Universität Konstanz, Lehrstuhl für Phytopahtologie,
Universitätsstraße 10, 78434 Konstanz

Entwicklung von Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau

Abschlussbericht

Forschungsprojekte im Bundesprogramm Ökologischer Landbau

Bereich: Pflanzenschutz

Laufzeit: 03OE524 01.03.2004 - 31.03.2005
03OE524 (F) 01.04.2005 - 31.12.2006
06OE336 01.01.2007-28.02.09

Berichtszeitraum: 01.03.2004- 28.02.2009

Dr. Stefan Kunz, Prof. Dr. Kurt Mendgen

Unter Mitarbeit von

Philipp Haug,
Fördergemeinschaft ökologischer Obstbau, Traubenplatz 5, 74189 Weinsberg.
Dr. Annegret Schmitt,
JKI, Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt.

Konstanz, den 23. Februar 2009

Inhaltsverzeichnis

1. ZIELE UND AUFGABENSTELLUNG DES PROJEKTES 3
1.1 GESAMTZIEL DES VORHABENS 3
1.2 BEZUG DES VORHABENS ZU DEN FÖRDERPOLITISCHEN ZIELEN 3
1.3 PLANUNG UND ABLAUF DES PROJEKTES 4
2 WISSENSCHAFTLICHER UND TECHNISCHER STAND, AN DEN ANGEKNÜPFT WURDE 7
3 MATERIAL UND METHODEN 7
3.1 MIKROORGANISMEN 7
3.2 BAKTERIZIDE ODER BAKTERIOSTATISCHE WIRKUNG IM SCHÜTTELKOLBEN 7
3.2.1 Test mit Einzeldosen 7
3.2.2 Erstellung von Dosis-Wirkungskurven 8
3.3 IN VIVO TESTSYSTEM 8
3.4 TEST AUF RESISTENZINDUZIERENDE WIRKUNG 9
3.5 QUANTIFIZIERUNG DES FEUERBRANDERREGERS AUF BLÜTEN 10
3.6 FREILANDVERSUCHE ZUR FEUERBRANDBEKÄMPFUNG 10
3.6.1 Versuchsanlagen 10
3.6.2 Inokulation 11
3.6.3 Behandlungen 11
3.6.4 Auswertung 12
3.6.5 Datenanalyse 13
3.7 EINFLUSS DER BEHANDLUNGEN AUF DIE FRUCHTBEROSTUNG 13
4 ERGEBNISSE 14
4.1 AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG DER WICHTIGSTEN ERGEBNISSE 14
4.1.1 Wirksamkeit der Präparate gegen Feuerbrand 14
4.1.2 Resistenzinduktion an Topfpflanzen 20
4.1.3 Wirkungsweise der Präparate 21
4.1.4 Einfluss der Präparate auf das epiphytische Wachstum von E. amylovora 29
4.2 KOMBINATION VERSCHIEDENER WIRKUNGSMECHANISMEN 32
4.2.1 Mischung von Präparaten 32
4.3 EINFLUSS VON BEHANDLUNGEN AUF DIE FRUCHTBEROSTUNG 34
4.4 ENTWICKLUNG UND PRÜFUNG VON ANWENDUNGSSTRATEGIEN 37
4.5 VORAUSSICHTLICHER NUTZEN UND VERWENDBARKEIT DER ERGEBNISSE 39
4.5.1 Möglichkeiten der Umsetzung der Ergebnisse 39
4.5.2 Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus 40
4.5.3 Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse 40
5 ZUSAMMENFASSUNG 42
6 GEGENÜBERSTELLUNG DER URSPRÜNGLICH GEPLANTEN UND DEN TATSÄCHLICH ERREICHTEN ZIELEN 44
7 DANKSAGUNG 45
8 LITERATUR 45

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

1.1 Gesamtziel des Vorhabens

Beim Fachgespräch "Bekämpfung des Feuerbranderregers im Ökologischen Obstbau" am 06.03.2003 in Weinsberg wurde von den anwesenden Experten Kenntnislücken zur Wirkungsweise und Wirksamkeit von im ökologischen Obstbau zur Feuerbrandbekämpfung eingesetzten Präparaten festgestellt.

Ziel dieses Forschungsprojektes war, entsprechend dem beim Fachgespräch ermittelten Handlungsbedarf diese Präparate sowohl auf ihre Wirksamkeit als auch auf ihre Wirkungsweise systematisch zu prüfen. So wurde für jedes Präparat ein Profil erarbeitet, das seine spezifischen Fähigkeiten bei der Feuerbrandbekämpfung zeigt. Anhand dieser Profile wurden Bekämpfungsstrategien entwickelt. Diese wurden im Labor an einem *in vivo* Testsystem und in Freilandversuchen überprüft. Zusätzlich musste sichergestellt werden, dass die zur Feuerbrandbekämpfung gewählte Strategie eine verlässliche Schorfbekämpfung zulässt und dass keine Mehrberostung der Früchte entsteht.

1.2 Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen

Als dieses Forschungsprojekt in 2003 initiiert wurde, standen im ökologischen Obstbau keine verlässlichen Bekämpfungsstrategien gegen Feuerbrand zur Verfügung (Bundesministerium für Verbraucherschutz, 2003). Dies reduzierte die Bereitschaft der Obstbauern auf ökologische Wirtschaftsweise umzustellen, da das Risiko nach Feuerbrandbefall ganze Anlagen zu verlieren, zu groß war. Die Entwicklung einer wirksamen Bekämpfungsstrategie war für eine weitere Ausdehnung des Ökoanbaus deshalb notwendig.

Die geplanten Arbeiten waren auf die spezifischen Anforderungen des ökologischen Obstbaus abgestimmt. Dies war durch die Mitarbeit der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau (FÖKO) gewährleistet. Die Projektpartner erklärten sich bereit, Ihre Erfahrungen und Ergebnisse in Diskussionsrunden einzubringen, die im Rahmen des von der BLE ausgeschriebenen Forschungsvorhabens „Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika“ statt fanden. Die beim BLE ausgeschriebenen Arbeiten sind darauf ausgerichtet Alternativen zum Plantomycin für den Integrierten Anbau zu finden. Durch einen intensiven Austausch von Ergebnissen und Absprachen bei der Versuchsplanung konnte gewährleistet werden, dass sich dieses Projekt und das ausgeschriebene Forschungsvorhaben möglichst gut ergänzte und auch andere Forschungsprojekte von den hier erarbeiteten Ergebnissen profitierten.

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Für das Projekt wurden an der Universität Konstanz vier Testsysteme aufgebaut, mit denen die Wirksamkeit von Ökopräparaten geprüft werden konnte. Ein *in vitro* Test in Schüttelkultur wurde ergänzt durch ein Blütentestsystem, welches durch Blütenanzucht im Gewächshaus jeweils von Januar bis Juli zur Verfügung stand. Während der Blühperiode wurden in drei der fünf Jahre Versuche zur Resistenzinduktion an Topfpflanzen durchgeführt. Wesentlicher Bestandteil des Projektes war der Aufbau der Versuchsanlage in Karsee zur Durchführung der Freilandversuche nach EPPO Richtlinie PP1/166 (3). Dieser neue Versuchsstandort wurde ergänzt durch die vom JKI, Institut für Biologischen Pflanzenschutz betreute Versuchsanlagen in Groß-Umstadt (2004) und Darmstadt (2005-2008). In Deutschland gibt es nur drei weitere Standorte, an denen Freilandversuche zur Feuerbrandbekämpfung durchgeführt werden. Somit wurde über dieses Projekt die Testkapazität nahezu verdoppelt. Nur so war es möglich neben der Prüfung von Einzelpräparaten auch Anwendungsstrategien zu prüfen.

