Versuch keine Resistenzbildung gegenüber der Genomgruppe B beobachtet werden.

Im Hinblick auf den verstärkten Einsatz von ABC V14 in der Praxis, wurde der Selektionsversuch mit dem Isolat CpGV-E2 fortgeführt, um so die Risiken einer Langzeitanwendung dieses Präparates noch besser abschätzen zu können. Hierfür wurden die zwei aus dem vorangegangenen Selektionsexperiment resultierenden Linie P10E2 und P10S erneut unter Virusdruck von CpGV-E2 gezüchtet. Beide Selektionslinien wurden zuvor über 12 bzw. 13/16 Generationen ohne Virusdruck gehalten. Die CpGV-E2 Exposition von W12 P10E2 erfolgte über sieben Generationen und die von W13/W16 P10S über drei bzw. fünf Generationen, wobei die Viruskonzentrationen zwischen 100 und 600 OB/ml Medium variierten. Die folgende Abbildung 16 zeigt die Überlebensraten der beiden AW-Linien P10E2 und P10S über den gesamten Verlauf der Selektionsphase. Als Referenz ist die Überlebensrate der ohne Virusdruck gehaltenen Kontroll-Linie P10K und des sensiblen Laborstammes CpS mit aufgeführt. Da Überlebensraten bei wiederholter Anwendung von 600 OB/ml Medium unter 20 % sanken, musste die Viruskonzentration während der Selektionsphase verringert werden, um ausreichend Nachkommen in der Folgegeneration zu gewährleisten. Dies deutete bereits darauf hin, dass die Wirksamkeit des CpGV-E2 über den Selektionsprozess erhalten blieb und somit keine Resistenzbildung zu erkennen war.

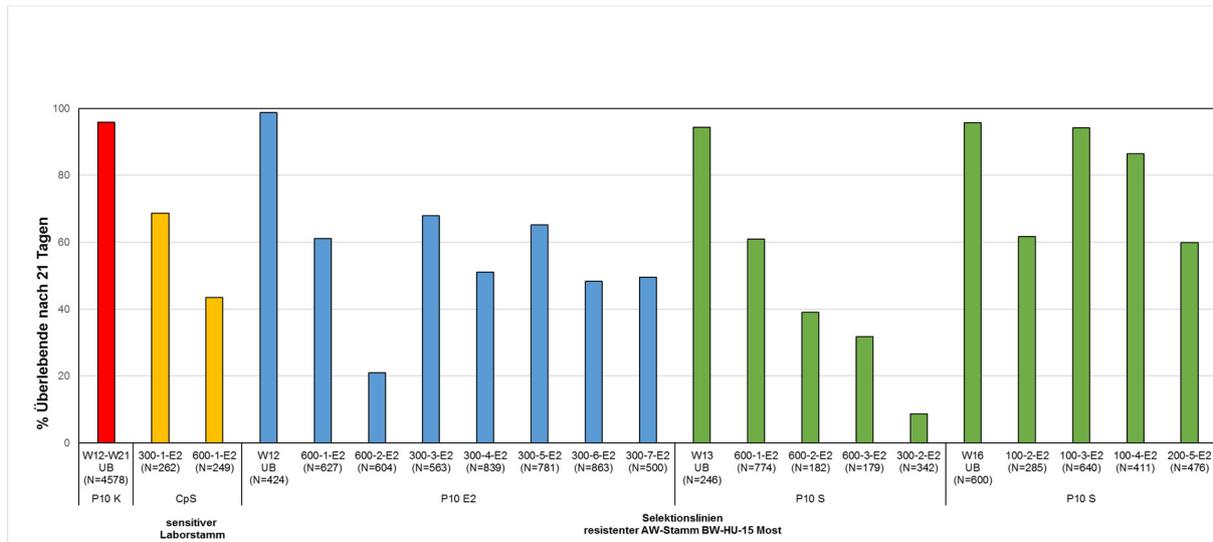


Abbildung 16: Überlebensrate (%) der Selektionslinien P10 E2 (blau) und P10S (grün) sowie des sensiblen Referenzstammes CpS (gelb) unter Virusdruck mit CpGV-E2 bei einer Viruskonzentration von 100-600 OB/ml Medium und 21 Tagen Inkubation (26 ° C/Langtag). Die Kontroll-Linie P10 K (rot) wurde kontinuierlich ohne Virusdruck gezüchtet. UB kennzeichnet die unbehandelten AW-Linien aus der Weiterzucht zu Beginn der Selektion (W12 P10E2, W13/W16 P10S und die Kontroll-Linie W12-W24 P10K). N gibt die Anzahl der Tiere im Versuch an.

Auch der Vergleich von LC50-Werten, ermittelt in full range-Bioassays mit den Nachkommen nach der 7. bzw. 5. Passage mit CpGV-E2 für die selektierten Linien (W12 P10E2+P7E2) und (W16 P10S+P5E2), zeigte keinen wesentlichen Unterschied im Resistenzniveau gegenüber den beiden Referenzstämmen (W19 P10K, W19 P10E2 und W19 P10S), die parallel zur Selektion auf virusfreiem Medium gehalten wurden (Tabellen 6 und 7).

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen, konnte weder bei der AW-Linie P10E2 bei Fortführung der CpGV-E2 Selektion über insgesamt 17 Virus-Passagen noch bei der auf CpGV-S selektierten AW-Linie P10S nach fünf Virus-Passagen eine Resistenzbildung gegenüber dem sehr wirksamen Isolat CpGV-E2 (Genomgruppe B) beobachtet werden.

Tabelle 6: Mittlere letale Konzentrationen (LC50) der Nachkommen der mit CpGV-E2 selektierten Linie W12 P10E2+P7E2 und des Referenzstammes W19 P10K bzw. W19 P10E2, ermittelt in 14-Tage Biotests mit Eilarven (26 °C und Langtag) und CpGV-E2. Gegeben ist die Anzahl der getesteten Eilarven (N), die LC50-Werte mit den entsprechenden 95 % Vertrauensgrenzen, die Steigung und der Standardfehler der Probit-Geraden sowie die X<sup>2</sup>-Werte mit zugehörigen Freiheitsgraden (DF) berechnet in der Probit Analyse (ToxRat Solutions Standard Version 3.2).

Selektionslinie	N	Steigung (SE)	LC <sub>50</sub> [OB/ml] (95 % Vertrauensgrenzen)	X <sup>2</sup> (DF)
W19 P10K	774	1,72 (0,020)	1,05 x 10 <sup>3</sup> (0,85 - 1,28)	0,6 (4)
W19 P10E2	793	1,49 (0,017)	5,37 x 10 <sup>2</sup> (2,67- 8,84)	16,4 (6)
W12 P10E2+P7E2	1105	1,38 (0,012)	3,64 x 10 <sup>2</sup> (0,92 - 7,56)	41,5 (6)

Tabelle 7: Mittlere letale Konzentrationen (LC<sub>50</sub>) der Nachkommen der mit CpGV-E2 selektierten Linie W16 P10S+P5E2 und des Referenzstammes W19 P10K bzw. W19 P10S, ermittelt in 14-Tage Biotests mit Eilarven (26 °C und Langtag) und CpGV-E2. Gegeben ist die Anzahl der getesteten Eilarven (N), die LC<sub>50</sub>-Werte mit den entsprechenden 95 % Vertrauensgrenzen, die Steigung und der Standardfehler der Probit-Geraden sowie die X<sup>2</sup>-Werte mit zugehörigen Freiheitsgraden (DF) berechnet in der Probit Analyse (ToxRat Solutions Standard Version 3.2).

Selektionslinie	N	Steigung (SE)	LC <sub>50</sub> [OB/ml] (95 % Vertrauensgrenzen)	X <sup>2</sup> (DF)
W19 P10K	774	1,72 (0,020)	1,05 x 10 <sup>3</sup> (0,85 - 1,28)	0,6 (4)
W19 P10S	709	1,94 (0,025)	5,10 x 10 <sup>2</sup> (4,22- 6,08)	6,8 (4)
W16 P10S+P5E2	764	1,17 (0,017)	8,35 x 10 <sup>2</sup> (5,04 – 11,99)	1,52 (3)

### 3.3.1.4 Stabilität der CpGV-Resistenz von BW-HU-15 Most ohne Selektionsdruck

Der 2015 in Zucht genommene AW-Freilandstamm (BW-HU-15 Most) mit einer anfänglichen Kreuzresistenz gegenüber der Genomgruppe A und E, wurde über viele Generationen (F1-F54) hinweg regelmäßig auf seine Empfindlichkeit gegenüber den Virusisolaten CpGV-M und -S sowie gegenüber dem resistenzbrechenden, hoch wirksamen Isolat CpGV-E2 überprüft. Abbildung 17 zeigt die mittleren %-Mortalität des Stammes BW-HU-15 Most für verschiedene Generationen im Vergleich zum sensiblen Laborstamm CpS ermittelt in 14-Tage Biotests unter Verwendung der diskriminierenden Viruskonzentration von 5,8x10<sup>4</sup> OB/ml Medium. Hierbei zeigte sich das für BW-HU-15 Most ursprünglich ermittelte Resistenzniveau gegenüber CpGV-M und CpGV-S über mindestens 20 Generationen hinweg als stabil. Erst ab der 20. bis 30. Generation nahm die Mortalität kontinuierlich zu. Bereits ab der 41. Generation ohne Selektionsdruck erwies sich der Stamm BW-HU-15 Most nahezu gleich empfindlich gegenüber CpGV-M und -S wie der sensible Laborstamm CpS.

In früheren Untersuchungen mit einer in Zucht genommenen resistenten AW-Freilandpopulation (CpR) aus einer Problemanlage in Süddeutschland, die 1000-mal weniger empfindlich für CpGV-M war, blieb das Resistenzniveau ohne Virusdruck ebenfalls über etwa 30 Generationen stabil (Undorf-Spahn et al., 2012). Nach etwa 40 Generationen sank das Resistenzniveau um Faktor 10. Wenn Kohorten der Generationen F32 und F56 dieser Kolonie für fünf bzw. zwei Generationen auf CpGV-M selektiert wurden, stieg das Resistenzniveau sprunghaft auf mehr als das 1.000.000-fache an im Vergleich zum sensiblen Referenzstamm CpS.

Im vorab beschriebenen Selektionsexperiment mit dem CpGV-S und dem AW-Stamm BW-HU-15 Most war ebenfalls eine deutliche Erhöhung der Resistenz zu beobachten.

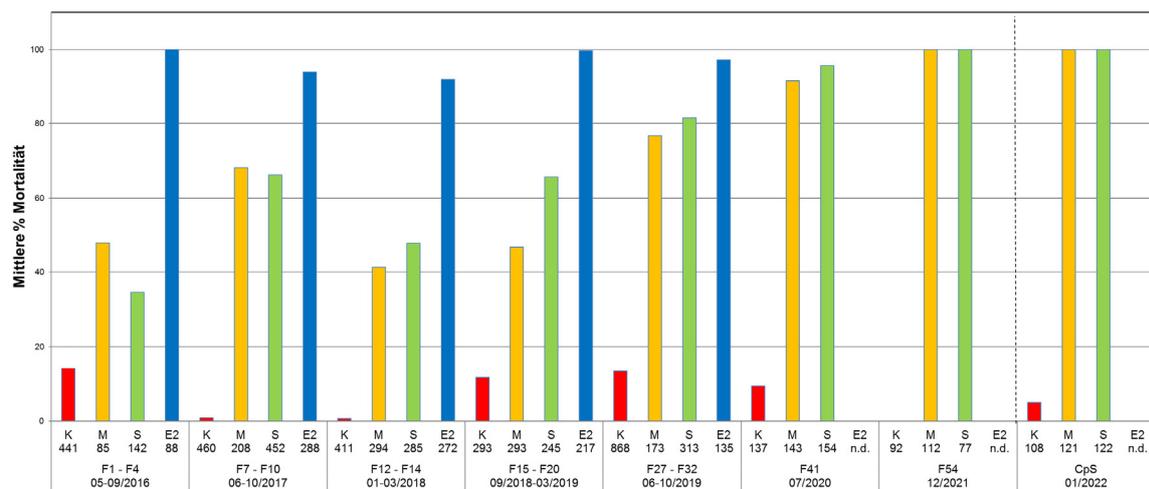


Abbildung 17: Stabilität der CpGV-S/M Resistenz des AW-Stammes BW-HU-15 Most über 54 Generationen (F1-F54) ohne Selektionsdruck. Mittlere %-Mortalität ermittelt in 14-Tage Biotests mit Eilarven und der diskriminierenden Virus-Konzentration ( $5,8 \times 10^4$  OB/ml Medium) von CpGV-M (M), -S (S) und E2 (E2). Als Referenzstamm diente der CpGV sensitive Laborstamm CpS. K symbolisiert die jeweils virusfreie Kontroll-Variante im Biotest. Die Zahlenwerte entsprechen der Anzahl getesteter Tiere pro Variante.

### 3.3.1.5 Stabilität der CpGV-Resistenz der Selektionslinie P10S ohne Virusdruck

Die Ergebnisse aus dem Selektionsexperiment hatten deutlich gezeigt, dass das Isolat CpGV-S (Genomgruppe E) ein hohes Potential zur Resistenzbildung besitzt. Um die Stabilität der Resistenz weiter zu verfolgen, wurde die über 10 Generationen unter kontinuierlichem Virusdruck selektierte AW-Linie P10S auf virusfreiem Medium über 24 Generationen weitergezüchtet (W1-W24) und die Tiere stichprobenartig einem full range-Bioassay zur LC50-Bestimmung unterzogen.

In der W2 bis W4 lag der LC50-Wert von  $1 \times 10^7$  OB/ml Medium und damit das Resistenzniveau relativ hoch. Nach weiteren 6-7 Generationen ohne Virusdruck verringerte sich der LC50-Wert ( $8,9 \times 10^4$  OB/ml Medium) bereits um mehr als Faktor 100 und war nach insgesamt 24 Generationen vergleichbar mit dem LC50-Wert ( $2,6 \times 10^3$  OB/ml Medium) des Referenzstammes BW-HU-15 Most (F31-41), der kontinuierlich auf virusfreiem Medium gezüchtet wurde (Abbildung 18).

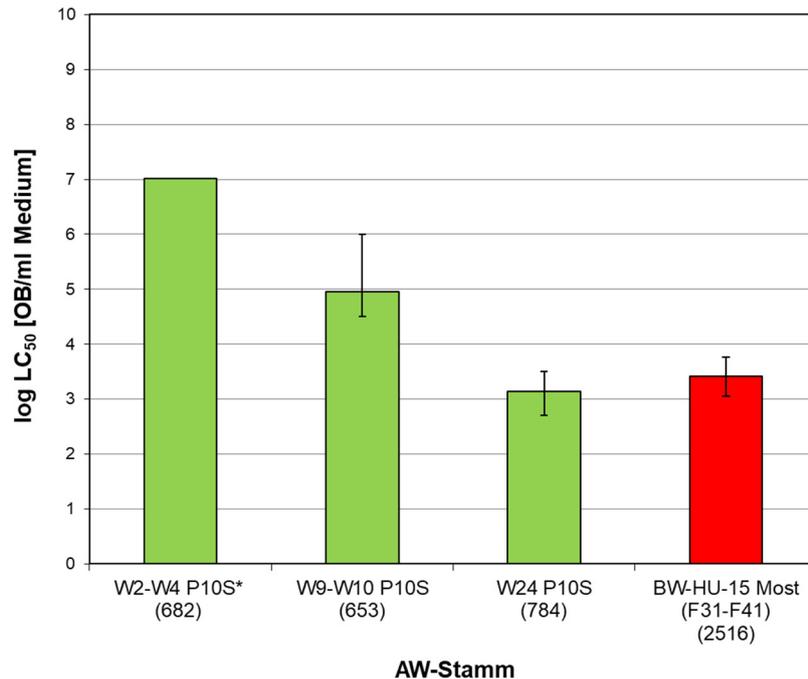


Abbildung 18: Stabilität der S-Resistenz der Selektionslinie P10S bei anschließender Weiterzucht ohne Virusdruck über 24 Generationen (W1-W24) im Vergleich zum Referenzstamm BW-HU-15 Most getestet in der F31-F41. Die vertikalen Linien entsprechen dem 95 % Vertrauensbereich der LC50-Werte aus 14-Tage Biotests mit Eilarven. \* bedeutet keine gesicherte Regression der Dosis-Wirkungskurve. Die Zahlen in Klammern entsprechen der Anzahl Tiere im Versuch.

### 3.3.2 B) Untersuchungen zur vertikalen Transmission von CpGV beim Apfelwickler

Die systematischen Untersuchungen zur vertikalen Transmission von CpGV bei vorausgegangener Virus-Exposition wurden mit Tieren aus dem Generationsexperiment und aus einer AW-Freilandpopulation (BW-HU-19/20 Most) mit dokumentierter Behandlungshistorie durchgeführt. Der Nachweis von CpGV erfolgte mittels PCR-Analysen nach der Methode von Fan (2019) unter Verwendung spezifischer DNA-Primer (pe38 S/M-Primer bzw. E2-Primer), die am JKI Darmstadt entwickelt wurden und der molekularen Unterscheidung von CpGV-Isolaten der Genomgruppen A, B und E dienen. Für die PCR-Tests wurde mit dem entsprechenden Oligonukleotid-Primern eine Sensitivitätsgrenze von 5 bis 1 pg DNA ermittelt (Yang, unveröffentlichte Daten).

#### 3.3.2.1 Selektionsexperiment

Labortiere von BW-HU-15 Most, die im Rahmen des Generationsexperiments über 10 Passagen unter Virusdruck mit CpGV-M, -S und -E2 selektiert wurden, wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten stichprobenartig analysiert. Die Untersuchungen wurden sowohl an toten bzw. virösen Tieren als auch an visuell gesunden, lebenden Tieren unterschiedlicher Entwicklungsstadien vorgenommen. Nach Abschluss der 10. Virus-Passage wurden alle Selektionslinien sowie der Referenzstamm P10K auf virusfreiem Medium über mehrere Generationen weitergezüchtet (W1-W24). Hieraus wurden ebenfalls Stichproben entnommen und auf das Vorhandensein von CpGV-DNA untersucht.

### 3.3.2.1.1 PCR-Analysen des Referenzstammes BW-HU-15 Most (PK)

Der im Selektionsversuch verwendete Laborstamm BW-HU-15 Most wurde während des Experiments kontinuierlich auf virusfreiem Medium weitergezüchtet und diente gleichzeitig als Referenzstamm (PK) zu den verschiedenen Selektionslinien (PM, PS, PE2, PS/E2 (1:1) und PS/E2 (2:2)). PCR Analysen von Stichproben dieses Referenzstammes, die sowohl zu Beginn des Versuches (P0) als auch über weitere 20 Generationen (P5, P10, W5 und W10) hinweg an lebenden Tieren verschiedener Entwicklungsstadien (Larven, Puppen und Falter) unternommen wurden, zeigten, dass die Tiere subletal mit CpGV der Genomgruppen A, B und E infiziert waren. Der Anteil an CpGV positiv getesteten Individuen lag hier bei 34 %, wobei alle Entwicklungsstadien betroffen waren und in einigen Tieren sogar Mischungen aus verschiedenen CpGV-Isolaten nachweisbar waren (Tabelle 8).

Tabelle 8: PCR-Analyse lebender Tiere verschiedener Entwicklungsstadien (Larven (L), Puppen (P), Falter (F)) aus dem Generationsversuch der Kontroll-Linie PK ohne Virusdruck mittels PCR-Test unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R). Stichproben aus der Laborzucht des Test-Stammes BW-HU-15 Most (F28) zu Beginn der Selektion (P0 K) und aus der 5. bzw. 10. Passage (P5K, P10K) sowie aus der 5. und 10. Generationen der Weiterzucht auf virusfreiem Medium (W5 P10K, W10 P10K). (S/E2) steht für den Nachweis eines oder beider Isolate.

Selektionslinie	CpGV negativ	CpGV positiv	CpGV-S	CpGV-M	CpGV-E2	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert (L/P/F)
P0 K BW-HU-15 Most (F28)	2	-	-	-	5	3 (M+E2)	10L
P5 K	10	-	-	-	-	-	5L+5P
P10 K	9	1 (S/E2)	-	-	-	-	10F
Summe	21	1	-	-	5	3	30
<b>Weiterzucht</b>							
W5 P10 K	-	1 (S/E2)	-	-	2	2 (S+E2)	5L
	3	-	-	-	2	-	5P
W10 P10 K	9	1 (S/E2)	-	-		-	10F
Summe	12	2	-	-	4	2	20

Bei Untersuchungen an toten bzw. virösen Larven (N=64) des Referenzstammes P10K, die in der Weiterzucht (W1-W6 P10 K) spontan auftraten, waren etwa 80 % der Stichproben CpGV positiv mit einem Anteil von mehr als 70 % des sehr wirksamen, resistenzbrechenden Isolates CpGV-E2 (Genomgruppe B) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) in toten/virösen Larven aus dem Generationsversuch der Kontroll-Linie PK mittels PCR-Test unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R). Stichproben aus der Laborzucht des AW-Stammes BW-HU-15 Most (F28) zu Beginn des Selektionsexperiments (P0 K) und aus der Weiterzucht W1-W6 (6 Generationen auf virusfreiem Zuchtmedium) von P10K. (S/E2) bzw. (M/S/E2) steht für den Nachweis eines oder beider Isolate.

Selektionslinie	CpGV negativ	CpGV positiv	CpGV-S	CpGV-M	CpGV-E2	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert (tot/virös)
P0 K BW-HU-15 Most (F28)	-	-	-	1	-	1 (S+E2)	2
Weiterzucht							
W1 P10K	10	1 (M/S/E2)	-	-	-	-	11
W2 P10K	-	1 (S/E2)	-	-	1	-	2
W3 P10K	2	-	-	2	3	-	7
W4 P10K	-	-	-	-	1	-	1
W5 P10K	-	10 (M/S/E2)	-	-	11	-	21
W6 P10K	1	1 (S/E2)	-	-	20	-	22
Summe	13	13	-	2	36	-	64

### 3.3.2.1.2 PCR-Analysen toter/viröser Larven der Selektionslinien unter Virusdruck

In Stichproben toter bzw. viröser Larven, die direkt aus den Viruspassagen der Selektionslinien PM, PS und PE2 entnommen und analysiert wurden, dominierte das jeweils verabreichte Virusisolat. Neben dem Inokulum Isolat konnten jedoch in einigen Individuen auch Mischungen von CpGV mit den beiden anderen Genomgruppen identifiziert werden (Tabelle 10). Dies scheint erklärbar, da die Ausgangspopulation (BW-HU-15 Most) bereits subletal infiziert war und DNA der Genomgruppen A, B und E nachgewiesen werden konnten (siehe Tabelle 1.7). In den Selektionslinien, bei denen CpGV-S und -E2 im Wechsel verabreicht wurden, dominierte in den positiv getesteten Stichproben das CpGV-E2. Virale DNA der Genomgruppe A war in allen Selektionslinien, bei denen CpGV-E2 verabreicht wurde, nicht nachweisbar.

Des Weiteren wurden nach der 10. Passage von allen Selektionslinien die Nachkommen der ersten Generation (W1) auf virusfreiem Medium ebenfalls analysiert. In Stichproben toter bzw. viröser Larven nahezu aller Selektionslinien (mit Ausnahme der Selektionslinie P10M), wurde überwiegend das hoch wirksame CpGV-E2 nachgewiesen. Auch hier spielt die vertikale Virusübertragung eine Rolle und es zeigte sich erneut, dass bei der Reaktivierung latent vorhandener Viren, die durch äußerliche oder physiologische Stressfaktoren bedingt sein kann, das hoch virulente CpGV-E2 repliziert wurde.

Bei den Nachkommen (W1) der Selektionslinie P10M waren 6 von 10 analysierten virösen Larven CpGV-M positiv. Die vertikale Übertragung des Inokulumisolates auf die Nachkommen erscheint hier äußerst wahrscheinlich.