Unter Berücksichtigung von Literaturdaten (Renner, 2001; Fried, 2002; Harzer, 2002; Fried *et al.*, 2004), Praxiserfahrungen der Berater und Ergebnissen aus abgeschlossenen und laufenden Forschungsprojekten wurden 2004 zu Beginn des Projektes 14 Präparate zur Prüfung auf Wirksamkeit gegen Feuerbrand ausgewählt: Myco-Sin, BlossomProtect (*Aureobasidium pullulans*), Kaolin Tec 800, Cutisan, Schwefelkalk, Fungend, Biplantol erwinia, Elot-Vis, Löschkalk (Calziumhydroxid), Funguran, Protex-Cu, Serenade WPO (*Bacillus amyloliquefaciens*), Biopro, BPASc (*Aureobasidium pullulans*). Da der Projektstart im März lag, mussten die Freilandversuche durchgeführt werden, bevor die Ergebnisse aus *in vitro* bzw. *in vivo* Versuchen vorlag.

In den Folgejahren wurden über Empfehlungen von Herstellerfirmen, durch Obstbaupraktiker und Beratern sowie durch eigene Recherchen 30 weitere Präparate ins Untersuchungsprogramm aufgenommen (siehe Tabelle 4). Die Präparate wurden *in vitro* und im Blütentest untersucht und nur bei entsprechender Wirksamkeit in die Freilandversuche übernommen. So konnten im Laufe des Projektes 23 verschiedene Präparate mindestens einmal im Freiland geprüft werden.

In den ersten beiden Förderperioden waren die Arbeiten in fünf Arbeitspakete unterteilt (Tabelle 1). Neben der Wirksamkeit der Präparate *in vivo* sollten die Wirkmechanismen der Präparate geklärt werden. Dazu wurden die Präparate auf resistenzinduzierende, bakteriostatische und bakterizide Wirkung getestet. Bei den Präparaten, die *in vitro* eine bakteriostatische/bakterizide Wirkung hatten, wurden weitere Tests durchgeführt. Es wurde geprüft, welche Eigenschaft (z.B. pH-Wert) oder welcher Einzelbestandteil für die Wirkung verantwortlich ist.

Nach Klärung der Wirkmechanismen wurde die Möglichkeit der Kombinationen verschiedener Wirkungsmechanismen analysiert und auch experimentell überprüft. Die Ergebnisse zeigten, dass es nur wenige sinnvolle Möglichkeiten gibt Präparate zu mischen. Deshalb wurden überwiegend Anwendungsstrategien mit alternierendem Einsatz verschiedener Präparate entwickelt und im Freiland getestet.

Tabelle 1: Balkenplan für den zeitlichen Ablauf des ersten Förderabschnitts 03OE524 und 03OE524 (F)

	2004				2005				2006			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Wirksamkeit												
1.1 in vivo Testsystem												
1.2 Freilandversuche												
2. Wirkungsweise												
2.1 Resistenzinduktion												
2.2 Laboruntersuchungen												
3. Kombinationen und Strategien												
4. Integration in Schorfbekämpfung												
5. Aufarbeitung der Ergebnisse und Transfer in Praxis												

Nach dem ersten Versuchsjahr zeigte sich, dass das Hefepräparat BlossomProtect die beste Wirkung gegen Feuerbrand hat. Deshalb wurden Versuche zur Integration von Hefepräparaten in die Schorfbekämpfung ins Programm aufgenommen. Es war bekannt, dass diese Hefen bei direktem Kontakt empfindlich gegenüber Fungiziden und Gesteinsmehlen sind (u.a. Schwefel, Schwefelkalk und Myco-Sin), so dass auch hier Strategien zum alternierenden Einsatz von BlossomProtect und Schwefelpräparaten als Lösung angestrebt wurde.

Zur Verlängerung des Projektes in 2007 wurde die Prüfung weiterer Präparate mit den etablierten Testsystemen auf Ihre Wirksamkeit gegen Feuerbrand fortgeführt. In den jährlich zwei Freilandversuchen wurden weiterhin Einzelpräparate und die im ersten Abschnitt entwickelten Anwendungsstrategien geprüft (Tabelle 2).

Da sich die gute Wirkung von BlossomProtect bestätigt hatte, aber auch Berichte über eine Förderung der Fruchtberostung durch BlossomProtect bekannt geworden waren (Fried, 2005; Scheer *et al.*, 2005), wurden Freilandversuche in Praxisanlagen ins Versuchsprogramm aufgenommen, in denen der Einfluss von BlossomProtect oder Kupferpräparaten auf die Fruchtberostung untersucht wurde.

Tabelle 2: Balkenplan für den zeitlichen Ablauf des zweiten Förderabschnitts 06OE336

	2007				2008			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Wirksamkeit im Labor	—	—			—	—		
2. Freiland Wirksamkeit		—	—			—		
3. Freiland Berostung		—	—	—		—	—	—
4. Auswirkung auf epiphytische Besiedlung	—	—			—	—		
5. Aufarbeitung der Ergebnisse und Transfer in Praxis	—	—	—	—	—	—	—	—

In 2006 wurde am Lehrstuhl für Phytopathologie der Universität Konstanz eine Real-time PCR–Methode etabliert (nach Salm und Geider, 2004), mit deren Hilfe der Erreger auf den Blüten quantifiziert werden kann. Dadurch war es möglich die Wirkung von Präparaten nicht nur hinsichtlich der Reduktion der Symptombildung sondern auch auf die Reduktion der epiphytischen Besiedlung durch den Erreger zu untersuchen. Laboruntersuchungen mit den bisher als wirksam identifizierten Präparaten (BlossomProtect, Funguran, Serenade, Löschkalk) sollten zeigen, ob es unterschiedliche Auswirkungen auf die epiphytische Besiedelung gibt. Im Freilandversuch in Karsee sollte der Einfluss der verschiedenen Strategien auf die epiphytische Besiedlung durch den Erreger untersucht werden.

Wichtiger Bestandteil des Projektes war über die gesamte Laufzeit der Transfer der Ergebnisse in die Praxis. Die Ergebnisse der Freilandversuche sollten bei Versuchsbesichtigungen interessierten Fachleuten an den Versuchsstandorten präsentiert werden. Alle Ergebnisse sollten in den einschlägigen Fachzeitschriften sowohl im Fachgebiet Obstbau als auch in Zeitschriften des ökologischen Landbaus (z. B. Ökoobstbau) und den jeweiligen Jahresberichten der Institutionen publiziert werden. Ebenso war vorgesehen auf Tagungen (z.B. Dt. Pflanzenschutztagung, Ecofruit), Arbeitskreisen und anderen Vortragsveranstaltungen über die Ergebnisse zu berichten. Damit sollte gewährleistet werden, dass die Ergebnisse als Grundlage für weiterführende Forschungsarbeiten zur Verfügung stehen.

Darüber hinaus sollten die Versuchsergebnisse im Rahmen von Beratungsveranstaltungen für Berater und Obstbauern (z. B. Ökologische Obstbautagung in Weinsberg mit Teilnehmern aus dem ganzen Bundesgebiet) vorgestellt werden. Die Beteiligung der FÖKO am Forschungsprojekt sollte gewährleisten, dass erfolgreiche Anwendungsstrategien Einzug in die Praxis finden.

2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im ökologischen Obstbau standen verschiedene Präparate (Myco-Sin, Biopro, Serenade Thymianöl, Hefepräparate, Kaolin, Löschkalk, Biplantol, u.a.) mit einer Teilwirkung gegen Blüteninfektionen durch den Feuerbranderreger zur Verfügung. Keines der Präparate hatte alleine eine ausreichende Wirkung (Fried, 2001; Fried, 2001). Bei vielen Präparaten war auch unklar worauf die Teilwirkung beruht. Diskutiert wurden direkte bakterizide Wirkung, Konkurrenz um Platz und Nährstoffe und induzierte Resistenz. Für Myco-Sin und Löschkalk wurde eine bakteriostatische Wirkung über den pH-Wert der Spritzbrühe diskutiert. Bei Biopro und Hefepräparaten ging man davon aus, dass sich die im Präparat enthaltenen Mikroorganismen in den Blüten etablieren und dadurch die Vermehrung des Feuerbranderregers unterdrückt wird. Bei Kaolin könnte eine mechanische Behinderung des Bakterienwachstums in den Blüten stattfinden.

Bei verschiedenen Wirkmechanismen der Präparate werden additive Effekte erwartet, die zu wirksamen Anwendungsstrategien weiterentwickelt werden müssen. So konnte z.B gezeigt werden, dass eine Vorblütebehandlung mit dem Wachstumsregulator Regalis (für Ökobetriebe nicht verfügbar) eine Wirkung von ca. 30% ergibt. Der Einsatz eines Hefetestpräparates während der Blüte ergab eine Wirkung von ca. 50%. Eine Kombination der resistenzinduzierenden Vorblütebehandlung mit Regalis und der Blütenbehandlung mit dem Hefepräparat ergaben einen Wirkungsgrad von 77% (Fried *et al.*, 2004). Dies zeigte, dass es sinnvoll ist die Wirkungsmechanismen potenzieller Präparate zu untersuchen und Kombinationsstrategien zu entwickeln.

3 Material und Methoden

3.1 Mikroorganismen

Feuerbranderreger: Die Stämme Ea385, Ea645, Ea610 und Ea639, Ea702, Ea708, Ea725, Ea743 des Feuerbranderregers *Erwinia amylovora* wurden von Dr. Moltmann (LTZ Augustenberg, Außenstelle Stuttgart) zur Verfügung gestellt. Die Stämme wurden auf NBZA (8g/l Nutrient Broth, 50g/l Saccharose; 20 g/l Agar) bei 27°C vermehrt und in 0,6% NaCl suspendiert bei –20°C gelagert. Für alle Laborversuche wurde der Stamm Ea385 verwendet. In den Freilandversuchen wurde jeweils mit Mischungen aus drei bis vier Stämmen inokuliert, die nach Prüfung der Virulenz von der Arbeitsgruppe Feuerbrand ausgewählt wurden (Fried, 2007).

3.2 Bakterizide oder bakteriostatische Wirkung im Schüttelkolben

3.2.1 Test mit Einzeldosen

100 ml Schüttelkolben mit 25 ml NBZ-Medium (8 g/L Nutrient Broth, 50 g/L Saccharose) wurden die Präparate in der entsprechenden Anwendungskonzentration zugegeben und mit dem Feuer-

branderreger (Stamm Ea385) angeimpft. Die Startkonzentration von 10^7 Zellen/ml wurde photometrisch eingestellt (OD_{660} 0,2 = 2,6x10^8 Zellen/ml). Die Kolben wurden bei 27°C geschüttelt und die Konzentration von Ea385 wurde nach 4h und 24h im Vergleich zu einer Kontrolle ohne Präparat durch ausplattieren auf NBA (8 g/L Nutrient Broth, 50 g/L Saccharose, 20 g/L Agar) mit dem Tropfplattenverfahren (Baumgart, 1999) bestimmt.

Wenn die Präparate lebende Mikroorganismen enthielten, wurden die Kulturen auf Selektivmedien ausplattiert, damit nur *Erwinia amylovora* nachgewiesen wurde. Bei den Hefe-Präparaten wurde NBA+Actidion (8 g/L Nutrient Broth, 20 g/L Agar , 50 mg/L Actidion) und bei Präparaten, die *Bacillus sp.* enthielten, wurden McCA (40 g/L MacConkey Broth, 15 g/L Agar) verwendet. Der pH-Wert in den Kulturen wurde direkt nach dem Animpfen, nach 4h und nach 24h gemessen. Zur Bestimmung der Wirksamkeit der Präparate wurde die prozentuale Reduktion von *E. amylovora*, bezogen auf die momentane Lebendzellzahl der Kontrolle, berechnet.

3.2.2 Erstellung von Dosis-Wirkungskurven

3.3 In vivo Testsystem

Abbildung 1: In vivo Test-System zur Untersuchung der Wirksamkeit von Präparaten gegenüber dem Feuerbranderreger *E. amylovora*. A: Apfelblüten wurden in 10% Saccharoselösung gestellt und bei 100% Luftfeuchtigkeit inkubiert. B: Nicht befallene Blüte nach 6d Inkubation. C: Blüte mit Feuerbrandsymptomen. Am Blütenstiel tritt Bakterienschleim aus.

Für einige Präparate wurden Dosis-Wirkungskurven in Mikrotiterplatten erstellt. Dazu wurden in den Platten mit 96 Vertiefungen Verdünnungsreihen der Präparate in NBZ Medium angesetzt und jeweils mit 10^7 Zellen/ml Ea385 angeimpft. Die Platten wurden im Photometer (λ=690 nm) zu Beginn des Versuches und nach 24 h Inkubation bei 27°C gemessen. Zusätzlich wurden einzelne Ansätze nach der photometrischen Messung auf NBZA ausplattiert. Die Platten wurden 48 h bei 27°C inkubiert und dann die entstandenen *E. amylovora* Kolonien gezählt. Dies war dann nötig,

wenn bei hoher Präparatkonzentration bereits eine hohe OD vorlag, und so das Wachstum von *E. amylovora* nicht mehr über die OD bestimmt werden konnte.

Das *in vivo* Testsystem zur Untersuchung der Wirksamkeit von Präparaten gegen den Feuerbranderreger wurde in Anlehnung an Arbeiten von Pusey (Pusey, 1997; Pusey, 1999; Pusey, 2000) aufgebaut. Bei Apfelbäumen der Sorte `Gala` wurde der Zeitpunkt der Blüte entweder durch Aufstellen der Pflanzen im Gewächshaus unter künstlicher Beleuchtung vorgezogen oder durch Lagerung des Pflanzmaterials bei Dunkelheit im Kühlraum verzögert. Die Blüten wurden abgenommen und mit dem Blütenstiel in eine 10% ige Saccharoselösung gestellt (Abbildung 1) und mit einer Suspension ($1x10^6$ Bakterien/ml) des Feuerbranderregers (Ea385) inokuliert. 1h danach wurden die Blüten mit den Präparaten behandelt und dann bei 20-23°C und 100% rel. Luftfeuchtigkeit inkubiert. Nach 6d wurden die Blüten mit Feuerbrandsymptomen gezählt (Abbildung 1). Die Wirkung der Präparate im Vergleich zu einer mit Wasser behandelten Kontrolle wurde nach Abbott berechnet (Abbott, 1925).

3.4 Test auf resistenzinduzierende Wirkung

Abbildung 2: Apfelblüten der Sorte Gala im Stadium rote Knospe am Tag der ersten Behandlung im Versuch zur Resistenzinduktion 2008.

Topfpflanzen der Sorte Jonagold wurden im Freiland vor der Blüte mit den Präparaten behandelt (Abbildung 2). Nach dem Aufblühen, wurden die Blüten in Zuckerlösung gestellt, im Labor inokuliert und 6 Tage bei 22°C und 100% rel. Luftfeuchte inkubiert (siehe Glp. 3.3). Der Befall wurde im Vergleich zu Blüten von unbehandelten Bäumen bonitiert. Für jede Behandlung wurden vier Bäume verwendet, deren Blüten jeweils getrennt gesammelt und ausgewertet wurden. Bei jeder Probenahme wurden von jedem Baum 24 Blüten gesammelt.

3.5 Quantifizierung des Feuerbranderregers auf Blüten

Der Feuerbranderreger *E. amylovora* wurde in Blüten mit einer Real-Time PCR Methode gemessen. Die verwendeten Primer (Salm und Geider, 2004) binden an pEA29, ein *E. amylovora* spezifisches Plasmid. Alle Reaktionen wurden nach dem in Tabelle 3 gezeigten Schema angesetzt (Sickinger, 2008). Als Template wurde Blütenwaschwasser eingesetzt. Im Blütentestsystem wurden je Wiederholung drei Blüten in Wasser abgewaschen, im Freilandversuch aus jeder Parzelle 10 Blüten. Aus den nach der PCR-Reaktion erhaltenen ct-Werten wurde mit einer Standardgerade die Konzentration von *E. amylovora* in der Probe errechnet (Sickinger, 2008). Die Nachweisgrenze der *E. amylovora* spezifischen Real-Time PCR lag bei einer Zelle je Reaktion. *E. amylovora* konnte also bis zu Konzentrationen von 200 Zellen/Blüte detektiert werden. Eine sichere Quantifizierung war ab 2.000 Zellen/Blüte möglich.