Tabelle 10: Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) in toten/virösen Larven aus dem Generationsversuch der Selektionslinie PM, PS, PE2, PS/E2 (1:1) und PS/E2 (2:2) mittels PCR-Test unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R). Stichproben aus den Virus-Passagen P1, P5 und P10 mit 300 OB/ml Medium und aus der ersten Generation der Weiterzucht (W1) auf virusfreiem Zuchtmedium. (S/E2) bzw. (M/E2) steht für den Nachweis eines oder beider Isolate

Selektionspassage	CpGV negativ	CpGV positiv	CpGV-S	CpGV-M	CpGV-E2	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert (tot/virös)
<b>CpGV-M</b>							
P1 M (300 OB/ml)	-	-	-	3	-	-	3
P5 M (300 OB/ml)	2	1 (S/E2)	-	-	1	1 (S+E2)	5
P10 M (300 OB/ml)	2	-	-	3	-	-	5
Summe	4	1	-	6	1	1	13
W1 P10 M	4	-	-	6	-	-	10
<b>CpGV-S</b>							
P1 S (300 OB/ml)	6	-	4	-	-	-	10
P5 S (300 OB/ml)	2	2 (S/E2)	1	-	-	-	5
P10 S (300 OB/ml)	1	1 (M/E2)	1	-	4	1(S+M) 3 (S+E2)	11
Summe	9	3	6	-	4	4	26
W1 P10 S	-	-	-	-	11	-	11
<b>CpGV-E2</b>							
P1 E2 (300 OB/ml)	-	-	-	-	5	-	5
P5 E2 (300 OB/ml)	1	-	-	-	2	2 (S+E2)	5
P10 E2 (300 OB/ml)	-	-	-	-	-	5 (S+E2)	5
Summe	2	-	-	-	13	-	15
W1 P10E2	1	-	1	-	8	-	10
<b>CpGV-S/E2 (1:1)</b>							
P2 S/E2 (1:1) (300 OB/ml)	4	-	-	-	1	-	5
P5 S/E2 (1:1) (300 OB/ml)	2	-	1	-	1	2 (S+E2)	6
P10 S/E2 (1:1) (300 OB/ml)	3	-	-	-	-	2 (S+E2)	5
P10 S/E2 (1:1) (300 OB/ml)	-	-	-	-	5	-	5
Summe	9	-	1	-	7	4	21
W1 P10 S/E2 (1:1)	-	-	-	-	10	-	10
<b>CpGV-S/E2 (2:2)</b>							
P5 S/E2 (2:2) (300 OB/ml)	1	1 (S/E2)	-	-	1	2 (S+E2)	5
P10 S/E2 (2:2) (300 OB/ml)	1	-	1	-	1	2 (S+E2)	5
Summe	2	1	1	-	2	4	10
W1 P10S/E2 (2:2)	2	-	-	-	8	-	10

### 3.3.2.1.3 PCR-Analyse lebender Nachkommen (Larven, Falter, Puppen) der Selektionslinien auf virusfreiem Medium

Als Nachweis für eine vertikale Transmission des CpGV wurden zudem gesund erscheinende, lebende Nachkommen aus dem Selektionsexperiment untersucht. Hierfür wurden von jeder Selektionslinie ein Teil der Eilarven aus der 5. (P5) bzw. 10. Passage (P10) auf virusfreiem Futter bis zum Adult-Stadium aufgezogen und davon Stichproben gesunder Tiere im 5. Larvenstadium, als Puppen und als Falter entnommen (W1 nach P5 und W1 nach P10). Darüber hinaus wurden nach Vollendung der 10. Passage alle Selektionslinien auf virusfreiem Medium im Labor bei 26 °C und Langtag weiter gezüchtet. Aus dieser Weiterzucht wurden nach der 5. bzw. 10. Generation (W5 nach P10 und W10 nach P10) erneut Proben entnommen und analysiert (Tabelle 11).

Unabhängig von der jeweiligen Selektionslinie wurden CpGV-DNA in allen Entwicklungsstadien (Falter, Puppen und Larven) der Tiere nachgewiesen, wobei häufig Mischungen aus CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) vorkamen.

Innerhalb der verschiedenen Selektionslinien variierten in Summe die nachweislichen Übertragungsanteile von CpGV auf die Nachkommen zwischen 7,5 und 40 %, was bei einer Zusammenstellung der Ergebnisse in Tabelle 12 sichtbar wird. Auffällig war zudem, dass für den Referenzstamm (PK) mit 22,5 % CpGV positiver Stichproben, ähnlich hohe Anteile nachgewiesen wurden, wie mitunter bei den Selektionslinien.

Innerhalb der ersten Generation (W1) auf virusfreiem Medium nach 5 bzw. 10 Passagen mit CpGV (W1 P5 bzw. W1 P10) war der Anteil CpGV positiv getesteter Tiere (8,3 % bzw. 28,7 %) vergleichbar mit dem Ergebnis (26,7 % bzw. 11,2 %) der Tiere, die bereits über mehrere Generationen in Folge (W5 P10 bzw. W10 P10) ohne Virusdruck gehalten wurden. Demnach können subletale Infektionen stabil innerhalb der Population persistieren, wie die Untersuchungen des Laborstammes BW-HU-15 Most (=PK) ebenfalls gezeigt haben.

Von insgesamt 250 untersuchten Tieren konnten unter den gegebenen Versuchsbedingungen in 48 Tieren (19,2 %) CpGV-DNA nachgewiesen werden.

Tabelle 11: PCR-Analyse lebender Nachkommen verschiedener Entwicklungs-Stadien (L=Larven, P=Puppen, F=Falter) aus jeweils der 5. (P5) und 10. Passage (P10) der verschiedenen Selektionslinien PM, PS, PE2, PS/E2 (1:1) und PS/E2 (2:2) bei Weiterzucht auf virusfreiem Medium über 1, 5 und 10 Generationen (W1, W5 und W10). Der Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) erfolgte unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R). (S/E2) steht für den Nachweis eines oder beider Isolate.

Selektionslinie	CpGV negativ	CpGV positiv	CpGV-S	CpGV-M	CpGV-E2	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert (L/P/F)
<b>CpGV-M</b>							
W1 P5M	8	1 (S/E2)	-	-	1	-	5L+5F
W1 P10M	8	1 (S/E2)	-	-	1	-	5L+5F
W5 P10M	7	1 (S/E2)	-	-	2	-	5L+5F
W10 P10M	10	-	-	-	-	-	10F
Summe	23	3	-	-	4	-	40
<b>CpGV-S</b>							
W1 P5S	10	-	-	-	-	-	5L+5F
W1 P10S	9	1 (S/E2)	5	-	-	-	5L+10F
W5 P10S	10	-	-	-	-	-	5L+5F
W10 P10S	10	-	-	-	-	-	10F
Summe	39	1	5	-	-	-	45
<b>CpGV-E2</b>							
W1 P5E2	8	1 (S/E2)	-	-	1	-	5L+5P
W1 P10E2	9	1 (S/E2)	-	-	-	-	10F
W5 P10E2	10	-	-	-	-	-	5L+5F
W10 P10E2	10	-	-	-	-	-	10F
Summe	37	2	-	-	1	-	40
<b>CpGV-S/E2 (1:1)</b>							
W1 P5 S/E2 (1:1)	10	-	-	-	-	-	5L+5F
W1 P10 S/E2 (1:1)	10	-	2	-	-	3 (S+M)	15F
W5 P10 S/E2 (1:1)	5	-	-	5	-	-	5L+5F
W10 P10 S/E2 (1:1)	7	2 (S/E2)	-	-	1	-	10F
Summe	32	2	2	5	1	3	45
<b>CpGV-S/E2 (2:2)</b>							
W1 P5 S/E2 (2:2)	9	-	-	-	1	-	5L+5P
W1 P10 S/E2 (2:2)	5	3 (S/E2)	-	-	2	-	10L
W5 P10 S/E2 (2:2)	9	1 (S/E2)	-	-	-	-	5L+5F
W10 P10 S/E2 (2:2)	7	1 (S/E2)	-	-	2	-	10F
Summe	30	5	-	-	5	-	40

Tabelle 12: Prozentualer Anteil an CpGV positiv getesteter lebender Nachkommen aus den Selektionslinien PM, PS, PE2, PS/E2 (1:1), PS/E2 (2:2) und des Referenzstammes PK bei einmaliger Exposition auf virusfreiem Medium nach der 5. und 10. Passage auf CpGV (W1 P5, W1 P10) sowie nach weiteren 5 bzw. 10 Generationen in der Weiterzucht auf virusfreiem Zuchtmedium (W5 P10 bzw. W10 P10). Der Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) erfolgte unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R). N gibt die Anzahl der analysierten Tiere an.

Selektionslinie	% Anteil CpGV positiv getesteter Tiere				% Summe (N)
	W1 P5 (N)	W1 P10 (N)	W5 P10 (N)	W10 P10 (N)	
PK	0,0 (10)	10,0 (10)	70,0 (10)	10,0 (10)	22,5 (40)
PM	20,0 (10)	20,0 (10)	30,0 (10)	0,0 (10)	17,5 (40)
PS	0,0 (10)	40,0 (15)	0,0 (10)	0,0 (10)	13,3 (45)
PE2	20,0 (10)	10,0 (10)	0,0 (10)	0,0 (10)	7,5 (40)
PS/E2 (1:1)	0,0 (10)	33,3 (15)	50,0 (10)	30,0 (10)	40,0 (45)
PS/E2 (2:2)	10,0 (10)	50,0 (10)	10,0 (10)	30,0 (10)	25,0 (40)
% Summe (N)	8,3 (60)	28,7 (70)	26,7 (60)	11,2 (60)	19,2 (250)

### 3.3.2.2 AW-Freilandpopulation (BW-HU-19/20 Most)

In einer süddeutschen Mostapfelanlage wurden im Herbst 2019 Diapausetiere gesammelt (siehe Teilprojekt 2). Diese Apfelanlage blieb im Sammeljahr unbehandelt, wurde jedoch in den Jahren zuvor mit verschiedenen CpGV-Präparaten behandelt. Im Jahr 2018 wurde hier das Versuchspräparat ABC V14 (100 % CpGV der Genomgruppe B) gespritzt, 2017 wurde mit Madex® TOP (9 % Genomgruppe A, 40 % E und 51 % B) behandelt und weitere Jahre zuvor kam das Präparat Madex® MAX (33 % Genomgruppe A und 67 % E) zum Einsatz. Im Herbst 2020 wurde in der gleichen Anlage, nachdem sie zwei Jahre in Folge unbehandelt blieb, ein weiteres Mal gesammelt.

Ein Teil der gesammelten Diapausetiere wurde jeweils direkt analysiert und die übrigen Tiere zwecks Überwinterung bei 4° C/dunkel gehalten bis ins nächste Frühjahr. Die hieraus jeweils resultierenden Tiere der Folgegeneration (BW-HU-19 Most F1 nach Diapause (n. D.) 19/20 bzw. BW-HU-20 Most F1 n. D 20/21) wurden ebenfalls analysiert, um den Einfluss äußerer Faktoren wie Abdrift von Spritzaerosolen oder Zuflug von Apfelwicklern in die bestehende Population ausschließen zu können. Gelingt der Nachweis latenter Virus-DNA in den Tieren der F1-Generationen, so ist eine Übertragung der Viren von der Elterngeneration auf die Nachkommen als sehr wahrscheinlich einzuschätzen. Die Ergebnisse der PCR Analysen sind in Tabelle 13 und Tabelle 14 zusammengestellt, wobei verschiedene Entwicklungsstadien der Testtiere untersucht wurden.

Bei der stichprobenartigen PRC-Analyse der Diapausetiere, gesammelt 2019 in einer unbehandelten Mostobstanlage in Süddeutschland (BW-HU-19 Most), konnte von insgesamt 83 analysierten Tieren in 64 (77,1 %) CpGV nachgewiesen werden, wobei alle Entwicklungsstadien (Falter, Puppen, Diapauselarven) und auch tote Larven betroffen waren. Zudem wurden in allen Stichproben Mischungen aus CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) diagnostiziert, die identisch sind mit den wirksamen Bestandteilen der Präparate, die in den Vorjahren zur Regulierung des Apfelwicklers in der gegenwärtigen Anlage zum Einsatz kamen.

Auch in der Folgegeneration (BW-HU-19 Most F1 n. D. 19/20), die unter Laborbedingungen generiert wurde, waren 57 % der analysierten Tiere (N=21) CpGV-positiv mit DNA von CpGV-M, -S und -E2 (Tabelle 13).

Tabelle 13: PCR-Analyse von Diapausetieren, die 2019 in einer unbehandelten Mostobstanlage (BW-HU-19 Most (F2)) gesammelt wurden und deren Nachkommen nach Überwinterung und anschließender Weiterzucht im Labor (BW-HU-19 F1 n. D. 19/20). Der Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) erfolgte mittels PCR-Test unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R) in unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Testtiere

Stadium	CpGV negativ	CpGV-S	CpGV-M	CpGV-E2	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert
BW-HU-19 Most (F2)						
Tote Larven	5	-	-	-	17 (M+S+E2) 1 (E2+S)	23
Diapauselarven lebend	5	-	-	-	1 (M+S) 3 (M+E2) 1 (E2+S) 16 (M+S+E2) 2 (S+E2/M)	28
Puppen	4	-	-	-	11 (M+S+E2) 1 (M+S)	16
Falter	5	-	-	-	1 (M+E2) 10 (M+S+E2)	16
Summe	19	0	0	0	64	83
BW-HU-19 Most F1 n. D. 19/20						
Larven lebend	8	-	-	-	11 (E2+S)	19
Falter	-	-	-	-	2 (M+S+E2)	2
Summe	8	0	0	0	12	21

Bereits im Jahr 2017 konnten in AW-Larven aus einer anderen einmalig unbehandelten Anlage (BW-FI) die CpGV-Isolate, die in den Vorjahren zum Einsatz kamen, nachgewiesen werden (vergl. AP5), was als Hinweis auf eine Viruslatenz in der AW-Population gewertet wurde.

Im Sammeljahr 2020, als die Mostanlage zwei Jahre in Folge unbehandelt blieb, war der Anteil an CpGV positiv getesteten Tieren mit 27,5 % zwar niedriger, aber in der Folgegeneration (BW-HU-20 F1 n. D. 20/21) wurde in 18 von insgesamt 20 untersuchten Tieren CpGV nachgewiesen (Tabelle 14).

Da in den untersuchten Freilandtieren neben dem CpGV-E2 (Genomgruppe B) auch CpGV-Isolate der Genomgruppen A und E nachgewiesen wurden und diese identisch sind mit den wirksamen Bestandteilen der Präparate, die in den Vorjahren zur Regulierung des Apfelwicklers in der gegenwärtigen Anlage zum Einsatz kamen, scheint hier die vertikale Virusübertragung von Eltern auf die Nachkommen eine Rolle zu spielen, die als dauerhafte, subletale Infektion diskutiert wird (Burden et al. 2002).

Tabelle 14: PCR-Analyse von Diapausetieren, die 2020 in einer unbehandelten Mostobstanlage (BW-HU-20 Most (F2)) gesammelt wurden und deren Nachkommen nach Überwinterung und anschließender Weiterzucht im Labor (BW-HU-20 F1 n. D. 20/21). Der Nachweis von CpGV der Genomgruppen A (CpGV-M), B (CpGV-E2) und E (CpGV-S) erfolgte mittels PCR-Test unter Verwendung spezifischer DNA-Primer Paare (pe38-F/R, pac1-F/R und orf47-48-F/R) in unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Testtiere.

Stadium	CpGV negativ	CpGV-M	CpGV-S	CpGV-E2	E2 und/oder S	CpGV-Mix	Anzahl Tiere analysiert
BW-HU-20 (F2)							
Tote Larven	12	-	8	-	4		24
Diapauselarven ♂	10	-	-	-	-	-	10
Diapauselarven ♀	9	-	-	-	-	1 (E2+S)	10
Diapauselarve	-	-	-	-	-	1 (E2+S)	1
Puppen	13	-	-	1	-	1 (E2+S)	15
Falter	14	-	-	2	2	2 (E2+S)	20
Summe	58	0	8	3	6	5	80
BW-HU-20 F1 n. D. 20/21							
Larven lebend ♂	1	-	-	-	-	9 (E2+S)	10
Larven lebend ♀	1	-	-	-	-	9 (E2+S)	10
Summe	2	0	0	0	0	18	20

### 3.4 AP 4: A) Verbesserung der Wirkung des CpGV durch Zusätze: z.B. Modulierung des Mitteldarmbioms durch Hefen, Testung im Labor und im Freiland und B) Wechselwirkungen mit anderen Mitteln

#### 3.4.1 A) CpGV-Wirkungsverbesserung durch Hefen

Da die Resistenz gegenüber dem resistenzbrechenden CpGV-S auf eine Veränderung im Mitteldarm zurückzuführen ist, sollte überprüft werden, ob bereits für die Regulierung von Lagerkrankheiten und Feuerbrand zugelassene Präparate auf Basis von *Aureobasidium pullulans* die Wirkung des CpGV positiv beeinflussen können. Ziel war es, Aufschluss darüber zu erhalten, ob Hefen durch eine Modulierung des Darmmikrobioms die Empfindlichkeit des Apfelwicklers gegenüber CpGV erhöhen und damit ein weiterer Baustein für das Resistenzmanagement zur Verfügung steht.

##### 3.4.1.1 Versuche im Labor

Für diese Untersuchung wurden Laborversuche durchgeführt, in denen Larven (L1) eines resistenten AW-Stammes (CpR5M) Hefepreparate in Kombinationen mit dem Reinisolat CpGV-S, in einer Praxis üblichen sowie einer 10-fach höheren Konzentration, über das Futter verabreicht wurden. Als Maß für die Virusaktivität diente die Sterblichkeit der Versuchstiere, ermittelt nach 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag.

Potenzielle positive Effekte von zwei Zusatzstoffen auf der Basis von Hefen, die in Präparaten zur Regulierung von Lagerkrankheiten und Feuerbrand zugelassen sind, auf die Aktivität des CpGV, konnten in den Versuchen nicht nachgewiesen werden. Diese Beobachtung ist jedoch nur bedingt aussagekräftig, da eine negative Wirkung des Larvenfutters, das Antibiotika und Fungistatika enthält, auf die Aktivität der Hefen nicht ausgeschlossen werden konnte. Trotz zahlreicher Vorversuche konnte kein experimenteller Ansatz gefunden werden, um die Wirkung der Hefepräparate zu überprüfen. Die Laborversuche wurden daher nicht fortgeführt.

### 3.4.1.2 Versuche im Freiland

Im Jahr 2018 wurde das Hefepräparat (*A. pullulans*) auch im Freiland an zwei Standorten in der Regionen Süd und West getestet. Verglichen wurde in der zweiten Generation des Apfelwicklers die Behandlung mit Hefe und CpGV mit einer reinen CpGV-Behandlung. Dafür wurde von der Firma Bio-Protect GmbH ein unformuliertes Präparat zur Verfügung gestellt, um Effekte der Formulierung (z.B. Fraß-Stimulans durch enthaltene Zucker) zu verhindern.

Tabelle 15: Ergebnisse der Fruchtbonitur am 17.8.2018 in den Varianten mit und ohne Zusatz eines Präparates auf der Basis von *A. pullulans* im Betrieb BW-HU.

Varian- te	Spritzplan vor Applikation Hefe	Spritzplan ab erster Anwendung Hefe	Art der Bonitur und ggf. Bemerkungen	Anzahl Früchte bonitiert/ ausgewertet	Anteil abgestopp- ter Befall in %	Anteil lebende Larven in %
mit Hefe- zusatz	Jeweils ABC V14 100 ml am 29.5., 11.6., 20.6., 29.6., 7.7., 17.7.18	ABC V14 jeweils 100 ml plus Hefe am 1.8., 9.8., 16.8., danach ABC V14 100 ml alleine am 22.8.2018	Bonitur 1200 zufällig ausgewählte Früchte am Baum auf Befall	1200	64,3	35,7
			Zusätzliche Bonitur gesammelte Früchte auf abgestoppten oder aktiven Befall	28	67,9	32,1
			Summe alle Bonituren befallener Früchte gesamt	42	66,7	33,3
ohne Hefe- zusatz	dto.	dto ohne Hefe	Bonitur 1350 zufällig ausgewählte Früchte am Baum auf Befall	1350	75,0	25,0
			Zusätzliche Bonitur gesammelte Früchte auf abgestoppten oder aktiven Befall	17	70,6	29,4
			Summe alle Bonituren befallener Früchte gesamt	41	73,2	26,8

Der Versuch in der Region Süd erfolgte in einer Mostobstanlage des Betriebes BW-HU, bei der zumindest ein gewisser Befall erwartet wurde. In den anderen Anlagen war aufgrund des Ertragsausfalls von 2017 nur mit sehr wenig Befall zu rechnen. Appliziert wurde während des Schlupfes der zweiten Generation des Apfelwicklers.

Verglichen wurde nicht die Höhe des Befalls sondern der Prozentsatz abgestoppten Befalls bzw. noch lebender Larven. Da der Befall insgesamt relativ niedrig war, wurden zusätzlich in der gesamten Anlage befallene Früchte abgesammelt und auf aktiven Befall untersucht. Es konnte aber kein Unterschied bezüglich des Anteils an aktivem Befall zwischen der zusätzlich

mit Hefe behandelten Variante und der Kontrollparzelle festgestellt werden (Tabelle 15). Im Spätsommer 2018 war es extrem heiß und trocken und auch eine sehr hohe Sonneneinstrahlung herrschte und somit eine schnelle Inaktivierung des CpGV-Präparates erfolgt sein könnte.

Der Versuch mit *Aureobasidium pullulans* wurde in den Folgejahren wegen der unwägbaren technischen Schwierigkeiten nicht wiederholt.

### 3.4.2 B) CpGV-Mischbarkeit mit anderen Präparaten

Da das CpGV bei sehr hohen und niedrigen pH-Werten instabil ist, sind für die Praxisanwendung von Viruspräparaten Kenntnisse potenziell negativer Effekte organischer bzw. anorganischer Mittel, die zur Pilzbekämpfung eingesetzt werden, von großer Bedeutung. Diese Mittel werden häufig in Tankmischungen bzw. zeitnah mit CpGV-Präparaten ausgebracht.

#### 3.4.2.1 Cu-Ersatzstoffe (Pelargonsäure)

Aufgrund der Entwicklung neuer Cu-Ersatzstoffe (Pelargonsäure, Süssholzextrakt, Lärchenextrakt) stellte sich in der Praxis im Kontext des Virulenzmanagements die Frage nach deren Wirkung auf das CpGV. Für einen der neuen Cu-Ersatzstoffe wurde daher die Mischbarkeit mit dem CpGV mittels standardisierter Laborexperimente nach einer Methode von Fritsch et al. (2008) untersucht.

In den Mischversuchen wurde die Wirkung eines Schorffungizids auf Basis von Pelargonsäure (NEU 1143 F) auf das Virusreinisolat CpGV-S bei 4 h Einwirkzeit im Bioassay mit L1-Larven des empfindlichen AW-Laborstammes CpS überprüft. Die Konzentration des Fungizids entsprach der Aufwandmenge in der Praxis und für das CpGV-S wurden zwei unterschiedliche Viruskonzentrationen gewählt, die im Bioassay nach 14 Tagen eine Mortalität von <90 % hervorrufen. Als Referenz wurde eine Wasser-Suspension des CpGV-S ebenfalls 4 h bei Raumtemperatur inkubiert.

Die für die unterschiedlichen Viruskonzentrationen ermittelten Mortalitätswerte nach 7 und 14 Tagen zeigt Abbildung 19. Als Kontrolle wurden Wasser und Fungizid direkt in das Bioassay-Medium eingerührt, beides hatte keinen Effekt auf die Sterblichkeit der Versuchstiere. Die für die Fungizid/Virus Mischungen ermittelten Mortalitätswerte unterschieden sich nicht signifikant von denen der Virus/Wasser Suspensionen, bei unterschiedlicher Viruskonzentration. Unter den gewählten Bedingungen wurde die Aktivität des CpGV in Mischungen mit dem Schorffungizid nicht vermindert. Dieses Ergebnis war zu erwarten, denn für das Fungizid wurde ein pH-Wert im neutralen Bereich von pH 7 gemessen. Aus der Literatur ist bekannt, dass ein Milieu von pH 7-8 stabilisierend auf Baculoviren wirkt, während eine Verschiebung der pH-Bedingungen, sowohl in den stark alkalischen (pH>11) als auch sauren Bereich (pH<3) zur Inaktivierung führt (Krieg, 1973). Auch frühere Mischbarkeitstests mit dem CpGV zeigten für Präparate, die sich in Lösung neutral verhalten, bei 4- und 12-stündiger Einwirkzeit keine negative Wirkung auf das CpGV (Fritsch et al., 2011 und 2014).

Für die Praxis bedeutet das Ergebnis des Mischversuchs, dass bei der Verwendung des Schorffungizids auf Basis von Pelargonsäure zusammen mit dem CpGV in Tankmischungen kein direkter Effekt auf die Virusaktivität zu erwarten ist.

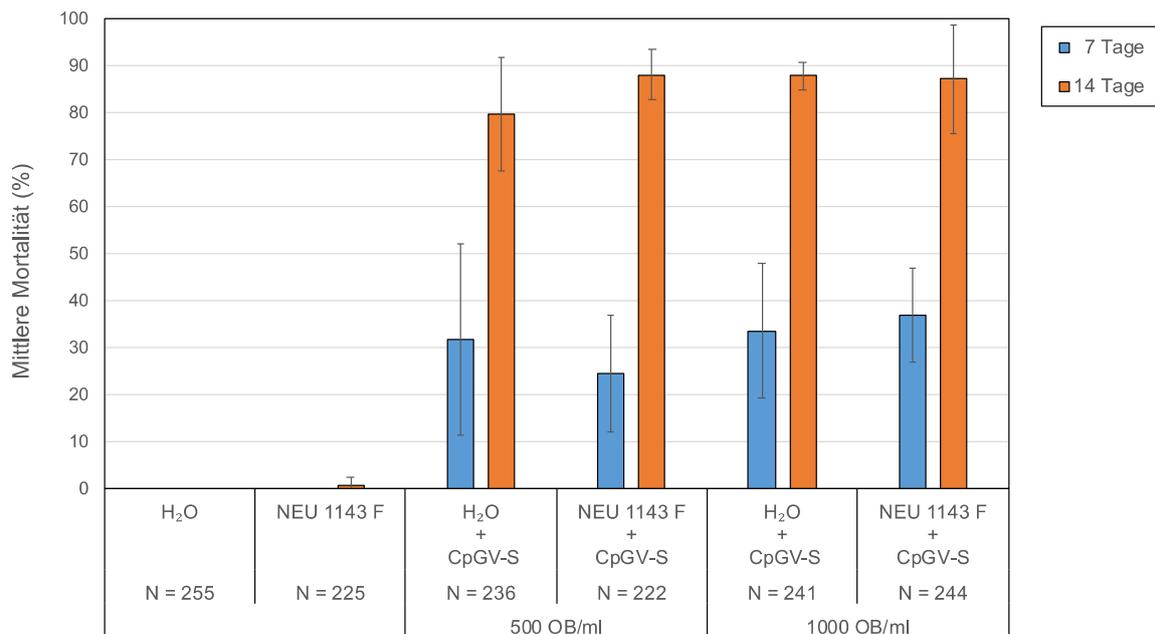


Abbildung 19: Aktivitätsvergleich einer Mischung des Schorffungizids (Neu 1143 F), Aufwandmenge entspricht 10 l/250 l Wasser pro mKh, mit dem Reinisolat CpGV-S, Konzentration 500 OB/ml und 1000 OB/ml, und einer CpGV/Wasser-Suspension nach einer Einwirkzeit von 4 h bei Raumtemperatur, ermittelt mit L1-Larven des AW-Laborstammes CpS. Wasser und Neu 1143 F wurden im Bioassay direkt eingesetzt. Die Bonitur der Larvenmortalität erfolgte nach 7 und 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag. Die LC50-Mittelwerte wurden in drei unabhängigen Replikaten ermittelt. Die vertikalen Linien stellen die jeweilige Standardabweichung dar.