Tabelle 3: Bestandteile eines Real-Time PCR Ansatzes zum Nachweis von *E. amylovora*

Komponente	Volumen (µl)	Endkonzentration
QuantiFast SYBR Green (2x) Qiagen	12,5	1x
Primer p29TF (10µM)	1,25	0,5µM
Primer p29TR (10µM)	1,25	0,5µM
Template	10	
Gesamt	**25**	

3.6 Freilandversuche zur Feuerbrandbekämpfung

3.6.1 Versuchsanlagen

Abbildung 3:

Versuchsanlage Karsee während der Apfelblüte 2008.

Die Freilandversuche wurden nach EPPO Richtlinie PP 1/166(3) in randomisierten Blockanlagen mit jeweils 4 Wiederholungen durchgeführt. In den fünf Versuchsjahren wurden insgesamt 11 Versuche mit künstlicher Inokulation durchgeführt. 2004 in Groß-Umstadt und Karsee (Kunz *et al.*, 2004), 2005 bis 2008 jeweils in Darmstadt und Karsee (Kunz *et al.*, 2006; Kunz *et al.*, 2008). In Groß-Umstadt und Darmstadt wurden die Versuche auf gepflanzten Bäumen durchgeführt, die jedes Jahr nach dem Versuch durch Rückschnitt der Befallsstellen saniert wurden. In Karsee wurden jeweils dreijährige Topfbäume verwendet (Abbildung 3), die nach dem Versuch verbrannt wurden.

3.6.2 Inokulation

In allen Versuchen wurde je Parzelle ein Baum mit dem Erreger inokuliert, in dem Bakteriensuspensionen mit einer Konzentration von $1x10^7$ Zellen/ml bis $4x10^7$ Zellen/ml aufgesprüht wurde. Es wurde

3.6.3 Behandlungen

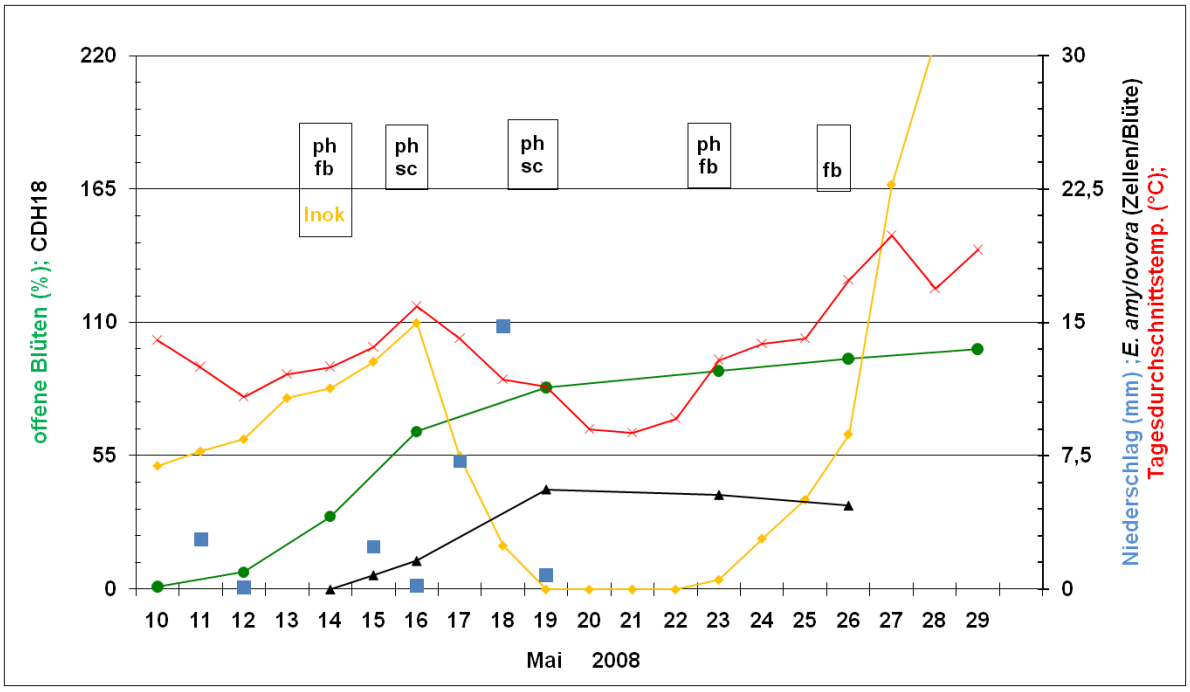

Abbildung 4: Tagesdurchschnittstemperatur, Stundengradsumme zur Basis 18,3 (CDH18), Blühverlauf (offene Blüten), Niederschlagsmenge und epiphytisches Erregerpotenzial (*E. amylovora*) am Standort Karsee 2008. Behandlungen wurden nach der Phänologie der Blütenöffnung (ph) oder nach Maryblytprognose (fb) durchgeführt. Mit sc sind die Schorfbehandlungstermine in den Strategien bezeichnet.

Die Präparate wurden mit einer Motorrückenspritze (Groß-Umstadt und Darmstadt) oder mit einer handgeführten Druckspritze (Karsee) mit einer Wasseraufwandmenge von ca. 500l/ha*m Kronenhöhe ausgebracht.

In Karsee wurden außerhalb des Versuchs keine Pflanzenschutzmittel eingesetzt. In Groß-Umstadt und Darmstadt wurden die Bäume außerhalb der Blühperiode praxisüblich mit Insektiziden und Fungiziden behandelt. Während der Blüte wurden nur in dringenden Fällen (Befall mit Schwammspinner) Insektizide, aber keine Fungizide eingesetzt.

In Darmstadt wurden Wetterdaten jeweils mit einem Thermohygrographen aufgezeichnet. In Karsee stand eine mobile Wetterstation der Marktgemeinschaft Bodenseeobst, welche die für Prognoseberechnungen im Obstbau notwendigen Daten aufzeichnete. Diese wurden dann mit dem Programm Maryblyt zur Feuerbrandprognose verrechnet (Abbildung 4).

In Groß-Umstadt und Darmstadt erfolgte die Terminierung der Behandlungen immer nach Phänologie zu ca. 10%, 40%, 70% und 90% offener Blüten. In Karsee wurden Feuerbrandbehandlungen je nach Fragestellung nach Phänologie oder nach Prognose durchgeführt. Bei Behandlungen nach Prognose wurden in den Strategien alternierend Schorfbehandlungen ausgebracht.

3.6.4 Auswertung

Zu Beginn der Blüte (Groß-Umstadt und Darmstadt) oder zum Ende der Blüte wurden jeweils alle Blütenbüschel an den Versuchsbäumen gezählt. Die so ermittelte Gesamtzahl potenzieller Befallsstellen wurde als Bezugsgröße zur Berechnung der Befallsstärke herangezogen. Da nicht befallene und nicht befruchtete Blüten bis zur Auswertung der Symptome abgeworfen wurden, hätte man sonst die Befallsstärke überschätzt. In allen Versuchen wurde die von der EPPO-Richtlinie geforderte Mindestanzahl von 800 Blütenbüscheln je Versuchsglied überschritten. Sobald Feuerbrandsymptome an den Blüten sichtbar wurden, wurde an allen Versuchsbäumen die Anzahl der Blütenbüschel und die Anzahl der befallenen Blütenbüschel gezählt (Abbildung 5).

Abbildung 5: Blütenbüschel mit Feuerbrandsymptomen in der Versuchsanlage Karsee.