### 3.4.2.2 Schwefelkalk (Curatio)

Beobachtungen aus der Praxis in Österreich lassen vermuten, dass möglicherweise Spritzbeläge von CpGV durch die anschließende Applikation von Schwefelkalkbrühe, die gegen Schorf in den Apfelanlagen eingesetzt wird, inaktiviert werden oder zumindest die Wirkung reduziert wird. Dies könnte eine Wirkungsreduktion zur Folge haben und damit verbunden zu vermehrten Resistenzproblemen führen. Bereits frühere Untersuchungen zur Mischbarkeit des CpGV mit im Apfelanbau eingesetzten Substraten zeigten, dass das Virus in Tankmischungen nicht zusammen mit Schwefelkalk kombiniert werden darf, da der hohe pH-Wert der Schwefelkalkbrühe die Virusaktivität stark herabsetzt (Fritsch et al., 2008).

Um die Wirkung von Schwefelkalk-Applikationen auf CpGV-Beläge auf Äpfeln zu überprüfen, wurde daher 2020 ein praxisnaher und umfangreicher Freilandspritzversuch in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern (Teilvorhaben 2) durchgeführt. Da dieser Versuch jedoch aufgrund einer zu geringen Virusaktivität auf den Äpfeln nur bedingt auswertbar war, wurde 2021 im Labor ein Tauchversuch mit Äpfeln unter standardisierten Bedingungen vorgenommen.

In diesem Tauchversuch wurde das Virus-Präparat Madex® MAX in einer 5-fach höheren Konzentration als im Freiland verwendet und das Schwefelkalk-Präparat Curatio entsprechend einer in der Praxis üblichen Aufwandmenge. Die Äpfel wurden zunächst in eine Madex®-MAX-Suspension getaucht und nach Antrocknen ein weiteres Mal in Schwefelkalkbrühe. Diese Reihenfolge des Tauchens wurde auch umgekehrt sowie Zweitbehandlungen mit Wasser durchgeführt. Als Versuchstiere dienten Larven (L1) des sensitiven Laborstammes CpS. Nach Antrocknen der Beläge wurden die Äpfel mit jeweils 2 L1-Larven besetzt und nach 7 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag wurde der Anteil überlebender Larven sowie das Schadbild der Früchte erfasst.

Die in Abbildung 20 dargestellten Ergebnisse für das Schadbild zeigten, dass alleinige Wasser- und Curatio-Behandlungen im Vergleich zu den unbehandelten Äpfeln keinen Effekt

auf das Einbohrverhalten der AW-Larven zur Folge hatten. Bei diesen Varianten war die Mehrzahl der Larven bis zum Kern (52-68 %) vorgedrungen, 30-45 % sehr tief und ein kleiner Anteil nur tief abgestoppt. Das zweite Tauchen der Curatio behandelten Äpfel in Wasser resultierte in einem ähnlichen Schadbild, allerdings war der Anteil tiefer Bohrgänge etwas höher. Bei Madex® MAX zeigte sich ein anderes Schadbild. Hier war der Anteil der tief abgestoppten Einbohrungen, wie aufgrund der Viruswirkung zu erwarten, mit 89 % signifikant höher und im Kern waren keine Fraßspuren zu finden. Bei der Zweitbehandlung mit Wasser trat jedoch ein gewisser Verdünnungseffekt ein und der Anteil tiefer Bohrstellen ging auf 46 % zurück, gleichzeitig hatten sich mehr Tiere (54 %) sehr tief eingefressen. Nur in den Tauchkombinationen von Madex® MAX und Curatio und umgekehrt waren mit 8 % bzw. 6 % auch Fraßspuren im Kern zu finden. Dieser Kernfraß könnte ein Hinweis auf eine verminderte Viruswirkung sein. Ein Verdünnungseffekt ist auszuschließen, da das gleiche Ergebnis bei der Zweitbehandlung von Curatio mit Madex® MAX zu beobachten war.

Vergleicht man die Anteile überlebender Larven in den unterschiedlich behandelten Äpfeln (Abbildung 21), so fällt auf, dass sowohl beim Tauchen einmalig in Madex® MAX als auch der Nachbehandlung mit Wasser keine überlebenden Larven in den Äpfeln gefunden wurden, was auf die gute Wirksamkeit des Virus zurückzuführen ist. Demgegenüber wurden in beiden mit Curatio kombinierten Varianten Überlebende registriert, und zwar im Kern der Äpfel. Wurde nach Madex® MAX in Curatio getaucht, lag der Anteil Überlebender bei 11 % und in der umgekehrten Reihenfolge bei 2 %. Bei den unbehandelten bzw. in Wasser getauchten Äpfeln lag der Anteil Überlebender bei ca. 80 % und bei den Behandlungen mit Curatio bzw. Curatio und Wasser etwas niedriger bei 63 % bzw. 36 %. Die Ergebnisse des Tauchversuchs mit Äpfeln deuten darauf hin, dass die stark alkalische Schwefelkalkbrühe (pH 11) des Präparates Curatio unter den gewählten Versuchsbedingungen die Aktivität der Virusbeläge reduzieren kann, insbesondere bei einer Applikation nach der Virusbehandlung. Möglicherweise lässt sich dieser im Laborversuch beobachtete Effekt durch einen größeren zeitlichen Abstand von Virus- und Curatio-Behandlung in der Praxis vermeiden. In jedem Fall sollten die Ergebnisse des Laborversuchs noch einmal unter praxisnahen Bedingungen überprüft werden, bevor Applikationsempfehlungen für die Praxis angegeben werden.

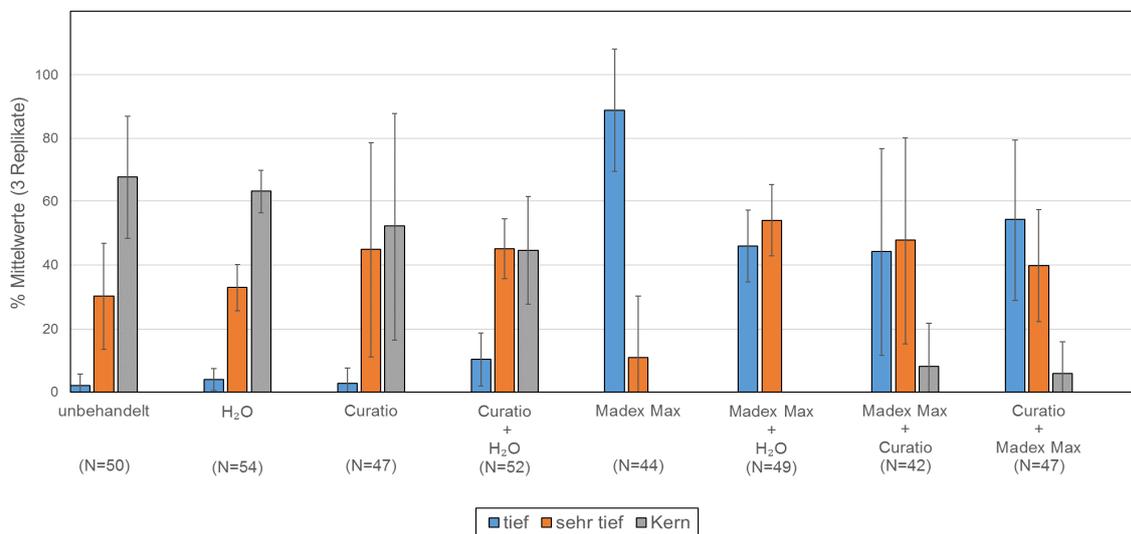


Abbildung 20: Schadbild unterschiedlich behandelter Äpfel bei der Bonitur nach 7 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag, angegeben sind die prozentualen Anteile an Larven, die tief (blau), sehr tief (orange) und bis zum Kern (grau) eingedrungen sind. Die Tauchversuche wurden in einem Volumen von 250 ml vorgenommen. Die Aufwandmenge von Curatio entsprach der Verwendung im Freiland (6 Liter/250 Liter Wasser pro ha und mKh) und für Madex® MAX lag die Testkonzentration mit  $3 \times 10^7$  OB/ml 5-fach höher als in der Praxis üblich. In den Tests wurden pro Apfel jeweils 2 L1-Larven des Laborstammes CpS aufgesetzt. N bezeichnet die Anzahl der Tiere im Versuch. Dargestellt sind die Daten aus drei unabhängigen Replikaten. Die vertikalen Linien geben die jeweilige Standardabweichung an.

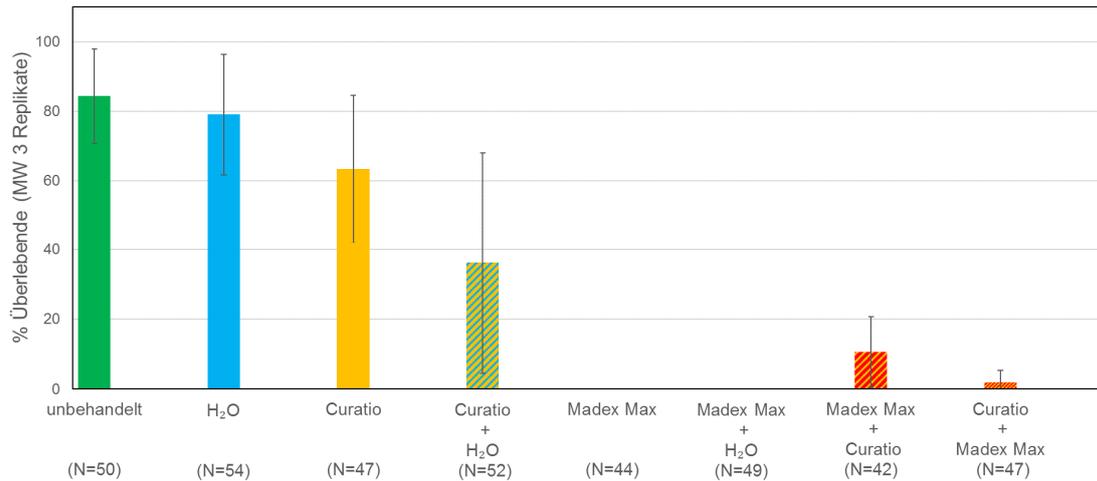


Abbildung 21: Überlebende AW-Larven (%) in unterschiedlich behandelten Äpfeln bei der Bonitur nach 7 Tagen Inkubation bei 26 °C und Langtag. Die Tauchversuche wurden in einem Volumen von 250 ml vorgenommen. Die Aufwandmenge von Curatio entsprach der Verwendung im Freiland (6 Liter/250 Liter Wasser pro ha und mKh) und für Madex® MAX lag die Testkonzentration mit  $3 \times 10^7$  OB/ml 5-fach höher als in der Praxis üblich. In den Test wurden pro Apfel jeweils 2 L1-Larven des Laborstammes CpS aufgesetzt. N bezeichnet die Anzahl der Tiere im Versuch. Dargestellt sind die Daten aus drei unabhängigen Replikaten. Die vertikalen Linien geben die jeweilige Standardabweichung an.

### 3.5 AP 5: Monitoring des Resistenzstatus in den Anlagen, die 2004 bis 2006 Resistenzen gegen CpGV-M aufgewiesen haben, seither aber unauffällig sind

Der Resistenzstatus in Altanlagen, in denen zwischen 2004 und 2006 eine Typ I-Resistenz gegenüber Genomgruppe A (CpGV-M) nachgewiesen worden war und die seither unter Einsatz resistenzbrechender Präparate unauffällig blieben, sollte nochmals überprüft werden, um Hinweise über die Dynamik der Resistenzentwicklung zu erhalten. Hierfür sollten von den Projektpartnern möglichst viele befallene Früchte in verschiedenen Betrieben der unterschiedlichen Regionen gesammelt werden, um im Labor Resistenzschnelltests mit verschiedenen CpGV-Isolaten nach der Methode von Schulze-Bopp und Jehle (2013) durchführen zu können.

Im Jahr 2017 konnte in einer Anlage (BW-FI), in der 2003 nach jahrelangem Einsatz des Präparates Madex® erstmals eine Typ I-Resistenz nachgewiesen worden war, ausreichend Apfelwicklerbefall bonitiert und Larven für die Bestimmung des Resistenzstatus mittels Schnelltests im Labor gesammelt werden. In den Jahren 2006 bis 2015 wurde die Anlage erst mit Madex® Plus und dann mit Madex® MAX behandelt. Im Jahr 2017 blieb die Population unbehandelt, da aufgrund eines starken Blütenfrosts fast keine Früchte am Baum waren. Die wenigen verbleibenden Früchte waren fast alle vom Apfelwickler befallen. Im Juli 2017 wurden in der Anlage alle Früchte abgesammelt und zur Testung nach Darmstadt geschickt. Da aber aufgrund dieser Situation nicht ausreichend Tiere zur Verfügung standen, kam in den Tests nur das Isolat CpGV-M zur Anwendung.

Im Schnelltest zeigten die Tiere von BW-FI-17 bei einer 14-tägigen CpGV-M-Exposition eine Sterblichkeit von 60 %, die mit zunehmender Inkubationszeit anstieg und nach 35 Tagen 82,5 % erreichte (Abbildung 22). Dieses Ergebnis spricht für eine Resistenz der Tiere gegenüber CpGV-M, da empfindliche AW-Larven bei der eingesetzten Viruskonzentration bereits nach 14 Tagen mit einer Mortalität von 100 % reagieren. Im Vergleich zu den ersten Resistenz-Untersuchungen dieser Anlage 2003, in denen eine Mortalität von 40,8 % ermittelt wurde, hat sich das Niveau der Typ I-Resistenz kaum verändert

Im Schnelltest zeigte sich ein unerwarteter Anstieg der Mortalität der Kontrolltiere von 10 % bis 73 % nach 35 Tagen, obwohl diese Tiere aus der 2017 unbehandelten Anlage stammten. Um dieses Ergebnis erklären zu können, wurden bei der Bonitur der Schnelltests nach 7 und 14 Tagen stichprobenartig Larvenkadaver entnommen und mittels PCR-Technik nach Graillot et al. (2016) analysiert. Anhand von spezifischen pe38-Primern konnte festgestellt werden, welches Virus-Isolat in den Larven repliziert wurde. Es zeigte sich, dass ein hoher Anteil der virustoten Kontrolltiere von BW-FI-17 mit dem Isolat CpGV-S infiziert war (Tabelle 16). Dieses Isolat ist als Wirkstoff in dem Präparat Madex® MAX enthalten, das in der Vergangenheit in der Anlage ausgebracht wurde. Die Tatsache, dass 35,7 % der untersuchten Larven, denen CpGV-M verabreicht wurde, an einer CpGV-S Infektion starben, könnte ebenso Hinweis auf eine latente subletale CpGV-S Infektion der Wirtslarven sein. Eine vertikale Virusübertragung von Eltern auf Nachkommen als subletale Infektion wurde bereits bei Baculoviren beschrieben (Burden et al. 2002, Cory & Myers, 2003). Das für den AW-Stamm BW-FI-17 mit einer Typ I-Resistenz nur schwach wirksame Isolat CpGV-M könnte hier als Stressfaktor die Replikation von CpGV-S bewirkt haben (Fuxa et al., 1999; Podgwaite & Mazzone, 1986).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten, dass tatsächliche Aussagen über den Resistenzstatus von AW-Populationen in Altanlagen nicht nur anhand von Resistenzschnelltests getroffen werden können, sondern ergänzende Untersuchungen infizierter Larven mittels PCR-Analysen notwendig sind.

Ab 2018 standen keine weiteren Anlagen mehr zur Verfügung, in denen Tiere für die Laboruntersuchungen hätten gesammelt werden können. Inzwischen weisen auch fast alle noch existierenden Anlagen mit einer festgestellten Typ I-Resistenz auch eine Typ II-Resistenz auf. Bei den wenigen Anlagen, wo dies noch nicht der Fall ist, war der Apfelwicklerbefall so niedrig, dass Tests nicht mehr möglich waren oder die Anlagen existierten nicht mehr.

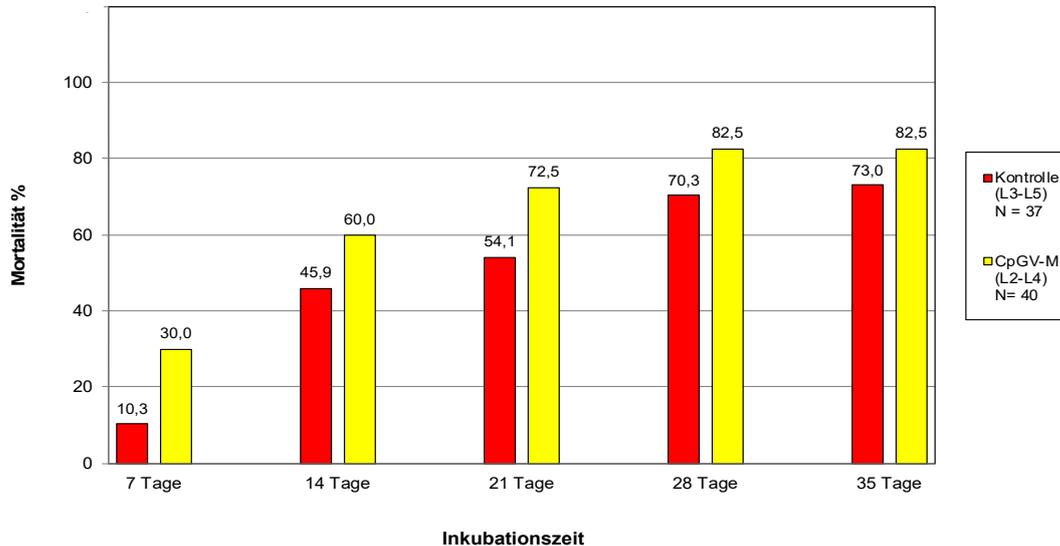


Abbildung 22: Ergebnisse des Resistenz-Schnelltests mit Larven der F2 Generation, gesammelt in der 2017 unbehandelten Anlage BW-FI-17 (2016 behandelt mit Madex® Plus und 2006-2015 unbehandelt). Angegeben ist die Mortalität (%) der Larven nach Exposition auf CpGV-M ( $2 \times 10^5$  OB/ml Medium) ermittelt 7, 14, 21, 28 und 35 Tage Inkubation (26 °C und Langtag) nach Versuchsansatz. Als Kontrolle wurde die Mortalität (%) von Larven auf virusfreiem Medium ermittelt. N bezeichnet die Anzahl Tiere im Versuch.

Tabelle 16: PCR-Analyse toter Larven von BW-FI-17 aus dem Schnelltest, abgesammelt nach 7 und 14 Tagen Inkubation (26 °C und Langtag) bei Exposition auf CpGV-M (2x10<sup>5</sup> OB/ml Medium) bzw. virusfreiem Medium (Kontrolle).

Schnelltest-Variante	Anzahl Tote im Versuch (Mortalität)	Anzahl Larven (Anteil)			
		getestete in PCR	CpGV-M infiziert	CpGV-S infiziert	nicht infiziert
Kontrolle	17 (45,9 %)	13	1 (7,7 %)	9 (69,2 %)	3 (23,1 %)
CpGV-M	24 (60,0 %)	14	7 (50,0 %)	5 (35,7 %)	2 (14,3 %)

### 3.6 AP 6: Test einer Einnetzung auf Praktikabilität und ihren Einfluss auf Wachstums-, Ertrags- und Qualitätsparameter im Ökologischen Obstbau

#### 3.6.1 Versuchsaufbau

Der Versuch vergleicht einzeln eingenetzte Baumreihen mit uneingenetzten Kontrollreihen auf einer ökologisch bewirtschafteten Fläche des Kompetenzzentrums Obstbau Bodensee (KOB). Seit Frühjahr 2019 sind die Kontrollbäume durch eine klassische Hagelnetzkonstruktion vor Hagel geschützt. Die Einzelreiheneinnetzungen sollen eine mechanische Barriere für den Apfelwickler darstellen, sodass in den eingenetzten Varianten auf die Anwendung von CpGV verzichtet werden kann, während die uneingenetzten Kontrollreihen betriebsüblich mit CpGV behandelt werden. Hierbei werden neben der Testung der Praktikabilität einer Einnetzung, Wachstums-, Ertrags- und Qualitätsparameter aufgenommen. Außerdem wird das Aufkommen von Schaderregern, insbesondere des Apfelwicklers, festgehalten. Die 0,3 ha große Anlage wurde im Jahr 2009 gepflanzt und besteht aus 2 Sortenblöcken.



Abbildung 23: Versuchsaufbau der Einzelreiheneinnetzung. Versuchsreihen sind farblich markiert: Rot: Uneingenetzte Kontrollbäume; Gelb: Einzelreiheneinnetzung mit Apfelwicklernetz (Keep in Touch®); Grün: Einzelreiheneinnetzung mit Apfelwicklernetz und zusätzlich doppelt gelegtem ultra engmaschigem Netz (Microtex®) auf einem Bügel oberhalb der Bäume (Antiacqua).

Der nördlich liegende Teil der Anlage ist mit der Sorte 'Jonagored' bepflanzt, während der südliche Block mit Bäumen der Sorte 'Topaz' bepflanzt ist. Die Sorten sind auf die im Erwerbsobstbau gängige schwachwüchsige Unterlage M9 veredelt. Die Baumreihen sind in Richtung Ost-West ausgerichtet und die Reihenlänge beträgt 60 m. Die Fahrgassenbreite

beträgt 3,20 m und der Baumabstand innerhalb der Reihen entspricht 0,8 m. In der Anlage befinden sich insgesamt 8 Versuchsreihen: jeweils 4 Reihen bei 'Topaz' und 4 Reihen bei 'Jonagored'.

Bei 'Topaz' sind die Reihen halbiert und in 2 Varianten unterteilt:

1. Uneingenetzte, mit klassischem Hagelnetz überspannte, Bäume (Kontrolle/ko)
2. Mit einem einlagigen Apfelwickler-Netz eingenetzte Bäume (Keep in Touch®-System/kit).

Die Versuchsreihen der Sorte 'Jonagored' sind jeweils in 3 Varianten unterteilt:

1. Uneingenetzte, mit klassischem Hagelnetz überspannte, Bäume (Kontrolle/ko)
2. Mit einem einlagigen Apfelwicklernetz eingenetzte Bäume (Keep in Touch®-System/kit).
3. Mit einem einlagigen Apfelwicklernetz eingenetzte Bäume die zusätzlich dazu über der Baumkrone mit doppelt genähtem Microtex®-Netz eingenetzt sind (Antiacqua-System/anti).

### 3.6.1.1 Keep in Touch® System

Die Netzbreite des Apfelwicklernetzes beträgt 6,0 m und die Maschenweite entspricht 2,3 \* 4 mm.



Abbildung 24: A) Mit dem Keep in Touch®-System eingenetzte Baumreihen der Sorte 'Topaz'. B) Eingenetzte Baumreihe der Sorte 'Jonagored' mit dem Antiacqua-System.

Das Netz liegt mittig mit Hilfe eines Gummiseils gespannt auf den Hagelpfosten auf. Die Hagelpfosten stehen im Abstand von 7,5 m. Die mittlere Netzhöhe vom Boden beträgt 0,5 m. Diese Höhe war ausreichend um eine mechanische Bodenbearbeitung des Baumstreifens mit den im ökologischen Obstbau gängigen Geräten zu gewährleisten. Die Karabinervorrichtung mit welcher alle 3,5 – 4,0 m die Netze an der Stammbasis verschlossen waren, wurde im März 2018 durch eine beim Öffnen und Schließen zeitsparende Plakettenkonstruktion ausgetauscht. Dabei sind an jedem Hagelpfosten Plaketten befestigt, an denen das Netz von beiden Seiten festgemacht werden kann. Dementsprechend sind die Bäume unterhalb des Netzes nicht vollkommen dicht eingenetzt.

### 3.6.1.2 Antiacqua-System

Das Antiacqua-System besteht im Gegensatz zum Keep in Touch®-System zusätzlich aus Bügeln (1,4 m Durchmesser), die auf den Hagelpfosten (Abstand: 6,7 m) montiert sind und auf denen ein 1,5 m breiter Streifen doppelt genähtes Microtex®-Material aufliegt. Dieses Material ist besonders dicht gewebtes und sehr engmaschiges Netz, welches die Bäume bei

Niederschlag größtenteils trocken halten, und dadurch die Infektionsbedingungen für pilzliche Erreger erschweren soll. Beidseitig an das Microtex®-Netz ist, analog zum Keep in Touch®-System, ein Apfelwicklernetz mit jeweils 2,5 m angenäht. Somit beträgt die Gesamtnetzbreite des Antiacqua-Systems 6,5 m. Der Verschluss des Systems 0,5 m oberhalb der Bodenoberfläche entspricht dem, des Keep in Touch® Systems.