Eine zweite Bonitur wurde 7 bis 14 Tage später durchgeführt. In Karsee 2007 wurde eine weitere Woche später eine dritte Bonitur durchgeführt. Die Befallsstärke wurde für jede Variante für jeden Boniturtermin berechnet, indem als Bezugsgröße die während der Blüte ausgezählten Blütenbüschel verwendet wurden. In den Übersichtstabellen wurden jeweils die Daten der letzten Bonitur angegeben. In 2005 wurde weder in Darmstadt noch in Karsee der für eine Auswertung erforderli-

che Mindestbefall von 40 Befallsstellen in der Kontrolle erreicht (mind. 5% Befall aus mind. 800 Blütenbüscheln), so dass Daten aus diesen beiden Versuchen nicht weiter verwendet wurden.

3.6.5 Datenanalyse

Die Befallsstärkenn in den vier Wiederholungen der Variante wurden gemittelt. Aus diesem Mittelwert in der Behandlung wurde im Vergleich zu dem in der unbehandelten Kontrolle der Wirkungsgrad nach Abbott (Abbott, 1925) errechnet. In jedem Freilandversuch wurden die Mittelwerte der Befallsstärke jeder Behandlung mit einem zweiseitigen, homoskedastischen T-Test mit dem der unbehandelten Kontrolle verglichen. Die Mittelwerte der verschiedenen Behandlungen wurden untereinander verglichen, in dem sie nach einer Varianzanalyse Tukey`s Multiple Comparison Test unterzogen wurden.

3.7 Einfluss der Behandlungen auf die Fruchtberostung

Freilandversuche zur Untersuchung des Einflusses von Präparaten auf die Fruchtberostung wurden in Praxisanlagen angelegt, die nach den Richtlinien des ökologischen Obst-baus geführt wurden. Seit 2005 wurden an den Standorten Stetten, Lindau und Insel Mainau Versuche an verschiedenen Apfel- und Birnensorten durchgeführt. Alle Versuche wurden im randomisierten Blockdesign mit vier Wiederholungen angelegt. Die Behandlungen erfolgten jeweils mit der Motorrückenspritze mit einer Wasseraufwandmenge von ca. 500 l/ha*m Kronenhöhe.

Die Bonitur erfolgte jeweils kurz vor der Ernte, indem mindestens 100 Früchte in jeder Parzelle in vier Berostungsklassen (BK) eingeteilt wurden (Abbildung 6). Der Berostungsindex (BI) wurde nach folgender Formel in jeder Parzelle berechnet.

BI = (Anzahl der Früchte in BK 1 x 1 + Anzahl der Früchte in BK 2 x 2 + Anzahl der Früchte in BK3 x 3 + Anzahl der Früchte in BK 4 x 4)/ Gesamtanzahl der Früchte.

Berostete Fruchtoberfläche	0%	1-10%	11-30%	>30%
Berostungsklasse	1	2	3	4

Abbildung 6: Einteilung der Fruchtberostung in Berostungsklassen am Beispiel Golden Delicious.

Die BI der vier Wiederholungen einer Behandlung wurden gemittelt und die Mittelwerte wurden nach einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit Tukey`s Multiple Difference test verglichen.

4 Ergebnisse

4.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1.1 Wirksamkeit der Präparate gegen Feuerbrand

In den Jahren 2004 bis 2008 wurden insgesamt 44 Präparate auf Ihre Wirksamkeit gegen den Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* mit den Labortestsystemen geprüft (Tabelle 4). 23 der Präparate wurden auch in Freilandversuchen eingesetzt (Tabelle 5).

13 Präparate reduzierten das Erregerwachstum in der Schüttelkultur nicht oder nur wenig. Keines dieser Präparate hatte im Blütentestsystem eine Wirkung von mehr als 20% (Tabelle 4). Einige dieser Präparate (Kaolin Tec. 800, Biplantol erwinia, Fungend, Phyto-Vital) wurden trotzdem im Freilandversuch getestet und zeigten auch dort keine Wirkung (Tabelle 5:).

31 Präparate reduzierten das Wachstum von *E. amylovora* im Schüttelkolben nach 24h Inkubation um mehr als 90% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle. Dies zeigt Ihre bakteriostatische Wirkung. Einige Präparate wurden auch auf Ihre Wirksamkeit im Schüttelkolben nach vier Stunden Inkubationszeit getestet. Zu diesem Zeitpunkt war in der Kontrolle nur ein geringes Erregerwachstum festzustellen, so dass die in der Kultur gemessene Zellzahl noch der angeimpften Zellzahl entsprach. Oft reduzierte die Behandlung die Lebendzellzahl in der Kultur im Vergleich zur ursprünglichen Lebendzellzahl, was eine bakterizide Wirkung zeigt. Ausnahmen bildeten dabei die Mikroorganismen enthaltenden Präparate BoniProtect (*Aureobasidium pullulans*) und Serenade WPO (*Bacillus subtilis*). Hier waren die Feuerbrandbakterien nach 4h nicht abgetötet, es fand bis 24h aber trotzdem kein Wachstum des Erregers in der Kultur statt (Tabelle 4). Dies wird auf das Wachstum der im Präparat enthaltenen Mikroorganismen zurückgeführt.

Von den 31 in Schüttelkultur wirksamen Präparaten reduzierten 18 die Symptombildung im Blütentest nicht ausreichend (<60% Wirkungsgrad). Präparate aus dieser Gruppe waren auch in den Freilandversuchen weniger wirksam als 60% (Tabelle 4 und Tabelle 5).

13 Präparate hemmten das *E. amylovora* Wachstum in Schüttelkultur vollständig und waren auch im Blütentest wirksamer als 60%. Zu dieser Gruppe gehörten 5 Kupferpräparate (SPU-02690-F-0SC, Kupferprotein 06, Cueva, SPU-01010-F, Cuprozin flüssig) 5 Präparate mit *Aureobasidium pullulans* (BlossomProtect, BoniProtect, BPASc4, BPASc06, BPGP07), Myco-Sin, und die *Bacillus amyleloquefaciens* Präparate Serenade Max und BaciM. Neun dieser 13 Präparate wurden auch im Freiland getestet, sechs davon zeigten im Freiland eine Wirkung von über 60% (Tabelle 5:). BlossomProtect oder die ähnlichen Testpräparate BPASc4, BPASC6 und BPG07 reduzierten den Feuerbrandbefall in Freilandversuchen immer signifikant. BlossomProtect erreichte dabei in 8 Versuchen einen durchschnittlichen Wirkungsgrad von 78%. Myco-Sin reduzierte den Befall in 3

von 6 Freilandversuchen signifikant und erreichte dabei eine durchschnittliche Befallsreduktion von 65%. Kupferprotein 06 mit einem Kupferaufwand von 190g/ha eingesetzt reduzierte den Feuerbrandbefall in einem Versuch signifikant um 71% und Serenade Max+Nu-Film P um 61% (Tabelle 5).

Der Vergleich der Testsysteme zeigt, dass eine Wirkung *in vitro* (Schüttelkultur) notwendig aber nicht ausreichend war, um eine gute Wirkung im Freiland vorherzusagen. Die Wirksamkeit im Blütentest korreliert meist mit der Wirksamkeit im Freiland, aber auch hier gibt es Präparate wie z.B. BoniProtect, die im Freiland schlechter wirkten als im Blütensystem. Trotzdem konnte gezeigt werden, dass es sinnvoll ist Präparate mit diesen Testsystemen zu überprüfen, bevor man Sie in zeitlich aufwändigen und kostenintensiven Freilandversuchen einsetzt.

Tabelle 4: Von 2004-2008 getestete Präparate, deren Herkunft, Zusammensetzung und Anwendungskonzentration, sowie der pH-Wert der Kultur nach dem Zusatz des Präparates (pH) und die Reduktion der lebenden Feuerbrandbakterien in Schüttelkolben nach 4h oder 24h Inkubation, sowie die Wirksamkeit im Blütentestsystem.

Nr.	Präparat	Lieferant	Wirkstoff	Konz. %	Schüttelkolben			Blüten
					pH	Red. 4 h	Red.24 h	Wirkung (%)
Vergl.	**Streptomycinsulfat**	Sigma	Streptomycinsulfat	0,025	7,2	**100**	**100**	**84**
1	**SPU-02690-F-0-SC**	Spiess Urania Chemicals GmbH	Kupferhydroxid	0,05	7,0	**-**	**90**	**88**
2	**Kupferprotein 06**	Novaprot GmbH	Kupfer	1.0	6,6	**-**	**100**	**92**
3	**Cueva**	Neudorff GmbH	Kupferoctanoat	2,0	4,7	**-**	**100**	**83**
4	**SPU-01010-F**	Spiess Urania Chemicals GmbH	"kleine Kupferkristalle"	0,08	7,1	**-**	**100**	**82**
5	**Serenade Max**	Intrachem Bio Deutschland	Bacillus subtilis QST	0,5	**-**	**-**	**100**	**79**
6	**BPASc4**	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans*+ Puffer C	1,2	**3,7**	**95**	**100**	**78**
7	**BlossomProtect**	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans* + Puffer P	1,2	**4,0**	**85**	**100**	**77**
8	**BoniProtect**	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans* (Hefen)	0,15	6,9	**16**	**99**	**77**
9	**Cuprozin flüssig**	Spiess Urania Chemicals GmbH	Kupferhydroxid	0,05	7,1	**-**	**98**	**75**
10	**BPASC6**	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans* + Puffer CKC	0,75	4,0	**-**	**100**	**74**
11	**BPGP07**	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans* (Hefen) +POM	0,85	4,1	**92**	**100**	**71**
12	**Myco-Sin**	Biofa AG	Saures Gesteinsmehl	1	**3,8**	**100**	**100**	**68**
13	**BaciM**	ABITEP GmbH	*Bacillus amyleloquefaciens*	20	-	**-**	**100**	**67**
14	**Biofa Cocana**	Biofa AG	Kokosseife	1	8,4	**-**	**100**	**59**
15	**Serenade WPO**	AgraQuest Inc.	Bacillus subtilis QST	1	6,4	**-7**	**100**	**58**
16	**Elot-Vis**	Biofa AG	Ethanolischer Hanfextrakt	10	7,3	**99**	**100**	**54**
17	**Funguran**	Biofa AG	Kupferoxychlorid	0,03		**-**	**100**	**47**
18	**Folanx Ca29**	Lanxess Distribution GmbH	Calciumformiat	1,0	5,1	**-**	**100**	**44**
19	**Kupferprotein 04**	Proagro GmbH	Kupfer	1	6,9	**100**	**100**	**39**
20	**Protex-Cu**	MAC-GmbH	Kupfersulfat	0,15	4,7	**100**	**100**	**34**
21	**Löschkalk (CaOH)**	Fluka	Calciumhydroxid	2	**12,4**	**100**	**100**	**24**

Nr.	Präparat	Lieferant	Wirkstoff	Konz. %	Schüttelkolben			Blüten
					pH	Red. 4 h	Red.24 h	Wirkung (%)
22	**Hydrocal super**	Verblasetechnik Schneider	Calciumhydroxid	Stäuben	-	**-**	**-**	**24**
23	**Asepta Erwinia I**	Asepta B.V. Delft, NL		4	4,7	**98**	**100**	**26**
24	**Asepta Erwinia II**	Asepta B.V. Delft, NL		4	4,8	**71**	**100**	**15**
25	**BioZell 2000B**	Zeller	Thymianöl	0,05	6,7	**100**	**100**	**7**
26	**Pottasche**		Kaliumcarbonat	0,5	**9,9**	**-**	**100**	**3**
27	**Vitisan**	Biofa AG	kaliumhydrogencarbonat	0,5	**8,2**	**-**	**100**	**-3**
28	**Schwefelkalk**	Biofa AG		1,5	**9,2**	**100**	**100**	**-5**
29	**DoMoF/Lysozym**	Novaprot GmbH	Lysozym	2	7,3	**-**	**100**	**-37**
30	**Temauxin A**	Temmen GmH	Acetylsalicylsäure	2,0	5,6	**80**	**99**	**23**
31	**Temauxin S**	Temmen GmH	Salicylsäure	2,0	5,7	**78**	**98**	**22**
32	**Fungend**	Biofa AG	Thymianöl	0,025	6,6	**15**	**66**	**-6**
33	**Pflanzendo + Pflanzenvital**	Roland Plocher Energiesystem	Trägerstoff: Dolomit	0,8+0,8	8,1	**-**	**7**	**6**
34	**In-Wa Quarz**	Klaus Hinrich Schulz	Quarzmehl + Kochsalz	0,025	7,1	**-**	**2**	**-13**
35	**Biplantol erwinia**	Bioplant, Naturverfahren GmbH	Homöopathika	0,2	6,4	**-21**	**-5**	**2**
36	**Temprotect**	Temmen GmH	Thymianöl	1,0	7,1	**29**	**-11**	**9**
37	**Pflanzenvital WG**	Roland Plocher Energiesystem	Trägerstoff: Dolomit	0,8	7,8	**-**	**-43**	**-2**
38	**Nu-Film P**	Intrachem Deutschland GmbH	Pinolene	0,03	7,4	**-**	**-58**	**16**
39	**Grünkraft für Gemüse und Obst**	Anna Mayrhofer		5,0	5,7	**ö**	**-89**	**-22**
40	**Phyto-Vital**	Ligmeda Consult		2	6,2	**40**	**-92**	**10**
41	**Kaolin Tec 800**	Biofa AG	Tonerde	1,5	7,5	**-6**	**-316**	**17**
42	**Quassiaextrakt**	Trifolio M GmbH	Quassin	0,2	6,8	**-96**	**-450**	**-**
43	**Biopro**	Bio-Protect GmbH	Bacillus subtilis BD170	0,3	6,8	**74**	**-823**	**4**
44	**Cutisan**	Biofa AG	Tonerde	1,5	7,0	**-312**	**-900**	**-8**

Tabelle 5: Der Befall in der unbehandelten Kontrolle sowie die Wirkung (%) der Präparate in Freilandversuchen im Rahmen des BÖL-Projektes im Vergleich zu der Wirkung in allen in Deutschland seit 1997 durchgeführten Freilandversuchen.

Präparat	Konz. %	Freilandversuche BÖL-Projekt									Mittel-wert	Freilandversuche D 1997-2008[a]		
		Karsee 04	Groß-Umst. 04	Karsee 06	Darm-stadt 06 I	Darm-stadt 06 II	Darm-stadt 07	Karsee 07	Darm-stadt 08	Karsee 08	Wirkung (%)	Wirkung	Stabw	N
Befall in unbehandelt (%)		**12,6**	**15,3**	**5,9**	**21,0**	**6,8**	**33,2**	**11,2**	**42,7**	**4,4**	**-**	**-**	-	-
Plantomycin/Strepto	0,06											**80**	14	27
BPASc4	1,2	**83****									**83**	**83**		1
BlossomProtect	1,2	**85****	**66***	**86****	**85****		**82****	**89****	**56****	**80****	**78**	**73**	16	11
BPGP07								**78****			**78**	**62**	23	2
Kupferprotein 06	1,0						**71****				**71**	**71**		1
Mycosin	1	**56**	**54**	**60***	**80***	**68**		**74****			**65**	**51**	20	11
BPASC6	0,75			**63***							**63**	**63**		1
Serenade Max + Nu-Film P	0,5+0,03			**61***							**61**	**53**	8	3
Folanx Ca29	1									**59***	**59**	**59**		1
Funguran	0,03			**74****			**62****	**38****			**58**	**58**	19	3
Serenade WPO	1	**51**									**51**	**43**	21	9
Protex-Cu	0,15	**49**									**49**	**49**		1
Löschkalk (CaOH)	2		**48**	**53***		**32**					**44**	**44**	24	3
Cueva (100gRK/ha)	0,85									**41**	**41**	**41**		1
BaciM	5								**41****		**41**	**40**	27	3
Temauxin A	2								**35***		**35**	**35**		1
Kupferprotein 08 (100gRK/ha)	0,53									**33**	**33**	**33**		1
Schwefelkalk	1,5	**28**									**28**	**28**		1
Phyto-Vital	2			**25**							**25**	**-6**	44	2

Präparat	Konz. %	Freilandversuche BÖL-Projekt									Mittel-wert	Freilandversuche D 1997-2008[a]		
		Karsee 04	Groß-Umst. 04	Karsee 06	Darm-stadt 06 I	Darm-stadt 06 II	Darm-stadt 07	Karsee 07	Darm-stadt 08	Karsee 08	Wirkung (%)	Wirkung	Stabw	N
Elot-Vis	10		**19**								**19**	**19**		1
BoniProtect	0,15									**19**	**19**	**33**	20	5
Fungend	0,05		**7**								**7**	**7**		1
Hydrocal super	gestäubt									**-2**	**-2**			
Biplantol erwinia	0,2	**-15**	**-18**								**-17**	**-16**	2	2
Kaolin Tec 800	1,5		**-25**								**-25**	**7**	46	2

*Der Feuerbrandbefall war in dieser Variante im zweiseitigen, homoskedastischen T-Test signifikant niedriger als in der Kontrolle ($p<0,05$).