Um den Mehrwert des Microtex®-Netzes zur Regulierung pilzlicher Erreger bestmöglich beurteilen zu können, ist das Aniacqua-System bei der schorfempfindlichen Sorte 'Jonagored' in den Versuch integriert.

### 3.6.1.3 Handling der Systeme: Zeitpunkt des Schließens, Ausdünnung, Pflanzenschutzprogramm

Das Keep in Touch® System wurde in den Versuchsjahren nach der Blüte geschlossen. Das Antiacqua-System wurde in den Jahren 2018-2020 zu Beginn der Primärschorfphase geschlossen. Diese Maßnahme soll zu diesem frühen Zeitpunkt die Infektionsbedingungen für den Schorfpilz erschweren indem die Bäume möglichst trocken gehalten und Blattnasszeiten reduziert werden. Da mit zunehmender Versuchsdauer die Regulierung der Blutlaus zur größten Herausforderung in den eingensetzten Varianten avancierte, wurde in 2021 das Netz der Antiacqua-Variante – analog zur Keep in Touch®-Variante - erst nach der Blüte geschlossen. Dadurch konnte eine mögliche Einwanderung von Nützlingen bis nach der Blüte gewährleistet werden.

In beiden Einnetzvarianten wurde gänzlich auf die Ausbringung von CpGV-Präparaten zur Regulierung von Apfel- und Schalenwicklern verzichtet. Da in 2018 erste vielversprechende Ergebnisse zur Schorfbregulierung im Antiacqua-System erzielt werden konnten, wurde in den Jahren 2019-2021 in dieser Variante auf die Ausbringung von Fungiziden in der Sekundärsaison verzichtet. Dadurch konnten jährlich etwa 50 % der erforderlichen, saisonalen Fungizidapplikationen eingespart werden (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: Einsparungen an Pflanzenschutzmitteln in den Jahren 2019-2021.

	CpGV Einsparungen (Behandlungen/Jahr)	Reduktion der Fungizidbehandlungen (Antiacqua)
2019	11	47 %
2020	13	53 %
2021	9	53 %

## 3.6.2 Ergebnisse

Aus Gründen der Übersichtlichkeit folgen nun die Ergebnisse getrennt nach Sorte, zuerst für 'Topaz' danach für 'Jonagored'.

### 3.6.2.1 'Topaz'

#### 3.6.2.1.1 Blüte, Ertrag und Qualität

In den Versuchsjahren 2018-2021 wurde jeweils zum Zeitpunkt der Blüte eine Bonitur der Blühstärke nach dem Boniturschema von Lafer (2002) (Blühstärke 1-9, wobei Stufe 6 einer optimalen mittleren-hohen Blühstärke entspricht) durchgeführt. Dabei waren die Blühstärken über die Jahre hinweg in beiden Varianten relativ vergleichbar (siehe Abbildung 25).

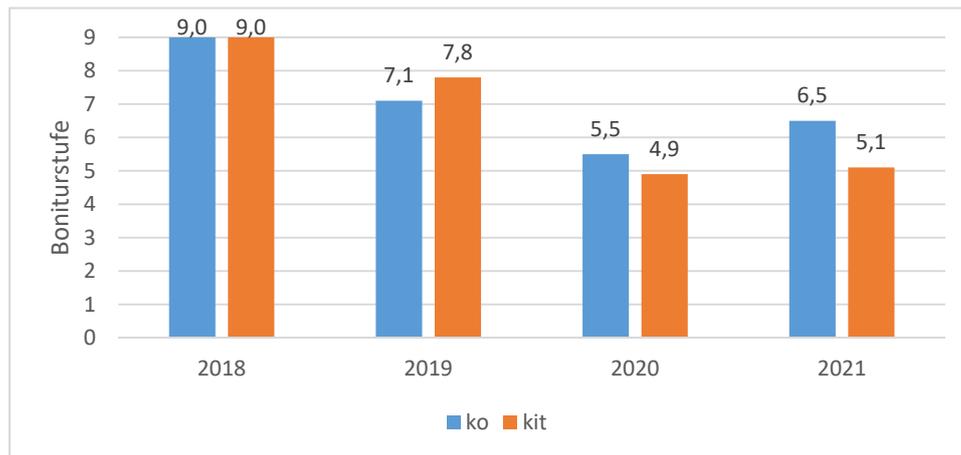


Abbildung 25: Blühintensität der Bäume 2018 bis 2021.

Die Früchte wurden in den Versuchsjahren jeweils in zwei Pflücken geerntet. Der über den gesamten Versuchszeitraum aufsummierte Einzelbaumertrag ist in Abbildung 26 A dargestellt. Während der Ertrag in den ersten beiden Versuchsjahren in der Keep in Touch® Variante höher war, konnte die Kontrolle in 2020 und 2021 einen höheren Ertrag erzielen. Nach den vier Versuchsjahren zeigte sich insgesamt ein ausgeglichenes Bild mit einem leicht höheren Ertrag (+ 3,8 kg/Baum) in der Kontrollvariante. In den Jahren 2019 und 2021 erfolgte zusätzlich eine Unterteilung der Früchte in Tafel- und Mostware sowie eine Erhebung der Mostursachen. (Abbildung 26 B). Hierbei zeigte sich in 2019 bei hohem Ertrag beider Varianten, ein höherer Mostobstanteil in der Keep in Touch® Variante (34,6 %). Ausgeglichene Mostobstanteile mit einem leicht vorteilhaften Verhältnis zugunsten der Keep in Touch® Variante konnten bei niedrigem Ertragsniveau (7,8 kg/Baum Kontrolle und 6,3 kg/Baum Keep in Touch®) im Jahr 2021 festgehalten werden.

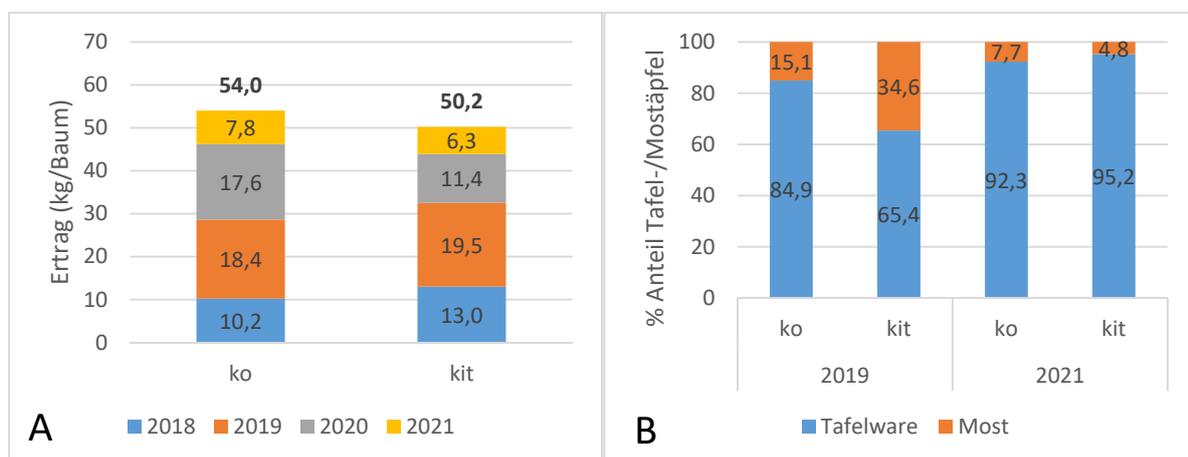


Abbildung 26: A) Einzelbaumertrag 2018-2021, B) Tafel- und Mostwarenanteil 2019 und 2021.

Beim genaueren Blick auf die Mostursachen der Jahre 2019 und 2021 in Abbildung 27, fällt auf, dass in beiden Varianten als Hauptursache die Kleinfüchtigkeit ins Gewicht fällt. Dies war als starker Jahreseffekt bei gutem Behang insbesondere im Jahr 2019 der Fall. Zusätzlich dazu zeigte sich in der Kontrolle eine unzureichende Ausfärbung als relevanter Mostgrund (19,8 %).

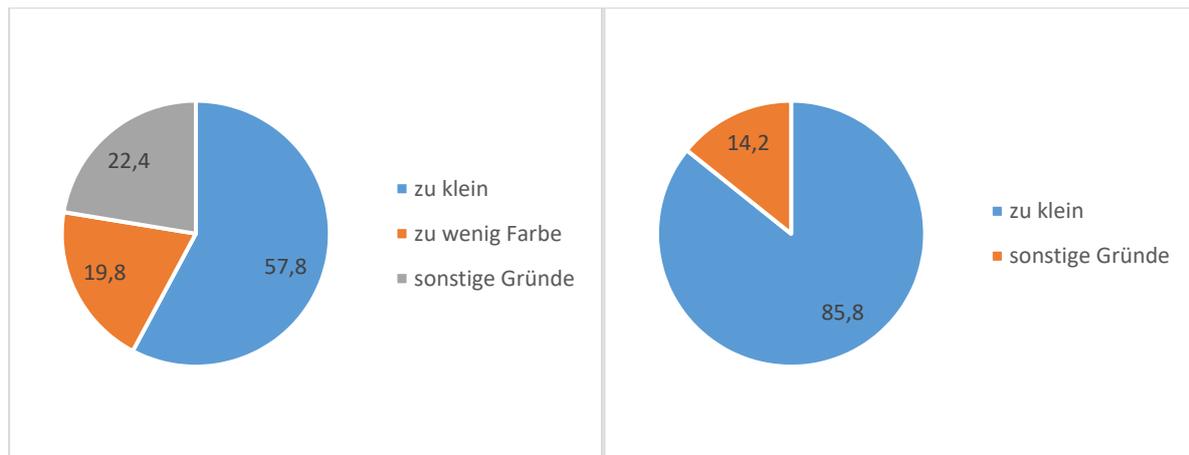


Abbildung 27: Anteile % der Mostursachen für 2019 und 2021, A) Kontrolle, B) Keep in Touch®.

Im Jahr 2018 sorgte ein starkes Hagelereignis dafür das Früchte aus der Kontrollvariante nicht analysiert werden konnten. In 2020 führte starker Frost zu großen Qualitätseinbußen. Dementsprechend sind in Abbildung 28 dargestellten Daten zur Fruchtqualität beschränkt auf die Jahre 2019 und 2021. Während in 2021 ein höherer Anteil großer Fruchtkaliber bei geringer Ausfärbung erzielt wurde, wurde in 2019 bei kleinkalibrigeren Früchten eine geringere Ausfärbung festgehalten. Dabei wurde ein starker Jahreseffekt bedingt durch die Behangsstärke beobachtet, während ein zusätzlicher Effekt der Einnetzung auf die Parameter Kalibergröße und Ausfärbung nicht zu erkennen war.

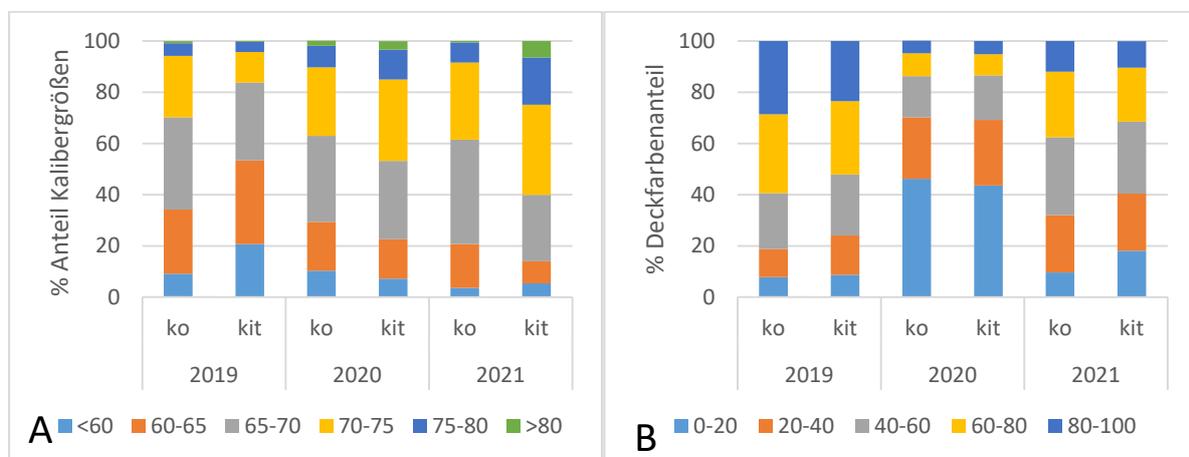


Abbildung 28: A) Kalibergrößenverteilung (mm), B) Deckfarbenanteil (%) der Jahre 2019 und 2021 (jährliche Pflücken jeweils gemittelt).

### 3.6.2.1.2 Stammzuwachs

Das Wachstum der Bäume wurde anhand des Stammumfanges festgehalten (siehe Abbildung 29). Der im Frühjahr des jeweiligen Jahres gemessene Stammumfang enthält den Zuwachs des jeweiligen Vorjahres. Die prozentualen Angaben geben den relativen Zuwachs auf Basis des im Vorjahr gemessenen Wertes wieder. Es fällt auf, dass bei der Sorte 'Topaz' die relativen jährlichen Zuwachs sowohl in der Kontrollvariante als auch die Keep in Touch® Variante über die Jahre in vergleichbarem Umfang abgenommen haben. Ein Einfluss der Einnetzung auf den Wachstumsparameter „Stammzuwachs“ konnte im vierjährigen Versuchszeitraum damit nicht festgestellt werden.

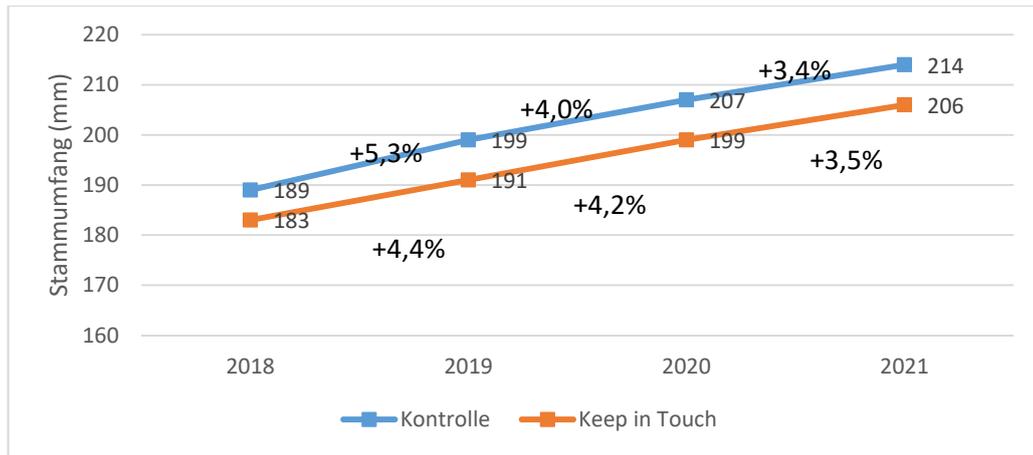


Abbildung 29: Entwicklung des Stammumfangs bei 'Topaz'. Die Prozentzahlen geben den relativen Zuwachs bezogen auf den im Vorjahr gemessenen Stammumfang an.

3.6.2.1.3 *Apfelwickler (Cydia pomonella)*, *Kleiner Fruchtwickler (Grapholita lobarzewskii)*, *Apfelschalenwickler (Adoxophyes orana)*

Um den Befall durch Wicklerarten quantifizieren zu können, wurden jährlich 1.200 Früchte je Variante nach Flugende der 2. Apfelwicklergeneration bonitiert. Über alle Versuchsjahre blieb der Befall durch Wicklerarten variantenübergreifend auf einem sehr niedrigen Niveau (siehe Abbildung 30).

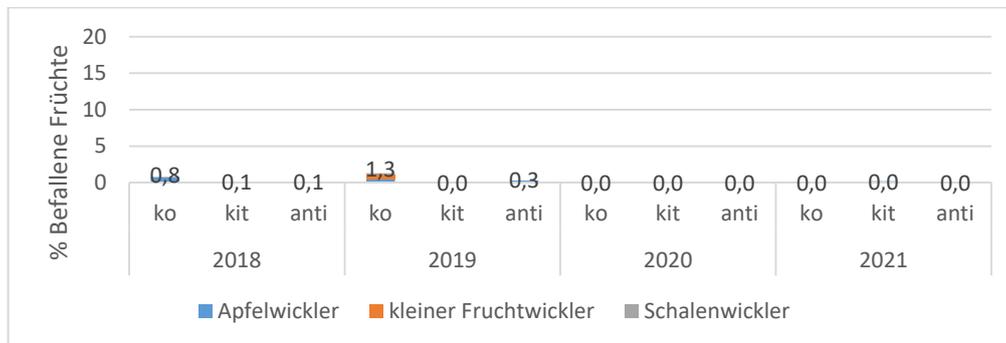


Abbildung 30: Kleiner Frucht-, Schalen-, und Apfelwicklerbefall der Jahre 2018-2021 (in %).

3.6.2.1.4 *Befall an grüner Apfelblattlaus (Aphis pomi) und Tastversuche zur Regulierung*

In allen Versuchsjahren wurde in der Keep in Touch® Variante ein erhöhter Befall durch die grüne Apfelblattlaus festgestellt. Insbesondere in den Jahren 2018 und 2019 hat sich ein zunehmender Befall an der grünen Apfelblattlaus eingestellt (siehe Abbildung 31).

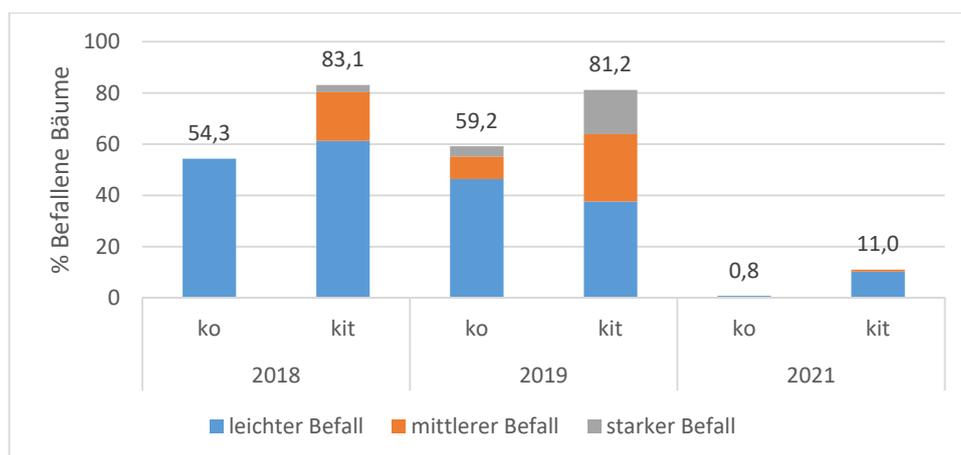


Abbildung 31: Mit der grünen Apfelblattlaus befallene Bäume unterteilt nach Befallsstärke (%).

Um diesen Befall unter den speziellen Bedingungen des geschützten Anbaus zu regulieren, wurde in den Jahren 2020 und 2021 ein Tastversuch zum Nützlingseinsatz durchgeführt. Der Versuch wurde im Austausch mit der Katz Biotech AG, einem Unternehmen das sich auf den Einsatz von Nützlingen spezialisiert hat, geplant. Als potentiell befallsregulierender Nützling wurde die räuberische Gallmücke *Aphidoletes aphidimyza* ausgewählt, deren Larven sich unter anderem von der grünen Apfelblattlaus ernähren. Die Ausbringmenge wurde auf 500 Tiere/100 m<sup>2</sup> festgelegt. Dies entspricht der doppelten Menge, die für eine Gewächshausausbringung üblich ist. Die Gallmücken wurden im Puppenstadium vermengt mit Vermiculite in Boxen verpackt bereitgestellt (Abbildung 32 A). Das Gemenge wurde mit Hilfe einer Feinwaage in die kleineren Ausbringportionen abgewogen in Bioboxen abgefüllt und an Gerüststäben aufgehängt (Abbildung 32 B). Je Wiederholung wurden zwei Ausbringpunkte mit Bioboxen bedient.

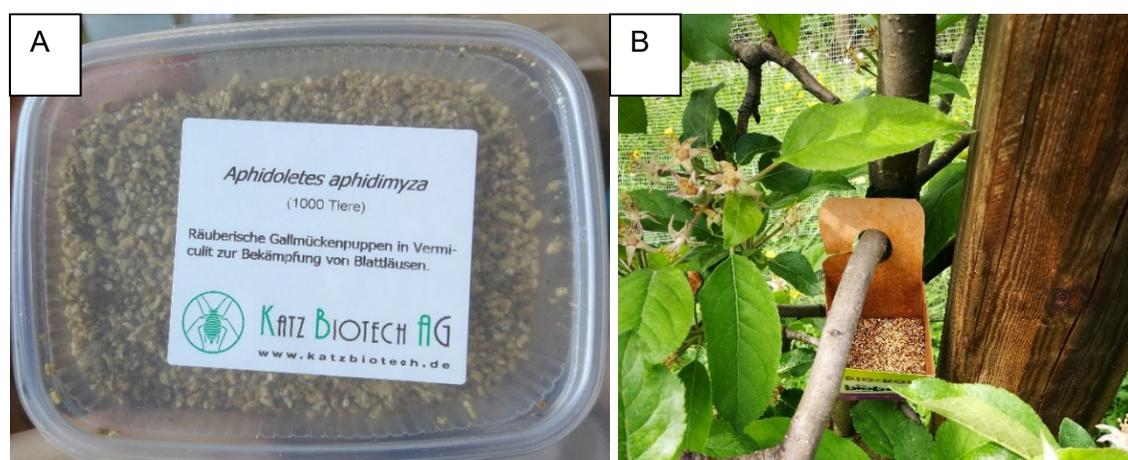


Abbildung 32: A) Angelieferte Gallmücken im Puppenstadium vermengt mit Vermiculite. B) Abgewogene Menge an Gallmücken in Bioboxen abgefüllt am Einsatzort.

Die Gallmücken wurden zu zwei Terminen ausgebracht. Der erste Termin wurde beim ersten Auftreten kleiner Kolonien der grünen Apfelblattlaus festgelegt (20.05.2020 bzw. 11.06.2021). Der zweite Termin etwa 2,5 Wochen später (07.06.2020 bzw. 30.06.2021). Eine Bonitur wurde jeweils vor der 1. Ausbringung durchgeführt. In 2020 folgten zwei weitere Bonituren, in 2021 eine weitere Bonitur zur Bewertung der Maßnahme. Je Boniturtermin und Wiederholung wurden 250 Langtriebe bewertet und diese in fünf Befallsstufen klassifiziert (0= keine Läuse, A= 1-5 Läuse, B= 6-10 Läuse, C= 11-25 Läuse, D= 26-50 Läuse, E= >50 Läuse). Wie in Abbildung 33 dargestellt, hat der Besatz an grünen Apfelblattläusen in beiden Jahren (A: 2020

und B: 2021) im Verlauf des Versuches zugenommen. Dabei war das Befallsniveau sowie die Dynamik der Zunahme in 2020 deutlich höher. Die Ergebnisse deuten nicht darauf hin, dass eine zufriedenstellende Regulierung der grünen Apfelblattlaus durch die gezielte Ausbringung der räuberischen Gallmücke *A. aphidimyza* im Keep in Touch®-System erreicht werden kann.



Abbildung 33: Mit der grünen Apfelblattlaus befallene Langtriebe unterteilt nach Befallsklassen. Sorte 'Topaz' unter Keep in Touch®. A) Jahr 2020, B) Jahr 2021.

### 3.6.2.1.5 Befall durch Blutlaus (*Eriosoma lanigerum*)

In den vier Versuchsjahren wurde, im Gegensatz zur Sorte 'Jonagored', bei 'Topaz' nur ein geringer Befall an Blutläusen festgestellt. Dennoch wurde in 2019 und 2021 eine Befallsbonitur durchgeführt. Hierfür wurde eine Ganzbaumbetrachtung gewählt (150 Bäume/Variante) und der Befall abgestuft bonitiert in 0: kein Befall, 1: leichter Befall (einzelne wenige Kolonien), 2: moderater Befall (mehrere Kolonien), 3: starker Befall (ganze, stark befallene Baumbereiche; inklusive von Blutläusen verschmutzte Früchte). In 2021 konnte ein etwas stärkerer Befall in der Variante Keep in Touch® festgehalten werden, wobei die meisten Bäume nur einen Befall mit einzelnen Kolonien aufwiesen. In 2019 konnte kein wesentlicher Befall festgestellt werden (siehe Abbildung 34).