**Der Feuerbrandbefall war in dieser Variante im zweiseitigen, homoskedastischen T-Test signifikant niedriger als in der Kontrolle ($p<0,01$).

[a](Fried, 1997; Fried *et al.*, 1998; Fried, 1999; Fried, 2001; Fried, 2001; Harzer, 2001; Renner, 2001; Fried, 2002; Harzer, 2002; Moltmann *et al.*, 2002; Laux *et al.*, 2003; Fried *et al.*, 2004; Kunz *et al.*, 2004; Zeller und P.Laux, 2004; Scheer *et al.*, 2005; Fried, 2006; Kunz *et al.*, 2006; Fried, 2007; Scheer *et al.*, 2007; Fried, 2008; Kunz *et al.*, 2008; Fried, 2009).

4.1.2 Resistenzinduktion an Topfpflanzen

Viele der getesteten Präparate sind als Pflanzenstärkungsmittel gelistet und werden von den Herstellern zur Förderung der Widerstandskraft der Pflanzen oder als Resistenzinduktoren empfohlen. Um zu prüfen, welches Präparat die Anfälligkeit von Blüten gegen Feuerbrand reduzieren kann, wurde ein entsprechendes Testsystem etabliert (siehe Glp. 3.4).

Tabelle 6: Befallsreduktion an inokulierten Blüten durch die Vorbehandlung mit Präparaten im Stadium rote Knospe. Blüten wurden an verschiedenen Tagen nach der Behandlung entnommen. Es sind alle Versuche aus vier Versuchsjahren zusammengefasst.

Präparat	Konz. %	Wirkungsgrad (%) bei Probenahme nach Tagen											Mittelwert
		2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	14d	
Mycosin	1		35	14	-5		-1	6	22	-5	56	-30	10
Blossom-Protect	1,2		48	16	-21		16	23	2	-9	-72	-34	-3
Serenade WPO	1							37		-9			14
Elot-Vis	10							37		10			24
Funguran	0,3							9		21			15
Kaolin Tec 800	1,5							18		-6			6
Löschkalk (CaOH)	2							7		-13			-3
Biopro	0,3							13		-4			4
Biplantol erwinia	0,2							12		-14			-1
Schwefelkalk	1,5							3		-3			0
Fungend	0,05							1		3			2
Phyto-Vital	2		3	-2	-51		6	-3	30	-13	2	-35	-7
BioZell 2000B	0,05		60	9	-63		0	2	4	-14	72	-30	5
BoniProtect	0,15	-2				-30							-16
Temauxin A	2,0	-42				-8							-25
Temauxin S	2,0	21				-8							7
Grünkraft für Gemüse-Obst	5,0	-19				-35							-27

In den Jahren 2004, 2005, 2006 und 2008 wurden Versuche auf resistenzinduzierende Wirkung mit insgesamt 17 Präparaten durchgeführt (Tabelle 6). Der Befall an den inokulierten Blüten von unbehandelten Bäumen schwankte sehr stark zwischen den einzelnen Probenahmeterminen. Die statistische Auswertung der Einzelversuche ergab in keinem Fall eine signifikante Wirkung der Präparate auf die Anfälligkeit der behandelten Blüten. Über die Jahre konnten leider nicht dieselben Probenahmetage eingehalten werden, da der Blühverlauf unterschiedlich schnell war. Ein direkter Vergleich der Daten ist deshalb nur in Einzelfällen möglich. Die Gesamtübersicht aller Versuchsdaten zeigt jedoch, dass keines der Präparate eine reproduzierbar anhaltende Wirkung über die Blühperiode hatte (Tabelle 6).

4.1.3 Wirkungsweise der Präparate

Präparate, die in keinem der Testsysteme wirksam waren (Nr. 32-44 in Tabelle 4), wurden hier nicht weiter untersucht. Für einen Teil der anderen Präparate kann die Wirkungsweise anhand von Literaturdaten erklärt werden, für andere wurden weitere Laboruntersuchungen zur Aufklärung des Wirkmechanismus durchgeführt.

Temauxin A (Acetylsalicylsäure) und **Temauxin S** (Salicylsäure) enthalten beide Salicylsäure, die als sekundärer Botenstoff in der systemischen Resistenzinduktion durch DL-3-Aminobuttersäure oder Acibenzolar-S-methyl bekannt ist (Hassan und Buchenauer, 2007). Die Behandlung mit Salicylsäure hat in Birnen zu einer reduzierten Anfälligkeit gegen Feuerbrand geführt (Sparla *et al.*, 2004). In unseren Versuchen hemmten beide Präparate das Erregerwachstum in vitro aufgrund des niedrigen pH-Werts der Kulturen (Tabelle 4). Im Blütensystem war dieser Effekt nicht ausreichend und eine Verringerung der Anfälligkeit der Blüten nach Vorbehandlung der Knospen konnte auch nicht festgestellt werden (Tabelle 6). Trotzdem reduzierte Temauxin A den Befall im Freilandversuch in Darmstadt 2008 signifikant (Tabelle 5). Weitere Untersuchungen auf einen resistenzinduzierenden Effekt in Trieben wären sinnvoll.

DoMoF/Lysozym enthält das lytische Enzym aus Hühnerei, welches Bakterienzellwände angreift (Salm und Geider, 2004). Dies erklärt die gute Wirkung *in vitro*, welche sich im Blütensystem aber nicht bestätigte. Bei anderen Präparaten erklärt sich die gute *in vitro* Wirkung durch enthaltene bekannte bakterizide Substanzen wie Thymianöl (Basim *et al.*, 1998) (**BioZell200B**) oder Ethanol (**Elot-Vis**). Bei Elot-Vis erhielt man nach verdampfen des Ethanols unter dem Abzug einen zähen, dunklen Extrakt, der mit Wasser wieder auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt wurde. Der in Wasser gelöste Extrakt hemmte das Bakterienwachstum *in vitro* nicht, wohingegen 10% iges Ethanol das Bakterienwachstum vollständig unterdrückte (Tabelle 7). Die *in vitro* Wirkung von Elot-Vis wird also auf den Ethanolgehalt zurückgeführt. Die schlechtere Wirkung von Elot-Vis auf den Blüten wird darauf zurückgeführt, dass das Ethanol beim Aufsprühen verdampft.

Tabelle 7: Wirkung von Elot-Vis und dessen Bestandteile auf *Ea385* in Schüttelkultur. Der Extrakt wurde durch Abdampfen von Ethanol unterm Abzug gewonnen. Es sind Mittelwerte aus jeweils zwei Versuchen angegeben.