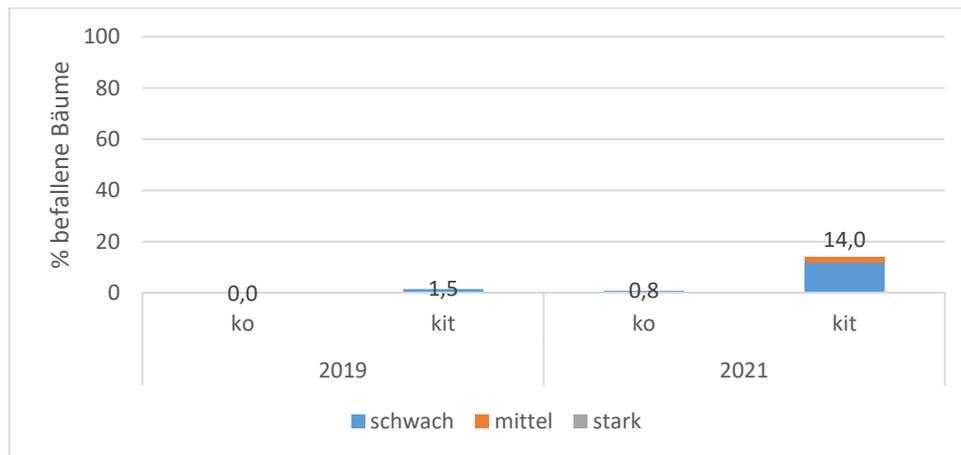


Abbildung 34: Mit der Blutlaus befallene Bäume (%) unterteilt nach Befallsstärke.

### 3.6.2.2 'Jonagored'

#### 3.6.2.2.1 Blüte, Ertrag und Qualität

Nach einer Weißblüte im Jahr 2018 erreichten die 'Jonagored' Bäume in den folgenden Versuchsjahren keine optimale Blühintensitäten. Sind die Blühintensitäten bis zum Jahr 2019 vergleichbar, so fallen die Blühstärken der eingensetzten Bäume im Jahr 2021 zurück. Dies ist zum einen auf den hohen Ertrag des Jahres 2019 und zum anderen auf den stetig steigenden Blutlausbefall zurückzuführen (siehe Abbildung 35).

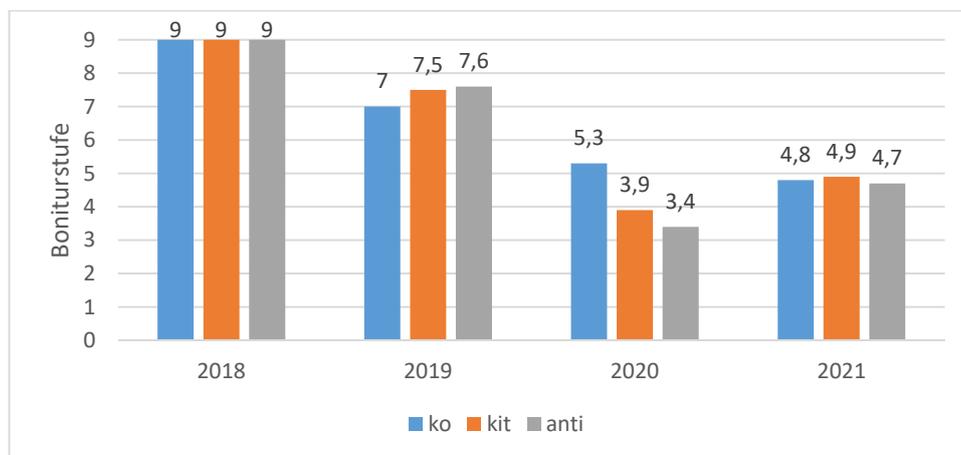


Abbildung 35: Blühintensität der Bäume 2018 bis 2021.

Ebenso wie bei 'Topaz', sind die Erträge nach vier Versuchsjahren in der Summe relativ ausgeglichen (Abbildung 36 A). Mit Ausnahme des Jahres 2020 waren die Einzelbaumerträge in beiden eingensetzten Varianten jährlich höher als in der Kontrolle. Der Anteil an Tafelware war sowohl in 2019 als auch in 2021 in den eingensetzten Varianten höher, dabei am höchsten in der Antiacqua Variante (Abbildung 36 B). Woran das liegt wird bei einem Blick auf die Mostursachen in Abbildungen 37 A deutlich. Die Antiacqua-Variante zeigte keinen Fruchtschorf Befall, während Schorf in der Kontrolle mit 31,0 % die häufigste Mostursache und bei Keep in Touch® mit 20,4 % die zweithäufigste Mostursache der Jahre 2019 und 2021 darstellte.

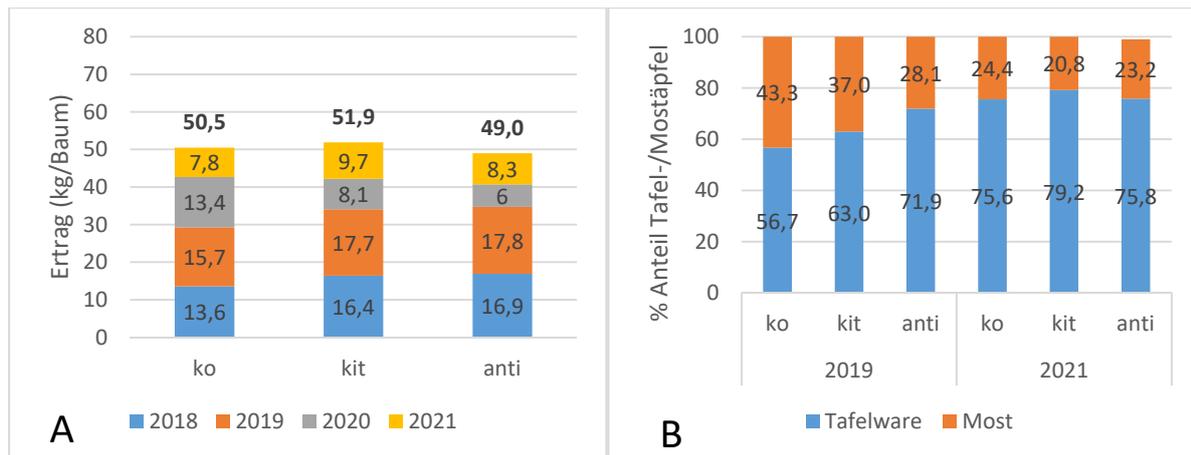


Abbildung 36: A) Einzelbaumertrag 2018-2021, B) Tafel- und Mostwarenanteil (%) 2019 und 2021.

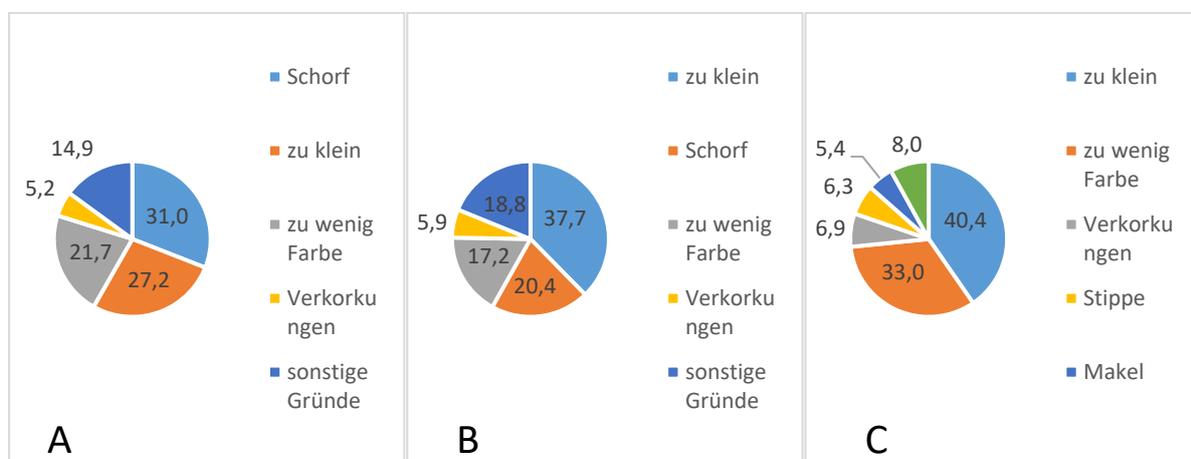


Abbildung 37: Mostursachen 2019 und 2021 (%) (Mittelwerte aus beiden Jahren). A) Kontrolle, B) Keep in Touch®, C) Antiacqua.

Die in Abbildung 38 dargestellten Daten zu Fruchtgrößenverteilung und Fruchtausfärbung der Jahre 2019 und 2021 zeigen keinen negativen Einfluss der Netzsysteme auf diese Parameter. Vielmehr zeigt sich ein Einfluss der Behangstärke, insbesondere beim Blick auf die Ausfärbung in 2019.

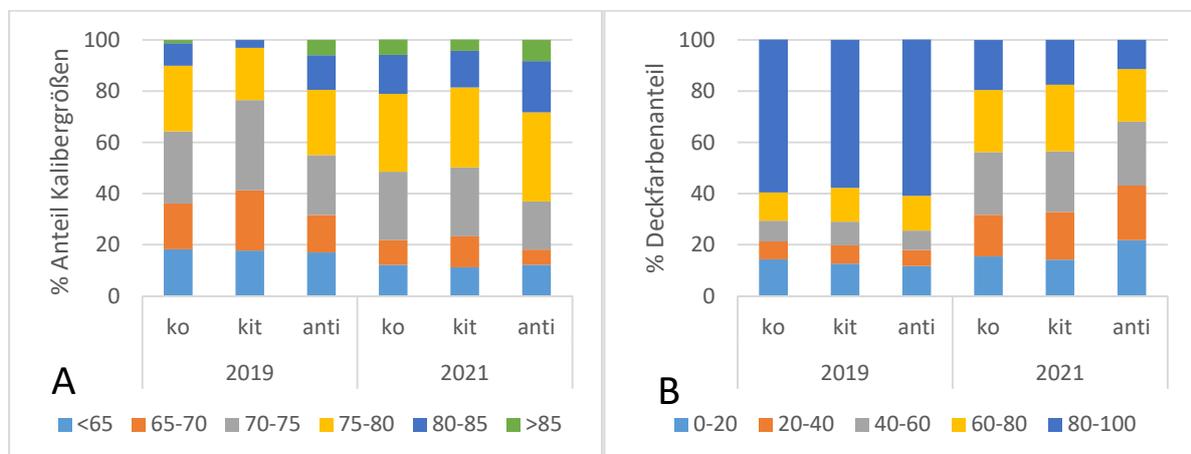


Abbildung 38: A) Kalibergrößenverteilung (mm) und B) Deckfarbenanteil (%) der Jahre 2019 und 2021 (jährliche Pflücken jeweils gemittelt).

### 3.6.2.2.2 Stammzuwachs

Die in Abbildung 39 dargestellten Werte des Stammumfangs zeigen eine Depression des jährlich gemessenen Zuwachses, die mit zunehmendem Grad der Einnetzung korreliert. Ob dieser Trend den Netzsystemen, dem zunehmenden Befall an tierischen Schaderregern, oder dem Ertragsverhalten der Bäume zuzuordnen ist, kann nicht abschließend bewertet werden.

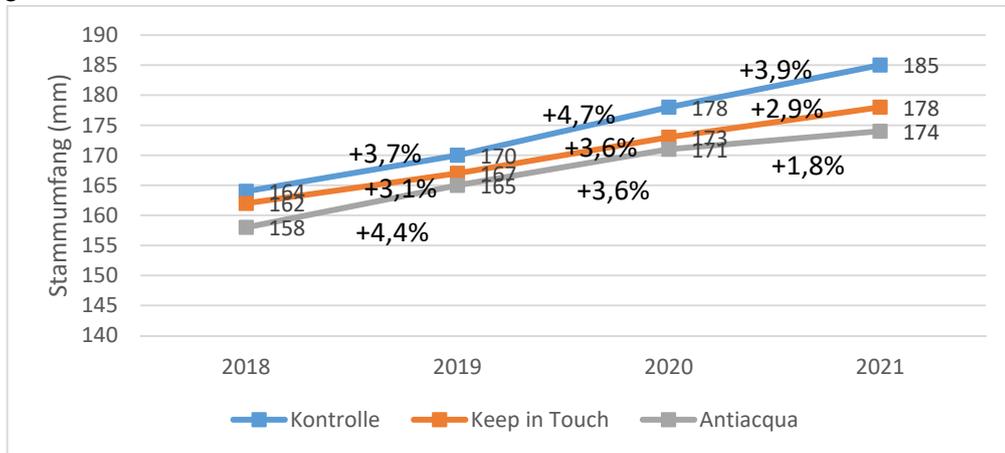


Abbildung 39: Entwicklung des Stammumfangs bei 'Jonagored'. Prozentzahlen geben den relativen Zuwachs bezogen auf den im Vorjahr gemessenen Stammumfang an.

### 3.6.2.2.3 Apfelwickler (*Cydia pomonella*), kleiner Fruchtwickler (*Grapholita lobarzewskii*), Apfelschalengewickler (*Adoxophyes orana*)

Der Befall an Wicklerarten war ebenso wie bei 'Topaz' beschrieben variantenübergreifend auf einem sehr niedrigen Niveau (2018 und 2019). In den Jahren in 2020 und 2021 konnte gar kein Befall festgestellt werden. (Abbildung 40).

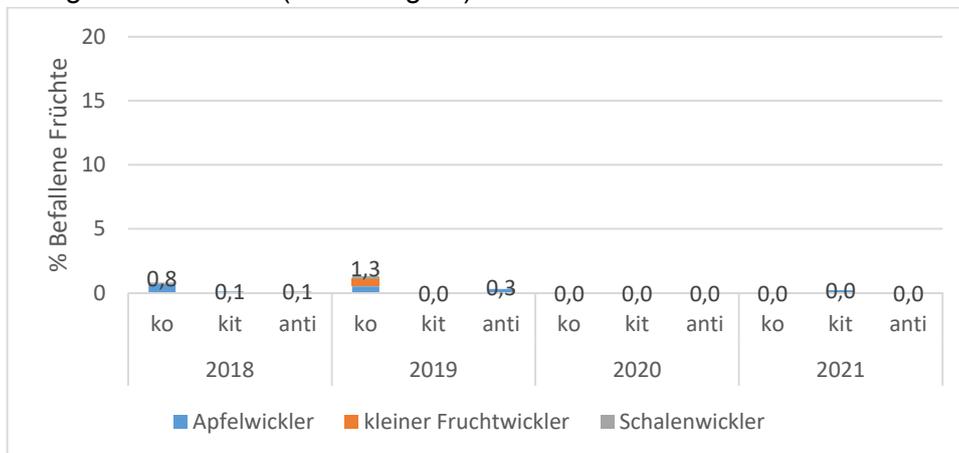


Abbildung 40: Kleiner Frucht-, Schalen-, und Apfelwicklerbefall (% befallene Früchte) der Jahre 2018-2021.

### 3.6.2.2.4 Befall an grüner Apfelblattlaus (*Aphis pomi*) und Tastversuche zur Regulierung

Der Befall an grüner Apfelblattlaus zeigte sich sehr dynamisch (siehe Abbildung 41). Besonders hervorzuheben ist das Jahr 2019, in dem bei generell starkem Befall (Kontrolle 57,5 %, Keep in Touch® 56,4 %) die Antiacqua-Variante mit 96,9 % befallenen Bäumen und einem Anteil von 22,4 % stark befallener Bäume am meisten betroffen war. Auf dieser Grundlage wurde analog zu 'Topaz' ein Tastversuch zum Nützlingseinsatz mit räuberischer Gallmücke in den Antiacqua-Wiederholungen geplant und durchgeführt.

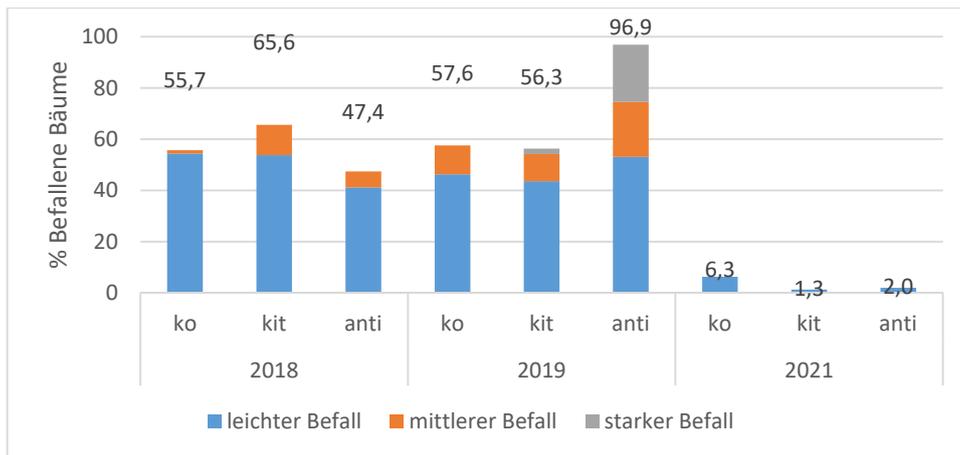


Abbildung 41: Mit der grünen Apfelblattlaus befallene Bäume unterteilt nach Befallsstärke.

Die Ergebnisse des Nützlingseinsatzes in den Antiacqua-Wiederholungen bei Jonagored sind in der Abbildung 42 dargestellt. Methodisch wurde der Versuch wie bereits für 'Topaz' beschrieben durchgeführt. In 2020 konnte bei generell starkem Befallsaufkommen in den beiden Wiederholungen mit Gallmücken eine tendenziell langsamere Befallszunahme festgestellt werden. Dennoch konnte der Befall nicht in zufriedenstellendem Maße reguliert werden. In 2021 wurde bei geringem Befallsniveau ebenfalls kein regulierender Einfluss der Gallmücken festgestellt.

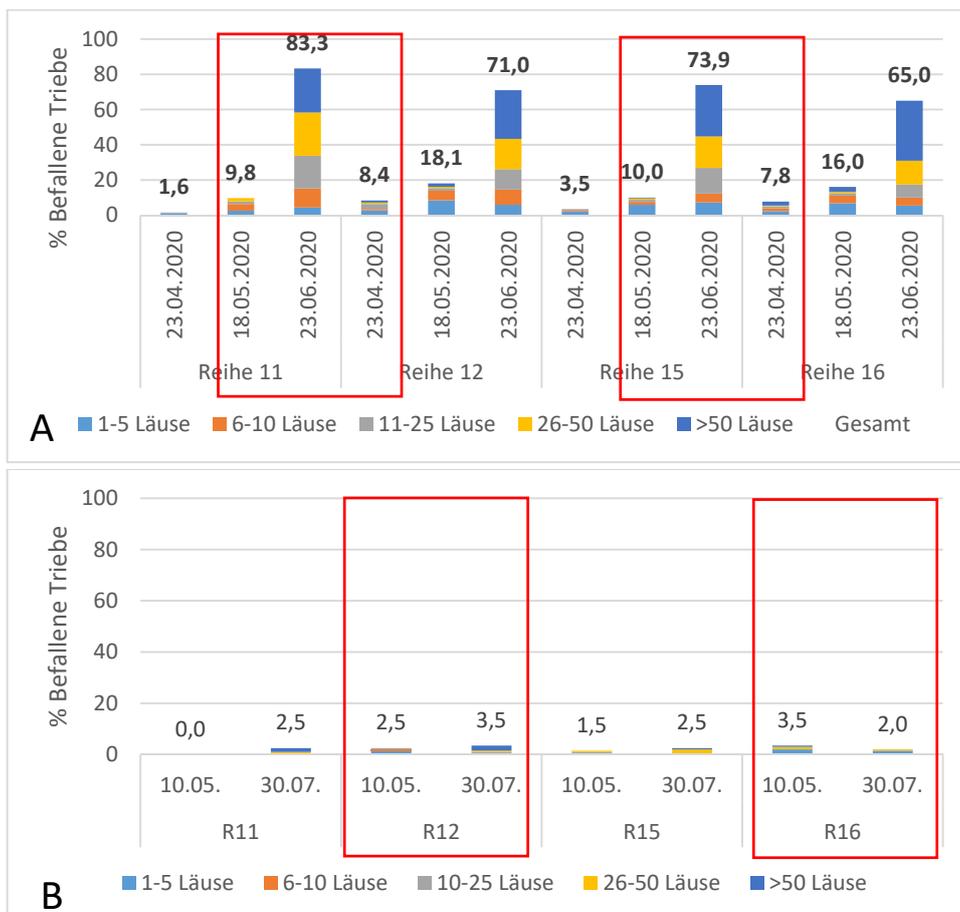


Abbildung 42: Mit der grünen Apfelblattlaus befallene Langtriebe (%) unterteilt nach Befallssklassen. Sorte 'Jonagored' unter Antiacqua. A) Jahr 2020; B) Jahr 2021; Wiederholungen, in denen A. aphidimyza ausgebracht wurden sind rot umrahmt.

3.6.2.2.5 Befall durch Blutlaus (*Eriosoma lanigerum*) und Tastversuch zur Regulierung

Abbildung 43 zeigt den Anteil Blutlaus befallener Bäume über den gesamten Versuchszeitraum. Direkt im ersten Jahr nach Installation der Netzsysteme konnte eine Ausbreitung der Blutlaus in der Antiacqua-Variante festgestellt werden (siehe Abbildung 43). In 2019 stieg der Anteil befallener Bäume in der Antiacqua-Variante bereits auf 79 %, wobei auch die Keep in Touch®-Variante bereits 16 % befallener Bäume aufwies. Der Befall an Blutläusen war im Jahr 2020 in der Bodenseeregion verbreitet hoch. Zusätzlich dazu waren die Jonagored Bäume an unserem Standort vom Frost geschwächt. Dies in Kombination mit einem sich bereits über die Jahre aufgebauten Befallsdruck führte in der ganzen Anlage zu einem starken Befall. Von dieser Dynamik erfasst, wies auch die in den Vorjahren noch befallsfreie Kontrollvariante in 2020 einen Anteil von 100% befallener Bäume auf. Flankiert von einer gestiegenen Anzahl an Nützlingen in der Anlage (hauptsächlich *Exochomus quadripustulatus*) konnte ein kaltes Frühjahr im Folgejahr 2021 die allgemeine Dynamik des Blutlausbefalls ausbremsen.

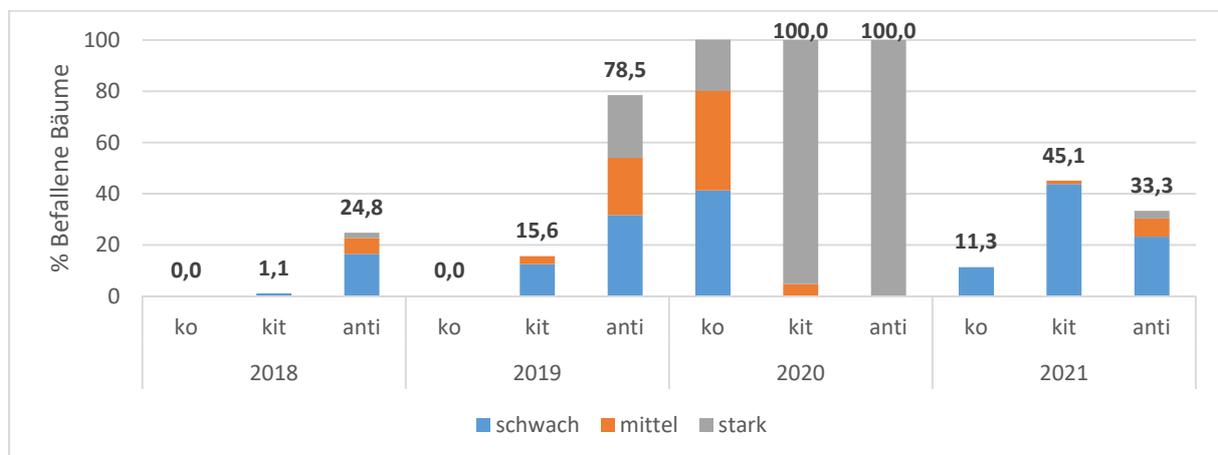


Abbildung 43: Mit der Blutlaus befallene Bäume (%) unterteilt nach Befallsstärke; ko = Kontrolle, kit = Keep in Touch®, anti = Antiacqua.

Da der Blutlausbefall in den eingesetzten Varianten in den Vorjahren stetig zugenommen hatte, wurde in 2020 ein Bausteinversuch zur Regulierung der Blutlaus angelegt. Tabelle 18 und Abbildung 44 zeigen eine Übersicht über die in der Variante Antiacqua geprüften Maßnahmen.

Tabelle 18: Übersicht über die angewandten Maßnahmen zur Regulierung der Blutlaus in den Jahren 2020 und 2021

Baustein	Maßnahme	Aufwand - Ausbringungsmenge	2020	2021
1	Leimringe	1 Leimring/Baum	R11, R12, R15, R16	R11, R12, R15, R16
2	Pinseln mit Mineralöl	20% Promanal	R11, R16	R11, R12, R15, R16
3	Einsatz von Florfliegenlarven	3.000 Tiere/Termin; 10 Tiere/Befallsstelle	R11, R15	R11, R15
4	Ohrwürmer	8 Ohrwürmer/Baum	R11, R16	R11, R16

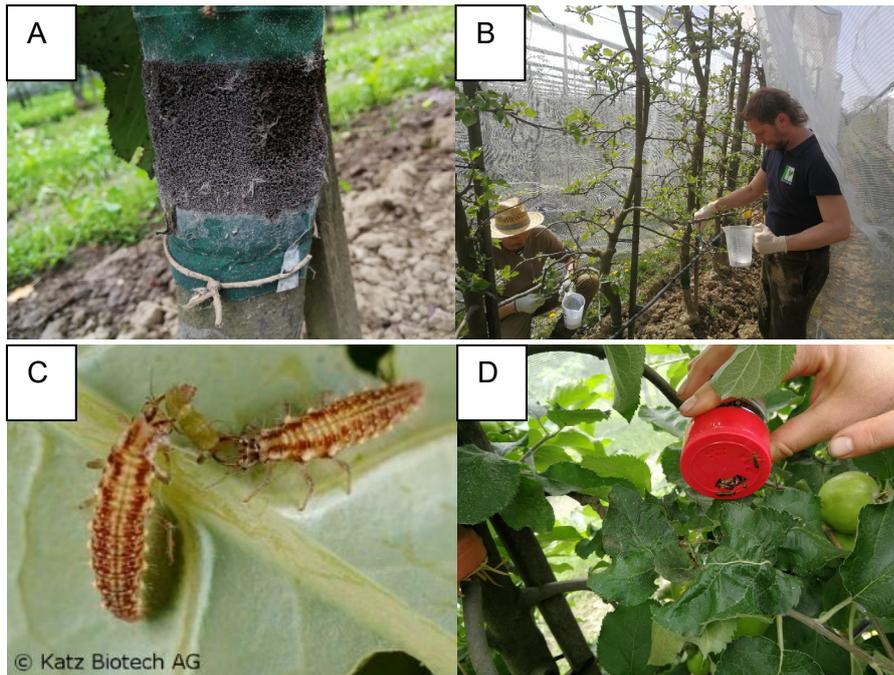


Abbildung 44: Bausteine der getesteten Strategie; A) Leimringe, B) Befallsstellen mit Mineralöl Pinseln, C) Florfliegenlarven, D) Ohrwürmer.

Die Florfliegenlarven wurden in Absprache mit der Katz Biotech AG ausgebracht. Die Larven wurden möglichst nah an der Befallsstelle zu jeweils 2 Terminen pro Jahr (2020: 22.05. & 12.06.; 2021: 09.06. & 30.06.) ausgebracht.

In Abbildung 45 A und B ist der Blutlausbefall in % befallener Bäume in den Versuchsvarianten des Antiacqua-Systems zu zwei Boniturterminen in 2020 dargestellt. Leider lässt sich aus den Bonituren keine Wirkung der Bausteinstrategie erkennen. Selbst in der Variante mit einer Kombination aus vier ergänzenden Maßnahmen war der Befallsdruck durch die Blutlaus so hoch, dass am 13.07.2020 alle Wiederholungen 100% stark befallene Bäume aufwiesen. In der Antiacqua-Variante konnte eine starke Zunahme des Blutlausbefalls mit einer Kombination zeit- und kostenintensiver Maßnahmen damit nicht verhindert werden. In 2021 war der Befallsdruck aufgrund kalter Temperaturen im Frühjahr insgesamt auf einem sehr niedrigeren Niveau sodass eine Einschätzung über die Wirksamkeit der Maßnahmen nicht erfolgen konnte.

Eine abschließende Bewertung der geprüften Einzelmaßnahmen und Kombinationsstrategien ist nach diesem Tastversuch aufgrund des unterschiedlichen Ausgangsbefalls zwischen den Versuchsjahren nicht möglich. Hierfür müsste ein mehrjähriger, mehrfachrandomisierter Versuch durchgeführt werden, um eine abschließende Aussage über die Wirksamkeit der einzelnen Maßnahmen und eine Kombination aus diesen treffen zu können.

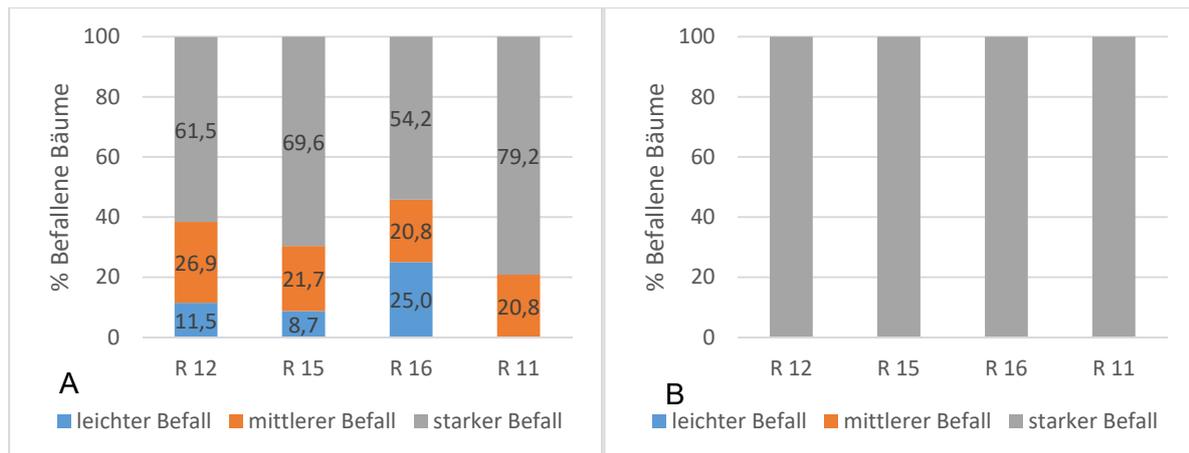


Abbildung 45: Von der Blutlaus befallene Bäume (%). A) am 10.06.2020 und B) am 13.07.2020.

### 3.6.2.2.6 Pfennigminiermotte (*Leucoptera malifoliella*)

Die jährlich erhobenen Ergebnisse der Blattschäden verursacht durch die Pfennigminiermotte sind in Abbildung 46 dargestellt. Da Blattschädigungen insbesondere in der Antiacqua-Variante aufgefallen waren, wurden bei dieser Bonitur ausschließlich Varianten bei 'Jonagored' untersucht. Dabei wurden 20 Langtriebe - jeweils 10 aus dem oberen - und 10 aus dem unteren Baumbereich – je Wiederholung bonitiert. Das entspricht 80 Langtrieben je Variante. Zur Beurteilung der Blattschäden wurde ein vierstufiges Schema verwendet (Stufe 0= kein Befall, Stufe 1= 1 Mine, Stufe 2= 2 Minen, Stufe 3= 3 und mehr Minen pro Blatt). Während das generelle Befallsniveau jährlichen Schwankungen unterliegt, nahm in den Netzvarianten sowohl die Anzahl an befallenen Blättern als auch die Intensität der Schädigung zu. Dabei trat in der Antiacqua-Variante jährlich ein höherer Befall auf als in der Keep in Touch®-Variante.



Abbildung 46: Pfennigminiermottenbefall an Blättern der Langtriebe bei 'Jonagored'; kon = Kontrolle, kit = Keep in Touch®, anti = Antiacqua.

### 3.6.2.2.7 Pilzliche Krankheitserreger: Apfelschorf (*Venturia inaequalis*), Blattfallkrankheit (*Marssonina coronaria*)

Um den Schorfbefall der Blätter zu ermitteln wurden an 25 Langtrieben je Wiederholung alle Blätter auf deren Befall untersucht. Das entspricht insgesamt einer Anzahl 100 Langtrieben je

Variante. Der Fruchtschorfbefall wurde mit 150 Früchten je Wiederholung (600 Früchte je Variante) im Feld bestimmt. Die eingenetzten Varianten zeigten über die Jahre sowohl auf den Blättern (Abbildung 47 A) als auch auf den Früchten (Abbildung 47 B) einen geringeren Schorfbefall als die nicht eingenetzten Kontrollbäume. Besonders hervorzuheben ist hierbei die Antiacqua-Variante, die trotz der bereits beschriebenen jährlichen Einsparungen von 50 % Fungizid Behandlungen in den Jahren 2019-2021, den geringsten Schorfbefall aufwies.

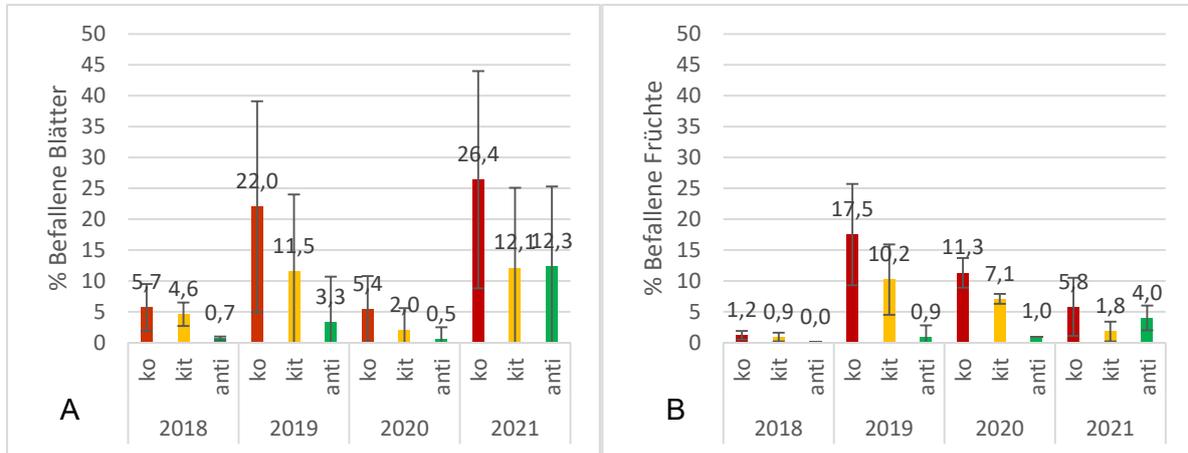


Abbildung 47: A) Schorfbefall an Blättern (%), B) Schorfbefall an Früchten (%); ko = Kontrolle, kit = Keep in Touch®, anti = Antiacqua.

Des Weiteren wurde in den Jahren 2019-2021 eine Bonitur zur Einschätzung des Befalls der Blätter mit der Blattfleckenkrankheit *Marssonina coronaria* bei der Sorte 'Jonagored' durchgeführt (siehe Abbildung 48). Obschon in dem niederschlagsreichen Jahr 2019 69 % der Bäume im System Antiacqua Symptome der Blattfleckenkrankheit aufwiesen, hat sich in den folgenden Jahren kein relevanter Befall eingestellt. Auch wenn Befall festgestellt wurde, waren die Symptome der befallenen Bäume variantenübergreifend nur leicht ausgeprägt. Es blieb in allen Jahren nur bei vereinzelt Flecken oder vereinzelt gelben Blättern.

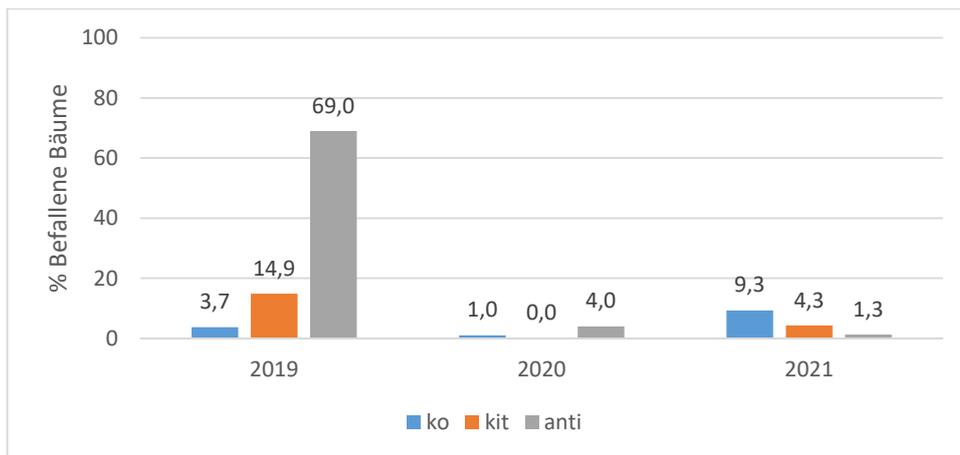


Abbildung 48: Anteil durch *Marssonina coronaria* befallener Bäume (%); ko = Kontrolle, kit = Keep in Touch®, anti = Antiacqua.

### 3.6.2.3 Praktikabilität der Systeme: Zeitmessungen

Nachdem sich das installierte Original-System im ersten Versuchsjahr als relativ zeitintensiv in Bezug auf das „Schließen“ (Frühjahr) und „Öffnen“ (Herbst) der Karabinervorrichtung zeigte, wurde eine praxisnahe Anpassung des Verschlussmechanismus in 2018 vorgenommen. Die anfänglich verwendeten Karabinervorrichtungen wurden ab Versuchsjahr 2019 nicht weiter genutzt. Stattdessen wurde an den systemimmanenten Hagelpfosten eine Plakette in ca. 50 cm Höhe befestigt. Durch die Befestigung des passenden Gegenstücks am unteren Ende des Netzes, können diese miteinander verbunden werden, sodass das Netz an jedem Hagelpfosten eingehängt ist. Dementsprechend führen kleinere Pflegearbeiten unter Netz bei denen nur die Plaketten geöffnet und geschlossen werden (Bspw. Formierungsarbeiten, Sommerriss etc.), zu einem zeitlichen Mehraufwand von 4,7 AKh/ha, verglichen zu nicht eingetzten Systemen.

Tabelle 19: Zeitangaben zum Schließen und Öffnen der Systems in Arbeitskraftstunden/ha.

	Variante	Schliessen (Frühjahr)	Öffnen (Herbst)	Summe
2018	kit	20	45	<b>65</b>
	anti	30	70	<b>101</b>
2020	kit	15	24	<b>39</b>
	anti	15	44	<b>59</b>
Burmann & Kunde (2005)	Hagelnetz	20-25	20-25	<b>40-50</b>

Zusätzlich zu den oben angeführten kleineren Arbeiten müssen die Systeme im Frühjahr geschlossen und vor der Ernte wieder geöffnet („winterfest“) werden. Die gemessenen Arbeitszeiten dazu sind in Tabelle 19 aufgeführt. Den real gemessenen Zeiten sind Literaturangaben (Burmann & Kunde 2005) für klassische Hagelnetzsysteme gegenübergestellt. Durch die Umgestaltung des Schließmechanismus, das beidseitige Arbeiten mit der Arbeitsbühne und die zunehmende Erfahrung im Handling der Systeme, konnten die Öffnungs- und Schließzeiten denen eines üblichen Hagelnetzsystems angenähert werden. Einzig das Öffnen des Antiacqua Systems ist mit 44 Akh/ha in etwa doppelt so zeitintensiv wie Keep in Touch®- oder Hagelnetzsysteme.

### 3.6.2.4 Wirtschaftlichkeit der Systeme

Tabelle 20 zeigt die anfallenden Materialkosten bei der Erstellung der verschiedenen Netzsysteme. Während die Kosten für das Keep in Touch®-System etwa 3.500 € unter denen des Hagelnetzsystems liegen, fällt das Antiacqua-System mit Kosten von 41.734 € (+ 109 % im Vergleich zur Hagelnetzvariante) ins Gewicht.

Tabelle 20: Materialkosten (€) der Systeme für einen Modellhektar im Apfelanbau \*Stand 23.11.2018, \*\*Stand 27.12.2021.

Hagelnetz*	19.924
Keep in Touch®**	16.459
Antiacqua**	41.734

Tabelle 21 zeigt eine Abschätzung des Einsparpotentials an Pflanzenschutzmitteln der beiden Netzsysteme verglichen mit dem üblichen Pflanzenschutzaufwand unter einem Hagelnetzsystem. In beiden Systemen kann auf die Ausbringung von CpGV-Präparaten (Madex® MAX) zur Regulierung des Apfelwicklers verzichtet werden.

Tabelle 21: Berechnung des Einsparpotentials an Pflanzenschutzmitteln.

\*\* Produkte betreffen nur die Antiacqua-Variante.

Produkt	Kosten * Anwendung / Jahr	durchschn. Durchschn. eingesparte Ausgaben/Jahr
Madex Max	50 € * 10	-500
**Curatio	25 € * 4	-100
** Cuprozin progress	32 € * 5	-160
**Kumar	62 € * 2	-124
**Netzschwefel	8 € * 6	-48
**Neem Azal TS	150 € * 1	+150
<b>Einsparung Keep in Touch®</b>	<b>500 €</b>	
<b>Einsparung Antiacqua</b>	<b>782 €</b>	

Zusätzlich ist es vertretbar in der Antiacqua-Variante auf die Ausbringung von Fungiziden im Sommer zu verzichten (Curatio; Cuprozin progress; Kumar; Netzschwefel). Allerdings wird in der Antiacqua-Variante eine zusätzliche Behandlung gegen Läuse (Neem Azal®-TS) mit eingerechnet. In der Summe lassen sich somit jährlich anfallende, kalkulierte Kosten für Pflanzenschutzmittel von ca. 500 € (Keep in Touch®) und 782 € (Antiacqua) einsparen.

Eine weitere anfallende Kostenstelle, sind die systemimmanenten jährlichen Kosten (siehe Tabelle 22). Diese gehen auf die vorgenommenen Zeitmessungen im vorhergehenden Kapitel zurück. In der Folge werden Arbeitgeberkosten von 12 €/Akh für das Öffnen und Schließen der Systeme, sowie für das händische Bürsten der Blutlaus angenommen. Der Wert orientiert sich an den Arbeitgeberkosten des momentan gültigen Mindestlohns. Kosten für die Überfahrt werden mit 45 €/ha veranschlagt. Diese Kosten sind in Burmann & Kunde (2005) hinterlegt und beinhalten Personal-, Maschinen-, und Dieselposten.

Tabelle 22: Personalkosten (€/ha) im Vergleich zu üblichem Hagelnetz (1Akh landw. Aushilfe= 20 € AG Kosten

Tätigkeit	Keep in Touch	Antiacqua
Mehraufwand Öffnen/Schliessen	120 (10 Akh)	228 € (19 Akh)
Überfahrten	-	- 675 € (15 Überfahrten)
Zusätzliches händisches Bürsten Blutlaus	-	1.080 € (90Akh)
<b>Summe</b>	<b>120 €</b>	<b>633 €</b>

Den eingesparten Pflanzenschutzmitteln gegenüber steht ein zeitlicher Mehraufwand durch das Öffnen und Schließen der Systeme zu durchschnittlich 2 Terminen pro Saison (Handausdünnung und Sommerriss) von rund 10 Akh/ha. Zusätzlich fallen bei der Antiacqua-Variante weitere 9 Akh an um das System winterfest zu machen. Durch den Verzicht auf Fungizide können bei der Antiacqua-Variante jährlich etwa 15 Überfahrten eingespart werden. Sehr zeit- und damit kostenintensiv wird ein jährlich anfallender, händischer Bürstdurchgang um die Ausbreitung der Blutlaus zu regulieren. Dieser fällt mit 90 Akh/ha ins Gewicht. Dabei könnte in Jahren mit starkem Befall durchaus ein zweiter Bürstdurchgang notwendig werden um die Ausbreitung der Blutlaus in der Antiacqua-Variante zu begrenzen.

Zusammengefasst bleibt bei Berücksichtigung der hier aufgeführten jährlichen Kosten eine Ersparnis von 380 € für das Keep in Touch®-System und 149 € für das Antiacqua-System.

Die hier aufgeführte Kostenaufstellung bildet einen greifbaren, im Versuchszeitraum erfassten Teil der Kosten und Ersparnisse ab und erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Es gibt weitere Parameter der Wirtschaftlichkeit die hier nicht aufgeführt werden können.

Beispielsweise hat der durchgeführte Versuch gezeigt, dass der Outpack an Tafelware am selben Standort und im gleichen Jahr bei zwei Sorten in unterschiedlichen Systemen höher sein kann. Dazu kommen weitere Faktoren, welche die Rentabilität der Systeme beeinflussen können, wie die lokalen klimatischen Bedingungen, die Zusammensetzung an Schaderregern (tierisch und pilzlich) etc.

### 3.6.2.5 Praxisversuche

#### 3.6.2.5.1 Praxisversuch1: Befall an grüner Apfelblattlaus (*Aphis pomi*) und Tastversuche zur Regulierung

Nachdem der Befall an grünen Apfelblattläusen in 2020 zu gering für eine Versuchsanstellung war, wurde in 2021 auf einem ökologisch wirtschaftenden Praxisbetrieb ein Versuch zur Ausbringung der räuberischen Gallmücke (*A. aphidimyza*) zur Regulierung der grünen Apfelblattlaus durchgeführt. Der Versuch wurde an Bäumen der Sorte 'Topaz' unter einem Keep in Touch®-System durchgeführt. Die Methodik der Durchführung wurde bereits vorhergehend beschrieben. Wie in Abbildung 49 dargestellt waren am Tag der Ausbringung der Gallmücken 32 % bzw. 26 % der Langtriebe von der grünen Apfelblattlaus befallen. Allerdings reduzierte sich der Befall nach den zwei Ausbringterminen der Gallmücken sowohl in der Ausbringungsfläche als auch in der Kontrollfläche auf 1 % befallene Triebe am 13.08.2021. Auf Grundlage des allgemein starken Befallsrückgangs konnte keine zusätzliche Wirksamkeit der Gallmücken festgestellt werden.

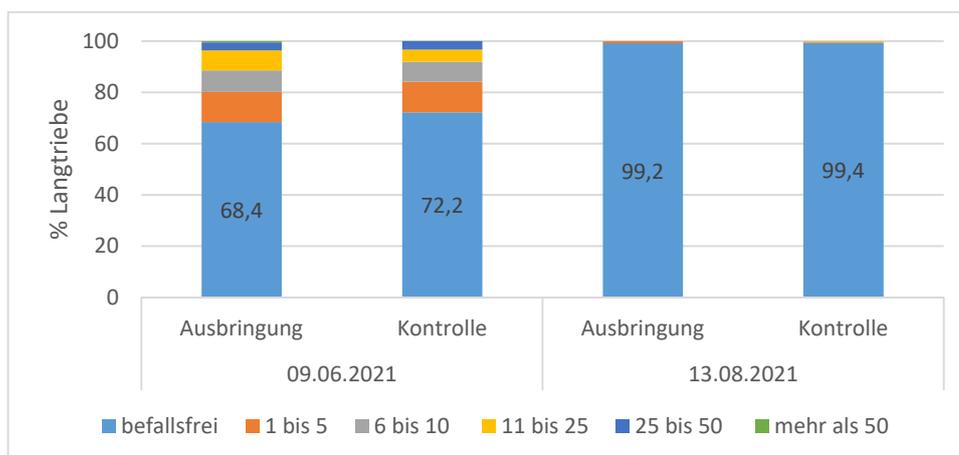


Abbildung 49: Bonitierte Langtriebe N= 500 / Variante.

#### 3.6.2.5.2 Praxisversuch 2: Vergleich 'Braeburn' unter Keep in Touch® und unter Hagelnetz

Auf einem Praxisbetrieb wurden seit 2019 der Wickler- und Fruchtschorfbefall, sowie die Fruchtqualität (Kalibergröße und Ausfärbung) bei Äpfeln der Sorte 'Braeburn' ohne Hagelnetz und unter Keep in Touch® miteinander verglichen (Abbildung 50). Der Befall an Wicklern war mehrjährig auf niedrigem Niveau. Falls Befall festzustellen war, so war dieser in der Kontrollvariante höher. Der Fruchtschorf zeigte sich jährlich schwankend, allerdings in jedem Jahr höher in der nicht eingenetzen Kontrollvariante.

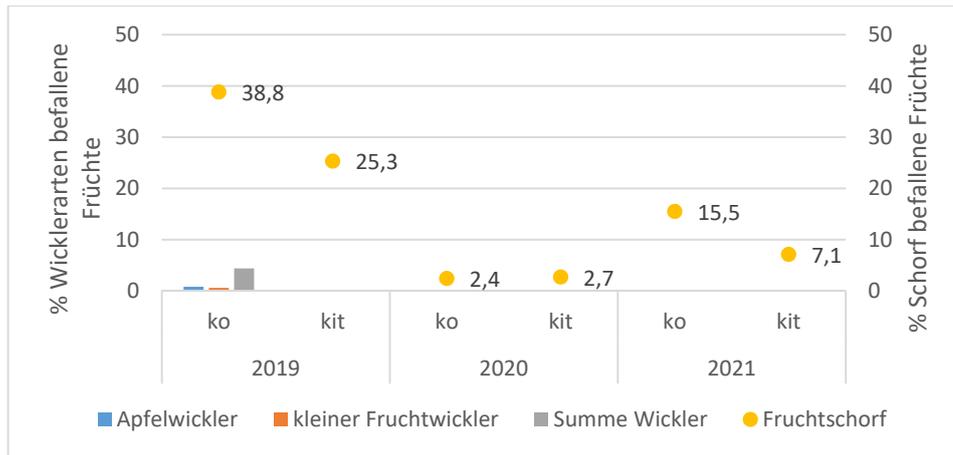


Abbildung 50: Wicklerbefall (%) und Fruchtschorf (%) N= 500 Früchte/Variante.

Abbildung 51 zeigt die Fruchtqualität und Kalibergrößenverteilung über die Jahre 2018-2021. In diesem Zeitraum konnte bei jährlich schwankenden Werten kein Einfluss des Keep in Touch®-Systems auf die Fruchtqualitätsparameter festgestellt werden.

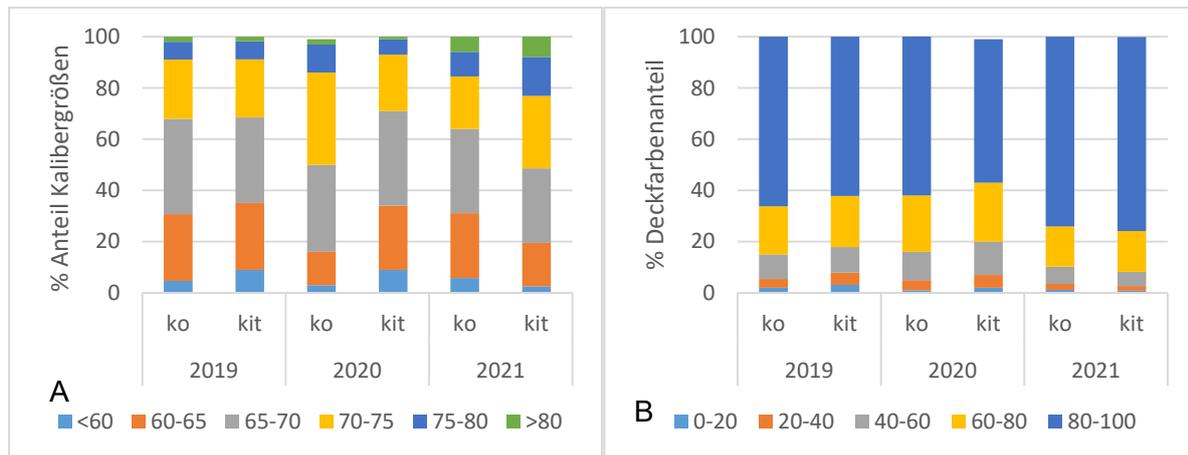


Abbildung 51: A) Kalibergrößenverteilung, B) Ausfärbung); ko = Kontrolle, kit = Keep in Touch ®.

## 4 Diskussion der Ergebnisse

Aufgrund der zunehmenden Resistenzentwicklung gegenüber dem CpGV der Genomgruppe E und dem noch unklaren Risiko einer Resistenzentwicklung gegenüber dem Isolat der Genomgruppe B war ein intensives Monitoring der mit ABC V14 behandelten Anlagen sowie das Monitoring aller Anlagen im Gebiet auf Auffälligkeiten bei einer Behandlung mit Isolaten auf der Basis von CpGV-S von sehr großer Bedeutung. Im Projektzeitraum wurden insgesamt 30 AW-Populationen auffällig, die mit Isolaten auf der Basis von CpGV-S behandelt wurden. Bei der Überprüfung der Empfindlichkeit gegenüber dem entsprechenden Reinisolat CpGV-S zeigte sich bei fast allen Populationen eine Resistenzentwicklung in unterschiedlich starker Ausprägung. Die Gesamtzahl resistenter AW-Populationen mit bestätigter Typ I- und Typ II-Resistenz stieg somit im Projektzeitraum von 28 auf 64 an.

In den Anlagen, die mit ABC V14 behandelt wurden, konnte eine starke Reduktion des aktiven Befalls beobachtet werden, die bereits in der zweiten Generation des ersten Jahrs der Anwendung dann auch zu einer starken Reduktion des Fruchtschadens führte. Fast alle Anlagen blieben dann in den Folgejahren auf einem sehr niedrigen Befallsniveau und wiesen einen hohen Anteil an abgestopptem Befall auf. Für alle Anlagen, die im Rahmen des Monitorings von ABC V14 getestet wurden, konnte in den Resistenzschnelltests keine

Resistenz nachgewiesen werden. Dies bedeutet, dass das bisher potenteste Isolat CpGV-E2 der Genomgruppe B nach wie vor die volle Wirksamkeit zeigt. Einzig eine Anlage in Süddeutschland ist auffällig und sollte auf jeden Fall weiter beobachtet werden. Auch in einem umfangreichen Simulationsexperiment im Labor, in dem eine in Zucht genommene AW-Population über insgesamt 17 Generationen unter Virusdruck stand, war keine Resistenzentwicklung gegenüber dem CpGV-E2 zu beobachten. Dieses Ergebnis ist zwar nicht direkt auf Freilandbedingungen übertragbar, dennoch kann davon ausgegangen werden, dass eine Resistenzbildung gegenüber Genomgruppe E des CpGV auch bei Langzeitanwendung derzeit nicht zu erwarten ist.

Das Simulationsexperiment zeigte auch, dass die ursprüngliche Typ II-Resistenz des untersuchten AW-Stammes durch Selektion auf CpGV-S über 10 Generationen zu einem Anstieg des Resistenzniveaus um mehr als das Hundertfache führte. Ohne jeglichen Virusdruck sank das Resistenzlevel im Labor dagegen wieder kontinuierlich und erreichte nach 24 Generationen wieder das ursprüngliche Resistenzniveau. Bei einer Selektionslinie des AW-Stammes (PK), die während des gesamten Selektionsexperimentes keinerlei Virusdruck ausgesetzt war, ging die Typ II-Resistenz ebenfalls stetig zurück und nach 40 Generationen war die Empfindlichkeit der Tiere gegenüber CpGV-S vergleichbar mit der des sensitiven AW-Laborstammes CpS. Diese Beobachtung bestätigt Ergebnisse früherer Untersuchungen an einem homogen resistenten Laborstamm (CpR), wobei hier eine erneute Virusexposition wieder zu einem sprunghaften Anstieg der Resistenz führte (Undorf-Spahn et al. 2012). Die Ergebnisse des Selektionsversuches geben Hinweise auf die Dynamik des Resistenzgeschehens und zeigen, wie wichtig es ist, bereits bei ersten Beobachtungen einer Resistenz in einer Anlage auf ein wirksames CpGV-Präparat umzusteigen, um die Resistenz in der Population nicht weiter zu forcieren. Bei Absetzen des unwirksamen CpGV-Isolates, ist davon auszugehen, dass eine phänotypische Resistenz zwar nicht mehr zu beobachten ist, die Resistenzgene aber innerhalb der AW-Population vorhanden bleiben und bei erneuter Virusexposition wieder aktiviert werden können.

Durch systematische Untersuchungen der Versuchstiere des Simulationsexperimentes mittels PCR-Analysen konnten latente subletale Virusinfektion in allen Stadien des Apfelwicklers nachgewiesen werden. Außerdem wurde der Nachweis erbracht, dass eine vertikale Transmission des CpGV von der Elterngeneration auf die Nachkommen stattfindet. Auffällig war dabei, dass in den untersuchten Tieren nicht nur DNA des Inokulum-Isolates, sondern auch anderer CpGV-Isolate detektiert wurden. Auch in Tieren die ohne Virusexposition gehalten wurden, persistierten die CpGV-Isolate über mehrere Generationen. Ergänzend dazu konnten auch in Freilandtieren, die in einer über zwei Jahre unbehandelten Anlage gesammelt wurden, die Virusisolate nachgewiesen werden, die in den Vorjahren mit den verwendeten CpGV-Präparaten ausgebracht wurden.

Wie die vorliegenden Untersuchungen sowohl an Labor- als auch Freilandtieren gezeigt haben, wird vermutet, dass sich nicht invasive Infektionen stabil bis zu einem gewissen Grad in der Population halten können, was ebenfalls Untersuchungen von Eastwell et al. (1999) belegten. In Apfelanbaugebieten in British Columbia wurden in Wildpopulationen bei Diapausetieren und aus Äpfeln extrahierten Larven CpGV-Vorkommen von 23 % gefunden.

Es stellt sich die Frage, inwieweit die beobachtete Viruslatenz in den AW-Populationen in Zusammenhang steht mit der Entwicklung von Resistenzen. Diese Frage konnte im Rahmen des Projektes nicht geklärt werden und es besteht daher diesbezüglich weiterer Forschungsbedarf. Möglicherweise können subletale CpGV-Infektionen aber auch dazu beitragen, die Populationsdichte resistenter AW-Populationen niedrig zu halten. Im Freiland könnten Stressfaktoren wie z. B. auch die Applikation von CpGV-Isolaten zu einer Replikation der latenten Viren in den Wirten führen.

Um die Wirkung von Schwefelkalk (Curatio) auf CpGV-Beläge zu untersuchen wurde im Labor unter standardisierten Bedingungen ein Tauchversuch mit Äpfeln durchgeführt. Die Versuchsergebnisse zeigten, dass negative Auswirkungen auf die Virusaktivität nicht auszuschließen sind, insbesondere, wenn die Schwefelkalkapplikation nach der CpGV-

Behandlung erfolgt. Empfehlungen für die Praxis lassen sich aufgrund dieser Beobachtung noch nicht ableiten. Hierzu müsste zunächst ein ergänzender Versuch unter praxisnahen Bedingungen im Labor bzw. im Freiland durchgeführt werden.

Daten über die Wirksamkeit der Einnetzsysteme Keep in Touch® und Antiacqua konnten in den Jahren 2018 bis 2021 erhoben werden. Die dabei bewerteten Parameter sind in Tabelle 23 zusammengefasst dargestellt. Darüber hinaus wurde in dieser Tabelle für alle erfassten Parameter eine Bewertung der beiden geprüften Netzsysteme im Vergleich zu einem klassischen Hagelnetzsystem vorgenommen.

Bei den Sorten 'Topaz' und 'Jonagored' zeigten sich über die Jahre weder in der Erntemenge noch in der Fruchtqualität merkliche Unterschiede zwischen den geprüften Netzsystemen. Einzig in 2019 konnte in der Antiacqua-Variante durch die Reduktion des Fruchtschorfes ein höherer Anteil an Tafelware produziert werden. In beiden getesteten Netzsystemen konnte, bei sehr niedrigem Druck des Apfelwicklers, während des Versuchszeitraumes auf eine Ausbringung von CpGV-Präparaten verzichtet werden. Zusätzlich ließen sich die jährlichen Behandlungen mit Fungiziden in der Antiacqua-Variante um 50 % reduzieren. Gleichzeitig konnte in dieser Variante der Befall durch Apfelschorf (Blatt und Frucht) am stärksten reduziert werden. Das Keep in Touch®-System zeigte im Vergleich zur Kontrollvariante ebenfalls einen positiven Einfluss auf den Schorfbefall, jedoch in geringerem Maße als das mit zusätzlichem Netz im Kronenbereich versehene Antiacqua-System. Ein Verzicht auf fungizide Behandlungen war im System Keep in Touch® nicht möglich. Allerdings zeigte die Antiacqua-Variante den stärksten Befall bei unterschiedlichen tierischen Schaderregern (Blutlaus, grüne Apfelblattlaus, Pfennigminiermotte).

Tabelle 23: Bewertung der getesteten Netzsysteme im Vergleich zu einem klassischen Hagelnetzsystem Legende == sehr negativ; -= negativ; 0= neutral; += positiv; +=+ sehr positiv

	Keep in Touch	Antiacqua
Ertrag	0	0
Fruchtqualität	0	0
Einsparpotential Pflanzenschutz	+	++
Schorfregulierung	+	++
Tierische Schaderreger	-	--
Arbeitszeitbedarf	-	--
Erstellungskosten	+	--
Entsorgung Material	-	--

Besonders durch den starken Befall der Blutlaus in 2020 waren die Bäume in der Folge stark in ihrem Wuchs beeinträchtigt. Das Befallsniveau entwickelte sich in der Antiacqua-Variante damit auf ein nicht tolerierbares Niveau. Die in 2020 und 2021 durchgeführten Tastversuche zur Regulierung der Blutlaus durch die Implementierung unterschiedlicher - teilweise sehr kostenintensiver - Maßnahmen und Kombinationen dieser Maßnahmen (Leimringe, Befallsstellen mit Mineralöl Pinseln, Ausbringung von Ohrwürmern, gezielte Ausbringung von Florfliegenlarven) konnten keine ausreichende Regulierungswirkung entfalten. Neben der Blutlaus konnte ein verstärkter Befall durch die Pfennigminiermotte und die grüne Apfelblattlaus in der Antiacqua-Variante festgestellt werden. Aufgrund der fehlenden Regulierungsmöglichkeiten in der Ökologischen Produktion entwickelte sich auch bei diesen Schädlingen der Befall in einzelnen Versuchsjahren auf ein nicht tolerierbares Niveau. Zwar trat auch in der Keep in Touch-Variante im Vergleich zur Kontrollvariante ein erhöhter Befall an tierischen Schaderregern auf. Jedoch verblieb das innerhalb des Versuchszeitraums resultierende Befallsniveau in diesem System auf einem tolerierbaren Niveau.

Bei der Bewertung der Wirtschaftlichkeit zeigten sich für das Antiacqua-System insbesondere die hohen Materialkosten (+ 109 % mehr als ein Hagelnetzsystem), sowie die jährlich in höherem Umfang anfallenden Personalkosten als großes Manko. Das Keep in Touch®-System war mit leicht geringeren Kosten sowohl bei Material als auch im laufenden Betrieb eine vergleichbare Alternative. Ein weiterer gewichtiger Punkt der vor der Installation eines Einzelreihennetzsystems in Erwägung gezogen werden muss, ist der Materialinput. Um einen Hektar an Obstbaufläche zu bestücken sind etwa 10.500 m<sup>2</sup> Hagelnetz notwendig. Im Vergleich dazu liegen die benötigten Netzflächen beim Keep in Touch®-System mit 17.400 m<sup>2</sup> (+ 67 %) und beim Antiacqua-System mit 23.200 m<sup>2</sup> (+ 122 %) deutlich darüber. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund einer bislang fehlenden, flächendeckenden Wiederraufbereitung bzw. Entsorgung der Netze kritisch zu bewerten.

## **5 Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse**

Die erzielten Ergebnisse bilden die Grundlage für die jeweiligen Beratungsempfehlungen zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau in den einzelnen Regionen. Ein Teil der Ergebnisse wurde bereits in Praktikerzeitschriften (z. B. Öko-Obstbau) publiziert und steht damit der Praxis zur Verfügung. Zudem wurden von 2017 bis 2022 auf der Ökologischen Obstbautagung sowie der Internationalen Wissenschaftstagung zum Öko-Obstbau Ecofruit sowie weiteren Tagungen und Arbeitssitzungen Teilergebnisse der Praxis und Beratung vorgestellt.

## **6 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen**

Das Resistenzmonitoring wurde weitgehend wie geplant durchgeführt. Im Jahr 2017 musste allerdings aufgrund des Ausfalls durch den Blütenfrost im Süden das Boniturverfahren geändert werden – es wurden nur die wenigen befallenen Früchte gesammelt, bei denen der Befall abgestoppt war. Eine Auswertung der Höhe des Befalls in Prozent war aufgrund des kaum vorhandenen Behangs nicht möglich. Daher ist dieses Jahr in den Übersichtsgrafiken nicht dargestellt.

Nachdem im Rahmen des Resistenzmonitorings erste Probleme auch in einer Anlage in Süddeutschland beobachtet wurden, in der bereits das Präparat ABC V14 seit 2017 zum Einsatz kam, war vorgesehen, die Tiere aus dieser Anlage zwecks Untersuchungen zum Resistenzmechanismus in Zucht zu nehmen. Hierfür wurden erstmals im Herbst 2019 in Zusammenarbeit mit Frau Kienzle in dieser Anlage (BW-HI) Diapausetiere gesammelt und am JKI überwintert. Aufgrund einer hohen Wintermortalität entwickelten sich im Frühjahr 2020 nur wenige Adulte und es kam zu keiner Eiablage. Da das Phänomen auf wenige Sorten bzw. Reihen in der Anlage beschränkt war, wurde im Jahr 2020 daher die Bonitur abgewandelt und es konnten über 100 Larven gewonnen und am JKI zum Aufbau einer Laborzucht überwintert werden. Im Frühjahr 2021 fand zwar eine Entwicklung bis zum Falterstadium statt, die Nachkommen gingen sogleich wieder in ein Diapausestadium. Nach vier Monaten Lagerung entwickelten sich zwar Falter, deren Nachkommen jedoch erneut in ein Diapausestadium übergingen. Da während des Projektzeitraums keine Dauerzucht etabliert werden konnte, konnten die Untersuchungen zum Resistenzmechanismus nicht wie geplant durchgeführt werden.

Im Arbeitspaket 4 wurde im Zusammenhang mit der Entwicklung neuer Kupferalternativen zur Schorfbekämpfung der Einfluss von Schwefelkalk (Curatio, Biofa AG) auf die Aktivität von CpGV-Spritzbeläge auf den behandelten Früchten untersucht. Hierfür wurden in einer unbehandelten Apfelanlage der Projektpartner der DLR Rheinpfalz separate Applikationen von

Schwefelkalkbrühe zeitlich mit der Abfolge der Virusbehandlungen variiert. Die Aktivitätsbestimmung der CpGV-Spritzbeläge auf den behandelten Früchten in Labortests mit AW-Larven ergab insgesamt eine zu niedrige Mortalität und keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu den Kontrollvarianten. Eine Aussage bezüglich eines Einflusses von Curatio-Spritzbelägen auf die Aktivität des CpGV konnte nicht getroffen werden. Da der Freilandversuch im Sommer 2021 nicht wiederholt werden konnte, wurde ein Applikationsversuch mit Äpfeln und Madex® MAX unter standardisierten Laborbedingung am JKI durchgeführt, in dem die Wirksamkeit unterschiedlicher Virusaufwandmengen auf den Äpfeln gegenüber Apfelwicklerlarven getestet wurden. Der Versuch lieferte zwar erste Hinweise für eine potentiell inaktivierende Wirkung von Schwefelkalkbelägen auf das CpGV, um Empfehlungen für die Praxis geben zu können, müsste dieser Versuch jedoch im Labor als auch Freiland wiederholt werden.

In Laborversuchen konnten potentielle positive Effekte von zwei Zusatzstoffen auf der Basis von Hefen, die in Präparaten zur Regulierung von Lagerkrankheiten und Feuerbrand zugelassen sind, auf die Aktivität des CpGV nicht eindeutig nachgewiesen werden. Eine negative Wirkung des Larvenfutters, das Antibiotika und Fungistatika enthält, auf die Aktivität der Hefen war nicht auszuschließen. Trotz zahlreicher Vorversuche konnte kein experimenteller Ansatz gefunden werden, um die Wirkung der Hefepreparate zu überprüfen. Die Laborversuche wurden daher in Abstimmung mit der Produktionsfirma nicht fortgeführt und die Wirkung nur in einem Freilandversuch 2018 überprüft.

Im Arbeitspaket 5 war vorgesehen, den Resistenzstatus in Altanlagen, in denen zwischen 2004 und 2006 eine CpGV-M-Resistenz nachgewiesen wurde und die seither unter Einsatz resistenzbrechender Präparate unauffällig blieben, zu überprüfen. Außer im Jahr 2017 konnten in den Folgejahren in keiner weiteren Anlage Larven für die Laboruntersuchungen gesammelt werden. In fast allen noch existierenden Anlagen, bei denen eine CpGV-M-Resistenz festgestellt wurde, trat inzwischen auch eine CpGV-S-Resistenz auf. Die wenigen Anlagen, wo dies noch nicht der Fall war blieben weiterhin unauffällig.

Im Arbeitspaket 6 wurden Einnetzungssysteme auf deren Eignung für den ökologischen Apfelanbau untersucht. Die Systeme konnten aufgrund einer verzögerten Lieferung und Installation der Systeme erst nach Beginn des Apfelwicklerfluges in 2017 installiert werden. Für dieses Versuchsjahr liegen deshalb keine vollständigen Daten vor. In 2018 hat ein Hagelereignis eine Auswertung von Fruchtqualität und Mostursachen nicht möglich gemacht. Über den Versuchszeitraum rückte die Regulierung der Blutlaus in der Antiacqua-Variante in den Fokus. Eine wirksame Regulierungsstrategie für diesen Schaderreger konnte im Rahmen des Projektes nicht erarbeitet werden. Hier liegt weiterer Forschungsbedarf.

## 7 Zusammenfassung

### *Resistenzmonitoring*

Im Projektzeitraum wurden nach Madex® MAX Behandlungen insgesamt 30 AW-Populationen auffällig und im Labor einer Überprüfung der Empfindlichkeit gegenüber dem entsprechenden Reinisolat CpGV-S unterzogen. In den Resistenztests zeigten AW-Populationen aus drei Anlagen keine Resistenzentwicklung, während bei den übrigen Populationen eine beginnende und teilweise schon ausgeprägte Typ II-Resistenz nachgewiesen wurde. Die meisten Anlagen wurden in Norddeutschland identifiziert. In drei Anlagen, in denen sich eine Typ II-Resistenz zeigte, wurde bereits in früheren Jahren eine Typ I-Resistenz festgestellt. Die Gesamtzahl resistenter AW-Populationen mit bestätigter Typ I- und Typ II-Resistenz stieg weiter an und liegt aktuell bei 64.

Bei allen Betrieben mit nachgewiesener Resistenz gegenüber CpGV-S zeigte sich nach der Umstellung auf ABC V14 eine sehr gute Wirkung und ein starker Rückgang der Population nach einer Generation, die behandelt wurde. Von sieben Populationen wurde zwischen 2017 und 2021 aufgrund von etwas aktivem Befall bei der Bonitur sicherheitshalber eine Bestimmung des Resistenzstatus im Labor durchgeführt. Die Entwicklung einer Resistenz

gegenüber dem Isolat CpGV-E2 der Genomgruppe B konnte in den Resistenzschnelltests nicht bestätigt werden, was ebenfalls für eine gute Wirksamkeit des resistenzbrechenden CpGV-Isolates auf Dauer spricht. Besonders alarmierend war allerdings die Beobachtung in einer Anlage in Süddeutschland, bei der 2017 und 2018 eine verminderte Empfindlichkeit im Freiland und in Labortests festgestellt wurde. In 2018, 2019 und 2020 wurden in dieser Anlage im Sommer über die Sammlung befallener Früchte und im Herbst über Wellpapperlinge Larven gesammelt, um die Population im Labor weiter zu untersuchen. Eine Inzuchtnahme von Freilandtieren im Labor und weiterführende Untersuchungen über eine potentielle Resistenzbildung waren aufgrund einer hohen Wintersterblichkeit der AW-Larven und wiederholter Diapause im Labor während des Projektes aber nicht erfolgreich. Der Apfelwicklerbefall in der Anlage war zwar etwas höher als in den anderen Anlagen, eskalierte aber derzeit zumindest noch nicht, was dafürspricht, dass es die im Labor beobachtete Mortalität auch im Freiland gibt. Es handelt sich dabei auch um einen kleineren, räumlich eher begrenzten Befallsherd in einer größeren Anlage.

#### *Testung neuer CpGV-Isolate*

Für ein langfristiges Resistenzmanagement ist die Selektion weiterer resistenzbrechender CpGV-Isolate von großer Wichtigkeit. In Bioassays im Labor zeigte ein neues Isolat (ABC V45, Fa. Andermatt Biocontrol AG) gegenüber verschiedenen resistenten AW-Laborstämmen eine ebenso gute Wirksamkeit wie gegenüber dem sensitiven AW-Laborstamm CpS.

#### *Resistenzstatus in Altanlagen mit Typ I-Resistenz*

Der Resistenzstatus einer Apfelwickler-Population mit nachgewiesener Typ I-Resistenz gegenüber CpGV-M (Genomgruppe A) in Süddeutschland, die 2017 unbehandelt blieb, wurde in Schnelltests im Labor erneut überprüft. Dabei zeigte sich, dass sich das Niveau der Typ I-Resistenz in der Anlage seit 2004 nicht wesentlich verändert hat. Allerdings zeigten PCR-Analysen infizierter Versuchstiere, dass in diesen auch CpGV-S repliziert wurde, was möglicherweise auf eine subletale Infektion mit diesem Isolat hinweist.

#### *Resistenzentwicklung gegenüber ABC V14*

Bei der Langzeitanwendung resistenzbrechender Viruspräparate ist die Gefahr einer erneuten Resistenzbildung möglichst zu vermeiden, daher wurden in Simulationsversuchen im Labor an einem resistenten AW-Stamm (BW-HU-15 Most) mit einer Typ I- und Typ II-Resistenz über mehrere Generationen verschiedene Strategien untersucht. Das resistenzbrechende und sehr wirksame Isolat CpGV-E2 blieb bei allen Selektionsvarianten in seiner Wirksamkeit unverändert. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen, konnte selbst bei Fortführung der Selektion über insgesamt 17 Virus-Passagen, keine Resistenzentwicklung gegenüber dem Isolat CpGV-E2 der Genomgruppe B festgestellt werden.

Während der Status der Typ I-Resistenz dieses AW-Stammes unter Virusdruck von CpGV-M (Genomgruppe A) nahezu unverändert blieb, konnte das Niveau der Typ II-Resistenz unter permanenter Exposition von CpGV-S (Genomgruppe E) deutlich gesteigert werden (ca. Faktor 270). Bei einem Wechsel der unterschiedlich wirksamen Isolate CpGV-S und -E2 nach jeder Generation während der Selektionsphase, war eine erhöhte Resistenz gegenüber CpGV-S ebenfalls zu beobachten (ca. Faktor 70). Die Ergebnisse aus dem Selektionsexperiment hatten deutlich gezeigt, dass das Isolat CpGV-S (Genomgruppe E) ein hohes Potential zur Resistenzbildung besitzt.

Bei der Weiterzucht des resistenten AW-Stammes BW-HU-15 Most ohne Virusdruck zeigte sich ab der 20. Generation ein Rückgang der Resistenz und nach 41 Generationen in Laborzucht erwies sich dieser Stamm nahezu gleich empfindlich gegenüber CpGV-M und -S wie der sensible Laborstamm CpS. Eine ähnliche Beobachtung zeigte sich bei der unter Virusdruck mit CpGV-S selektierten AW-Linie (P10 S). Hier verringerte sich das selektierte Resistenzniveau bereits nach 7 Generationen ohne Virusdruck wieder um mehr als Faktor 100

und erreichte nach insgesamt 24 Generationen die Empfindlichkeit des Referenzstammes BW-HU-15 Most, der kontinuierlich auf virusfreiem Medium gezüchtet wurde.

#### *Vertikale Transmission des CpGV*

Die auf unterschiedlichen Virusisolaten selektierten AW-Linien wurden ohne Virusdruck im Labor weiter gezüchtet und stichprobenartig wurden die Nachkommen auf subletale Virusinfektionen mittels PCR-Analysen unter Verwendung spezifischer DNA-Primer untersucht. Für die verschiedenen Selektionslinien war selbst nach 10 virusfreien Passagen das verwendete Inokulumisolat des CpGV nachweisbar. Zum Teil wurden aber andere CpGV-DNA in den Tieren detektiert, was darauf zurückzuführen ist, dass der ursprüngliche AW-Stamm BW-HU-15 Most bereits eine subletale Infektion der Isolate CpGV-M, -S und E2 aufwies. In allen Entwicklungsstadien (Larven, Puppen, Adulten) wurden die CpGV-Isolate, häufig Mischungen, nachgewiesen. Dieses war auch zu beobachten in Analysen von Freilandtieren, die in zwei aufeinander folgenden Jahren in einer unbehandelten Anlage gesammelt und im Labor überwintert wurden. In den analysierten Tieren wurden Mischungen der CpGV-Genotyp A, B und E, diagnostiziert, die als Bestandteile der CpGV-Präparate in den Vorjahren in der Anlage appliziert worden waren. Diese Ergebnisse lassen sich durch eine vertikale Transmission des CpGV von den Eltern auf die Nachkommen erklären und deuten darauf hin, dass latente Infektionen auch über mehrere Generationen hinweg in AW-Populationen persistieren können.

#### *Effekte des Zusatzes von Hefen zu CpGV*

Eine mögliche Wirkungsverbesserung des CpGV durch Zusatzstoffe auf Basis von Hefen konnte in Laboruntersuchungen und auch im Freiland nicht nachgewiesen werden. Die Versuche wurden nicht fortgeführt.

#### *Mischbarkeit des CpGV mit Kupferersatzstoffen*

Aus der Praxis werden immer wieder Fragen nach der Mischbarkeit des CpGV mit anderen Präparaten gestellt, daher wurde in Laborexperimenten der Einfluss von Kupferersatzstoffen auf die Virusaktivität untersucht. Unter den gewählten Versuchsbedingungen erwies sich ein neues Präparat auf Basis von Pelargonsäure als unbedenklich für das CpGV.

Die Ergebnisse eines Tauchversuchs mit Äpfeln gaben erste Hinweise, dass ein potenziell negativer Effekt auf die Aktivität von CpGV-Belägen bei einer anschließenden Anwendung von Schwefelkalkbrühe nicht auszuschließen ist. Hier sind weitere Untersuchungen notwendig.

#### *Einnetzungsversuche*

Über den Versuchszeitraum 2018 bis 2021 konnten praxisrelevante Erkenntnisse zur Praktikabilität der Einnetzungssysteme gewonnen werden. In den eingetzten Systemen (Keep in Touch® und Antiacqua) konnte der Schorfbefall (Blatt und Frucht) vermindert werden. Gleichzeitig konnte der Input an Fungiziden im System Antiacqua reduziert werden. Durch die zunehmende Erfahrung im Handling der Systeme konnte auch der zeitliche Aufwand für das Öffnen und Schließen reduziert werden. Dieser ist, mit Ausnahme des Winterfestmachens beim System Antiacqua, vergleichbar mit klassischen Hagelnetzkonstruktionen. Ein vertretbarer zeitlicher Mehraufwand besteht für beide Systeme für das erforderliche Öffnen bei saisonalen Pflegemaßnahmen wie Sommerriss und Handausdünnung. Die Erstellungskosten des Keep in Touch®-Systems sind mit denen eines Hagelnetzsystems vergleichbar, während das Antiacqua-System in etwa doppelt so kostenintensiv in der Erstellung ist. Aufgrund der nicht erforderlichen Behandlungen mit CpGV-Präparaten sowie einer zusätzlichen Einsparung an fungiziden Behandlungen in der Antiacqua-Variante, liegen die jährlichen Betriebskosten für beide Systeme trotz des erhöhten Zeitaufwandes in einem ähnlichen Rahmen wie das Hagelnetzsystem. Allerdings werden im Antiacqua-System die positiven Erfahrungen durch das stark zunehmende Aufkommen tierischer Schaderreger, insbesondere der Blutlaus und

der grünen Apfelblattlausüberlagert. Anhand der am Standort Bavendorf im Versuchszeitraum zwischen 2018 – 2021 generierten Ergebnisse und Erfahrungen kann das System Antiacqua aufgrund der nicht tolerierbaren Ausbreitung mehrerer tierischer Schaderreger sowie des erhöhten Materialaufwands und den hohen Erstellungskosten nicht für den Einsatz auf ökologisch wirtschaftenden Praxisbetrieben in dieser Anbauregion empfohlen werden. Hingegen stellt das System Keep in Touch® eine praktikable Alternative zum klassischen Hagelschutznetz dar, mit dem ein zusätzlicher Schutz vor Wicklern bei vergleichbaren Kosten generiert werden kann.

## 8 Literaturverzeichnis

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.
- Akhanaev, Y. B.; Belousowa, D. A.; Pavlushin, S. V.; Martemyanov, V. V. (2020). A comparison of the vertical transmission of high- and low-virulence Nucleopolyhedrovirus strains in *Lymantria dispar* L. *Insects* 11, 455; Doi: 10.3390/insects1107455.
- Asser-Kaiser, S.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Eberle, K.E.; Gund, N. A.; Reineke, A.; Zebitz, C. P. W.; Heckel, D. G.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2007). Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science* 317, 1916-1918.
- Asser-Kaiser, S.; Heckel, D. G.; Jehle, J. A. (2010). Sex linkage of CpGV resistance in a heterogenous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.). *J. Invertebr. Pathol.* 103, 59-64.
- Berling, M.; Blachere-Lopez, C.; Soubabère, O.; Lery, X.; Bonhomme, A.; Sauphanor, B.; Lopez-Ferber, M. (2009a). *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 925-930.
- Berling, M.; Rey, J.-B.; Ondet, S.-J.; Tallot, Y.; Soubabère, O.; Lery, X.; Bonhomme, A.; Sauphanor, B.; Lopez-Ferber, M. (2009b). Field trials of CpGV virus isolates overcoming resistance to CpGV-M. *Virologica Sinica* 24, 470-477.
- Bouwer, G.; Nardini, L.; Duncan, F. D. (2009). *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae that survive sublethal doses of nucleopolyhedrovirus exhibit high metabolic rates. *J. Insect. Physiol.* 55, 369-374. Doi: 10.1016/j.jinsphys.2009.01.003.
- Burden, J.P., Griffiths, C. S., Cory, J. S.; Smith, P.; Sait, S. M. (2002). Vertical transmission of sublethal granulovirus infection in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Molecular Ecology*, 11, 547-555.
- Burmann, R. & Kunde, S. (2005). *Ökologischer Obstbau. Daten für den Ökologischen Obstbau in der Landwirtschaft* (ed: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. (KTBL)). Darmstadt.
- Cory, J. S., Myers, J. H. (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 239–72.
- Eastwell, K.; Cossentine, J. E.; Bernardy, M. G. (1999): Characterization of *Cydia pomonella* granulovirus from codling moths in a laboratory colony and in orchards of British Columbia. *Annals of Applied Biology* 134, 285-291.
- Eberle, K. E., Jehle, J. A. (2006). Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited. *Journal of Invertebrate Pathology* 93, 201-206
- Eberle, K. E.; Asser-Kaiser, S.; Sayed, S. M.; Nguyen, H. T.; Jehle, J. A. (2008). Overcoming the resistance of codling moth against conventional *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) by a new isolate CpGV-I12. *J. Invertebr. Pathol.* 98, 293–298.
- Fan, J.; Wennmann, J. T.; and Johannes A. Jehle (2019). Partial loss of inheritable Type I resistance of Codling Moth to *Cydia pomonella* granulovirus. *Viruses* 2019, 11, 570; doi:10.3390/v11060570
- Fan, J. (2019): Diss. TU Darmstadt.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Huber, J. (2005). Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzdienst* 57, 29-34.
- Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Huber, J., Kienzle, J. (2008). Impact of different agents on the efficacy of codling moth granulovirus in tank mixtures. *Proceedings 13th International Conference on Cultivation*

- Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing, February 18th to February 20th, 2008 at Weinsberg/Germany, 252-255.
- Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Huber, J.; Jehle, J. A. (2011): Mischbarkeit verschiedener Präparate mit Apfelwickler-Granuloviren. *Öko-Obstbau* 2/2011, 24-26.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Huber, J.; Jehle, J.A. (2012): Effect of mixtures with other products on the efficacy of codling moth granulovirus (CpGV). In: Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FOEKO) [Ed.]: Proceedings of 15th International Conference on Organic Fruit-Growing, February, 20-22, 2012, Hohenheim/Germany, 332-337.
- Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Jehle, J. A. (2014): Neue Ergebnisse zur Mischbarkeit von Präparaten mit Apfelwicklergranulovirus. *Öko-Obstbau* 2/2014, 17-18.
- Fuxa, J. R, Sun, J-Z., Weidner, E. H., La Motte, L. R. (1999). Stressors and rearing diseases of *Trichoplusia ni*: evidence of vertical transmission of NPV and CPV. *J. Invertebr. Pathol.* 74, 149–55.
- Gebhardt, M., Eberle, K. E., Radtke, P., Jehle, J. A. (2014). Baculovirus resistance in codling moth is virus-isolate dependent and the consequence of a mutation in viral gene pe38. *Proc. National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 111 (44), 15711-15716.
- Graillot, B., Bayle, S., Blachere-Lopez, C., Besse, S., Siegwart, M., Lopez-Ferber, M. (2016). Biological Characteristics of Experimental Genotype Mixtures of *Cydia Pomonella* Granulovirus (CpGV): Ability to Control Susceptible and Resistant Pest Populations. *Viruses* 2016, 8, 147; doi:10.3390/v8050147.
- Gueli Alletti, G.; Sauer, A. J.; Weihrauch, B.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Wennmann, J. T.; Jehle, J. A. (2017). Using Next Generation Sequencing to identify and quantify the Genetic Composition of Resistance- Breaking Commercial Isolates of *Cydia pomonella* Granulovirus. *Viruses* 9 (9), 250, doi: 10.3390/v9090250.
- Jehle, J. A., Herz, A., Keller, B., Kleespies, R.G., Koch, E., Larem, A., Schmitt, A., Stephan D. (2014). Statusbericht Biologischer Pflanzenschutz 2013. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut* 173. 121.
- Jehle, J. A., Sauer, A. J., Gueli Alletti, G., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K. (2016): Granulosevirusresistenz beim Apfelwickler und neue resistenzbrechende Granulovirus-Isolate. *Ökoobstbau* 2, 16-18.
- Jehle, J. A.; Schulze-Bopp, S.; Undorf-Spahn, K.; Fritsch, E. (2017). Evidence for a second Type of resistance against *Cydia pomonella* granulovirus in field populations of Codling Moths. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83(2), e02330-16.
- Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Zimmer, J.; Volk, F. (2007). First field tests with Madex® plus against CpGV-resistant codling moth populations in organic orchards. 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. <http://orgprints.org/9893>.
- Knight, A. L.; Basoalto, E.; Witzgall, P. (2015). Improving the Performance of the Granulosis Virus of Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) by Adding the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* with Sugar. *Environ. Entomol.* 44, 252-259.
- Knight, A. L.; Witzgall, P. (2013). Combining Mutualistic Yeast and Pathogenic Virus — A Novel Method for Codling Moth Control. *J Chem Ecol* 39, 1019–1026.
- Koch, E.; Herz, A.; Kleespies, R. G.; Schmitt, A.; Stephan, D.; Jehle, J. A. (2019). Statusbericht Biologischer Pflanzenschutz 2018. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut* 203.128
- Krieg, A. (1973): *Arthropodenviren*, Gg. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Lafer, G. (2002). Auswirkungen der Applikation verschiedener Bioregulatoren auf die Ertragsleistung, Fruchtqualität, Lagerfähigkeit und vegetative Entwicklung der Apfelsorten Elstar und Gala. Wien: Diss. Universität für Bodenkultur.
- Myers, J. H., and Kuken, B. (1995). Changes in the fecundity of tent caterpillars: a correlated character of disease resistance or sublethal effect of disease? *Oecologia* 103, 475–480. doi: 10.1007/BF00328686.
- Podgwaite, J. D., Mazzone, H. M. (1986). Latency of insect viruses. *Adv. Virus Res.* 31, 293–320.
- Rothman, L. D., and Myers, J. H. (1996). Debilitating effects of viral diseases on host Lepidoptera. *J. Invertebr. Pathol.* 67, 1–10. doi: 10.1006/jipa.1996.0001
- Sauer, A. J.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Nguyen, H. T.; Frantisek, M.; Heckel, D. G.; Jehle, J. A. (2017a). Novel resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in codling moth shows autosomal and dominant inheritance and confers cross-resistance to different CpGV genome groups. *PLOS ONE*, 12, e0179157.
- Sauer, A. J.; Schulze-Bopp, S.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Jehle, J. A. (2017b). A third type of resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) shows a mixture of a Z-linked and autosomal inheritance pattern. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83(17), e01036-17.

- Schmitt, A.; Bisutti, I. L.; Ladurner, E.; Benuzzi, M.; Sauphanor, B.; Kienzle, J.; Zingg, D.; Undorf-Spahn, K.; Fritsch, E.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2013). The occurrence and distribution of resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus in Europe. *J. Appl. Entomol.*, 137, 641-649.
- Schulze-Bopp, S.; Jehle, J. A. (2013). Development of a direct test of baculovirus resistance in wild codling moth populations. *J. Appl. Entomol.* 137, 153-160.
- Undorf-Spahn, K.; Fritsch, E.; Huber, J.; Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Jehle, J. (2012). High stability and no fitness costs of the resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M). *J. Invertebr. Pathol.* 111, 136-142.
- Zingg, D. (2008). Madex® Plus and Madex® I12 overcome virus resistance of codling moth. In: Proceedings 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing (Ecofruit), Weinsberg (Germany), February 18 - 20, 2008, Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.), Weinsberg, 56-260.

## 9 Übersicht über alle im Berichtszeitraum der Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.), bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

### 9.1 Vorträge 2017-2022

16 <sup>th</sup> Meeting of the International Organisation for Biological and Integrated Control (IOBC)-West Palaearctic Regional Section (WPRS) Working Group Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests (11.-15.06.2017), Tiflis, Georgien 14.06.2017	Deciphering different mechanisms of resistance to CpGV products in codling moth field populations. Jehle, J. A.
Meeting of the Japanese Society for Invertebrate Pathology, Tokyo, Japan 30.09.2017	The phenomenon of field resistance of codling moth against <i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGV). Jehle, J. A.
Ökologische Obstbautagung in Weinsberg 27.01.2018	Strategie zur Regulierung des Apfelwicklers für 2018. Kienzle, J.
Ecofruit- International Conference on Organic Fruit Growing, Hohenheim 20.02.2018	Successful control of codling moth resistance to <i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGV). J. A. Jehle, A.J. Sauer, J. Fan, J.T. Wennmann, G. Gueli Alletti, E. Fritsch, K. Undorf-Spahn
CRP Insect Colony Management, IAEA, Wien 23.07.2018	<i>Cydia pomonella</i> mass rearing: The contribution of disease resistant codling moth strains for improving colony management. Johannes A. Jehle, Jörg T. Wennmann, Jiangbin Fan

Bundesarbeitstagung Pflanzenschutzberater, Grünberg 17.10.2018	Neue Erkenntnisse zur CpGV-Resistenz beim Apfelwickler in Deutschland. Johannes A. Jehle, Annette J. Sauer, Eva Fritsch, Karin Undorf-Spahn, Gianpiero Gueli Alletti, Jörg T. Wennmann
Ökologischer Obstbautag, Klein Altendorf, 22.11.2018	Anwendung des Apfelwicklergranulovirus im Kernobstanbau. Jehle, J. A.
Pflanzenschutzberatertreffen beim Kompetenzzentrum Obstbau (KOB) Ravensburg 21.01.2019	Biologische Grundlagen des Apfelwicklergranulovirus für eine erfolgreiche Bekämpfung des Apfelwicklers. Jehle, J. A.
Ökologische Obstbautagung, Rheinbach 25.01.2019	Apfelwickler: Neue Granulovirusstämme gegen neue Resistenzen? Jehle, J. A.
Arbeitsgruppe Apfelwickler (AGAWI), DLR Rheinpfalz, Neustadt 12.02.19	Neues vom Apfelwickler-Granulovirus. Jehle, J. A.
Arbeitssitzung deutscher Pflanzenschutzdienste 11.-12.3.2019	Neue Erkenntnisse zur Verbreitung der CpGV-Resistenz. J. A. Jehle, Annette J. Sauer, Eva Fritsch, Karin Undorf-Spahn, Gianpiero Gueli Alletti, Jörg T. Wennmann
	Next-Generation-Sequenzierung: ein vertiefter Blick in die Baculovirus-Insekten-Interaktion. Jörg T. Wennmann, Jiangbin. Fan, J.A. Jehle
Kolloquium - Polish Academy of Sciences, Krakau, Polen 24.05.2019	Baculoviruses in Biological Pest Control - New Progress an Challenges. Jehle, J. A.
International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control & 52 <sup>nd</sup> Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology & 17 <sup>th</sup> Meeting of the International Organisation for Biological Control (IOBC) - West Palaeartic Regional Section (WPR, valencia, Spanien 28.07.2019	Lessons told by nature: Resistance of codling moth against Cydia pomonella granulovirus and its implications for environmentally sound pest control. <b>Jehle, J. A.</b> ; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Fan, J.; Wennmann, J. T.
Fachausschuss Pflanzenschutzmittelresistenz Insektizide/Akarizide, Braunschweig 04.11.2019	Aktuelle Resistenzsituation des Apfelwicklers gegenüber dem Apfelwicklergranulovirus (CpGV). Jehle, J. A.

9 <sup>th</sup> International Symposium Plant Protection and Plant Health in Europe - Innovative biological techniques for IPM and their regulatory implications, Braunschweig 19.11.2019	Specificity of insecticidal Baculovirus strains. Jehle, J. A.
Orchard Pest and Disease Management Conference, Portland, USA 09.01.2020	30 Years of successful Use of Codling Moth Granulovirus – Progress and Challenges. Jehle, Johannes A.
Seminar bei Rutgers University, Bridgeton, USA 07.01.2020	Elucidating the inheritance and mechanism of CpGV resistance. Jehle, J. A.
Seminar bei Certis USA, L.L.C., Columbia, Maryland, USA 13.01.2020	Management of CpGV resistance in Europe. Jehle, J. A.
Ökologische Obstbautagung, Weinsberg 01.02.2020	Ergebnisse zur Praktikabilität der Einzelreiheneinnetzungssysteme Keepintouch/Antiaqua im Ökologischen Obstbau. Matthias Schluchter
	Versuchsergebnisse zur Verwirrung von Apfel- und Schalenwickler und Empfehlungen zum Einsatz von Apfelwicklergranulovirusisolaten für das Jahr 2020. Jutta Kienzle
Ecofruit- International Conference on Organic Fruit Growing, Hohenheim 18.02.2020	Monitoring codling moth resistance to <i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGV) in organic. Eva Fritsch
	Exclusion netting row covers in organic apple orchards: implications regarding practicability, pest organisms and disease control. Matthias Schluchter
Ökologische Obstbautagung 2021, online 29.1.2021	Kurzbeiträge im Workshop Regulierung von Apfelwickler und Schalenwickler Kienzle, Jutta; Zimmer, Jürgen; Benduhn Bastian; Adolphi, Christina
Ökologische Obstbautagung, online 02.02.2022	Regulierung von Apfelwickler und Schalenwickler – aktueller Stand Jutta Kienzle, Jürgen Zimmer, Christina Adolphi

Ecofruit- International Conference on Organic Fruit Growing, online 23.02.2022	Virulence management of codling moth resistance to <i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGV) in organic fruit growing in Germany. J.A. Jehle
Ecofruit- International Conference on Organic Fruit Growing, online 22.02.2022	Four-year experiences with exclusion netting row covers in an organic apple orchard: handling, relevant pests and diseases Matthias Schluchter

## 9.2 Publikationen

- Fan, J.; Wennmann, J.T.; Gueli Alletti, G.; Berner, T.; Keilwagen, J.; Jehle, J.A. (2018): Die genetische Diversität des Apfelwicklergranulovirus in natürlichen Isolaten und kommerziell angewandten Produkten. In: JKI (Hrsg.): 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft; 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim - Kurzfassungen der Vorträge und Poster (Julius-Kühn-Archiv 461), Braunschweig, 179-180.
- Fan, J.; Wennmann, J.T.; Wang, D.; Jehle, J.A. (2018): Pe38 is not the only gene that responds to type I resistance in codling moth (*Cydia pomonella* L.): SIP 2018: The 2018 International Congress of Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 51st Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology; Gold Coast, Australia, 12. Aug - 16. Aug 2018, 103.
- Fan, J.; Wennmann, J.T.; Wang, D.; Jehle, J.A. (2018): Deciphering the population structure of genotype mixtures of CpGV field isolates by next generation sequencing techniques and improved sequence analyses methods.: SIP 2018: The 2018 International Congress of Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 51st Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology; Gold Coast, Australia, 12. Aug - 16. Aug 2018, 115.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zimmer, J.; Benduhn, B.; Adolphi, C.; Zebitz, C.P.W.; Jehle, J.A. (2020). Monitoring codling moth resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in organic. Proceedings of the 19th International Conference on Organic Fruit-Growing from February 17th to 19th, 2020, University of Hohenheim, Germany (ed. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e. V., Weinsberg, Germany), pp. 203-206.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zimmer, J.; Benduhn, B.; Adolphi, C.; Zebitz, C. P. W.; Jehle, J. A. (2022). Virulence management of codling moth resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) in organic fruit growing in Germany. Proceedings of the 20th International Conference on Organic Fruit-Growing, online 2022.02.21-23. Ed. FOEKO e.V. 2022: 159-161.
- Jehle, J.A.; Sauer, A., Fan, J.; Wennmann, J.T.; Gueli Alletti, G.; Fritsch, E. & Undorf-Spahn, K. (2018): Successful control of codling moth resistance to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV). In: Proceedings of the 18th International conference on Organic Fruit Growing ecofruit from 19.-21.2.2018 in Hohenheim. Ed. FOEKO e.V., 2018. 253.
- Jehle, J.A.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Fan, J.; Wennmann, J.T (2019). Lessons told by nature: Resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus and its implications for environmentally sound pest control. In Proceedings International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control & 52nd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology & 17th Meeting of the IOBC-WPRS Working Group

- "Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests" 28th July-1st August 2019, Valencia.
- Jehle, J.A. (2020). 30 years of successful use of codling moth granulovirus – Progress and Challenges. Abstract book 94th Annual Orchard Pest & Disease Management Conference, p. 35.
- Schluchter, M.; Buchleither, S.; Mayr, U. (2020). Exclusion netting row covers in organic apple orchards: implications regarding practicability, pest organisms and disease control. Proceedings of the 19th International Conference on Organic Fruit-Growing from February 17th to 19th, 2020, University of Hohenheim, Germany (ed. Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e. V., Weinsberg, Germany), pp.90-94.
- Schluchter, M.; Späth, S.; Buchleither, S. (2022): Four-year experiences with exclusion netting row covers in an organic apple orchard: handling, relevant pests and diseases. Proceedings of the 20th International Conference on Organic Fruit-Growing, online 2022.02.21-23. Ed. FOEKO e.V. 2022: 94-99.
- Wennmann, J.T.; Fan, J.; Berner, T.; Keilwagen, J.; Jehle, J.A. (2018): Transkriptomanalyse des Apfelwicklergranulovirus mittels RNAseq. In: JKI (Hrsg.): 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft; 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim - Kurzfassungen der Vorträge und Poster - (Julius-Kühn-Archiv 461), Braunschweig, 180.
- Xi, Y.; Huang, C.; Wu, Q.; Jehle, J.A.; Wan, F. (2018): Identification of miRNAs and target genes associated with to codling moth resistance against *Cydia pomonella* granulovirus.: SIP 2018: The 2018 International Congress of Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 51st Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology; Gold Coast, Australia, 12. Aug - 16. Aug 2018, 100.

### 9.3 Verwertung

Aus den während des Projektes gewonnenen Erkenntnissen wurden fortlaufend Empfehlungen für das Resistenz- und Virulenzmanagement des CpGV abgeleitet, die den betroffenen Betrieben unmittelbar zur Verfügung gestellt wurden. Die Ergebnisse wurden für die Beratung im Ökologischen Obstbau genutzt und zudem in Fachzeitschriften publiziert. Auf Grundlage der gesammelten Erfahrungen, konnte das Monitoring der Betriebe mit Resistenzen so angepasst werden, dass es im Freiland von der Beratung weitgehend geleistet werden kann. Die Ergebnisse aus dem Projekt mündeten jährlich in aktuelle Beratungsempfehlungen zum Virulenzmanagement für die Granuloviren, die an der Ökologischen Obstbautagung gegeben wurden und flossen somit direkt in die Beratung ein.

### 9.4 Fachgespräche

Treffen am JKI am 21.2.2019 mit Vertretern der Firma Biofa AG und Andermatt Biocontrol AG. Besichtigung der Versuchsanlagen im Raum Ravensburg und Informationsaustausch mit Projektpartnern (KOB, Jutta Kienzle) am 02.07. bis 03.07. 2019.

Treffen bei Firma Biofa AG (Münsingen) am 10.12.2019 mit Vertretern der Firmen Biofa AG und Andermatt Biocontrol AG.