Behandlung	Konz. %	pH Start	pH 24 h	Reduktion 4 h %	Reduktion 24 h %
Elot-Vis	10,0	7,3	7,5	99	100
Elot-Vis Extrakt in H2O	10,0	7,2	6,4	-147	-559
Ethanol	10,0	7,2	7,2	100	100

Pottasche, Kaliumhydrogencarbonat, Schwefelkalk, Löschkalk und **Biofa Cocana** erhöhten den pH-Wert der Schüttelkulturen auf über 8, wodurch das Erregerwachstum in den Schüttelkulturen gehemmt war. Auf Stigmata von Blüten der Sorte Gala wurden pH-Werte von 6 gemessen und eine Pufferkapazität zur Aufrechterhaltung dieses pH-Wertes wird postuliert (Pusey, 2006). Das Aufsprühen einer basischen Lösung auf die Stigmata muss dort also nicht zu einer deutlichen pH-Erhöhung führen. So waren Pottasche und Kaliumhydrogencarbonat dann auch im Blütentestsystem wirkungslos. Schwefelkalk reduzierte das Erregerwachstum in der Schüttelkultur auch in auf pH 7,0 gepuffertem Medium (Tabelle 8). Dies zeigt, dass weitere bakterizide Substanzen (z.B. Polysulfide) enthalten sind. Trotzdem war Schwefelkalk im Blütensystem und im Freiland nicht wirksam.

Tabelle 8: Wirkung von Schwefelkalk und Löschkalk in ungepuffertem und gepuffertem Medium auf *Ea385* in Schüttelkultur. Es sind Mittelwerte aus jeweils zwei Versuchen angegeben.

Behandlung	Konz. %	pH Start	pH 24 h	Reduktion 4 h %	Reduktion 24 h %
Schwefelkalk	1,5	9,2	8,1	100	100
Schwefelkalk pH 7 gepuffert	1,5	7,3	7,0	100	94
Löschkalk	2,0	12,4	12,3	100	100
CaCl2 (10,8g Calcium)	3,0	6,8	6,7	89	100
CaCl2 (5,4g Calcium)	1,5				0
pH 7 gepuffertes Medium	--	6,9	6,6	-41	-96

Eine 2% ige Löschkalksuspension enthält pro Liter 20g Calciumhydroxid bzw. 10,8 g Calcium. Gibt man die gleiche Menge Calcium in Form von Calciumchlorid (30g $CaCl_2$) in eine Schüttelkultur, wächst in dieser trotz neutralem pH-Wert der Feuerbranderreger nicht. Allerdings ist dieser hemmende Effekt des Calciums bei einer Halbierung der Konzentration völlig aufgehoben (Tabelle 8). So konnte mit der gesättigten Löschkalksuspension keine Wirkung im Blütentestsystem erzielt werden. Um die Calciumkonzentration auf den Blüten zu erhöhen wurde Hydrocal super auf die Blüten gestäubt (Abbildung 7). Doch auch dies erhöhte weder im Blütentest noch im Freiland (Tabelle 5) die Wirkung des Löschkalks.

Abbildung 7: Blüten im Reaktionsgefäßständer 1h nach der Inokulation mit E. amylovora, die mit Wasser besprüht (links) oder mit Hydrocal super bestäubt wurden.

Unter allen pH-erhöhenden Präparaten hatte **Biofa Cocana** (Kokosseife) die höchste Wirksamkeit im Blütentestsystem. Hier wird aber eher die Seife als Wirkstoff vermutet. Weitere Untersuchungen und Freilandversuche wurden mit Biofa Cocana bisher nicht durchgeführt, da Seifen und Tenside während der Blüte zu Mehrberostung der Früchte führen können.

Asepta Erwinia I, Asepta Erwinia II, Folanx Ca29, Mycosin und alle *A. pullulans* Präparate reduzierten den pH-Wert der Schüttelkulturen und hemmten so das Wachstums des Feuerbranderregers *in vitro*. Die Bestimmung des für ein Wachstum von *E. amylovora* in Schüttelkultur optimalen pH-Wertes ergab, dass der Feuerbranderreger zwischen pH 6 und 7,4 sehr gut wächst. Bei pH 5 ist das Wachstum stark reduziert und bei pH 4 fast völlig gehemmt (Abbildung 8).

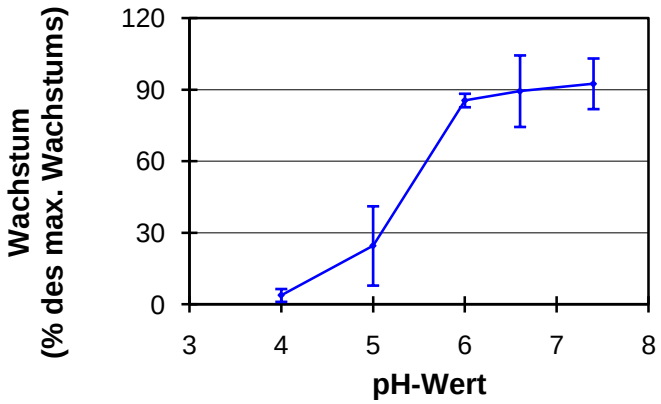

Abbildung 8: Wachstum von *Erwinia amylovora* in Flüssigkultur in Abhängigkeit vom pH-Wert des Mediums. Das Wachstum der Kulturen wurde anhand der optischen Dichte (OD660) nach 8h ermittelt.

So kann über die pH-Absenkung des Mediums die *in vitro* Wirkung dieser Gruppe von Präparaten erklärt werden. Im Gegensatz zu den pH-erhöhenden Präparaten hatten einige dieser Präparate auch eine sehr gute Wirkung auf Blüten und im Freiland. Entweder sind die Blüten weniger gut in der Lage pH-Absenkungen zu puffern als pH-Erhöhungen, oder die Präparate haben weitere Wirkmechanismen

FolanxCa29 ist ein Calciumdünger mit 29% Calciumgehalt. Eine 1% ige Lösung enthält also 2,9 g/l Calcium. Dies liegt unterhalb der für Calcium ermittelten wirksamen Konzentration von 10,8 g/l (Tabelle 8), so dass der Calciumgehalt die Wirkung nicht erklärt. Bei **Myco-Sin** zeigte sich, dass für die Hemmung des Bakterienwachstums der saure pH-Wert in den Kulturen notwendig war (Tabelle 9). In gepufferten Medium war Myco-Sin nicht wirksam.

Tabelle 9: Reduktion der *Ea385* Konzentration durch Myco-Sin im Schüttelkolben nach 4h und nach 24h in Abhängigkeit vom pH-Wert. Es sind Mittelwerte aus jeweils zwei Versuchen angegeben.

Behandlung	Konz. (%)	pH Start	pH 24 h	Reduktion 4 h (%)	Reduktion 24 h (%)
Myco-Sin	1,0	3,8	3,7	100	100
Myco-Sin in pH 7 Puffer	1,0	6,1	5,4	48	-129
Myco-Sin in pH 4 Puffer	1,0	2,9	3,0	100	100
Medium Puffer pH 7	--	6,8	6,5	20	-36
Medium Puffer pH 4	--	4,3	4,3	89	99

BlossomProtect besteht aus zwei Komponenten. Komponente A ist ein Zitronensäurepuffer, der die Spritzbrühe ansäuert und Komponente B enthält Blastosporen des Hefepilzes *Aureobasidium pullulans* (Kunz, 2004). Komponente B entspricht dem Präparat **BoniProtect**. In Schüttelkultur war die Wirkung von Komponente A und von BlossomProtect vergleichbar. Die pH-Absenkung in der Kultur reduziert die *E. amylovora* Konzentration bereits nach 4h deutlich und hemmt das Wachstum vollständig. Dieser Effekt kann durch Verwendung von auf pH 7 gepuffertem Medium völlig aufgehoben werden (Tabelle 10). Die Komp. B reduziert den pH-Wert des Mediums am Anfang nicht und reduziert auch nach 4h noch nicht die Konzentration von *E. amylovora*. Allerdings sinkt der pH-Wert in der Kultur bis 24h auf 4,9 und das Bakterienwachstum in der Kultur wird deutlich gehemmt. Auch die Hemmung durch die Komp. B kann durch Verwendung gepufferten Mediums aufgehoben werden. Die anderen getesteten *A. pullulans* Präparate **BPASc4, BPASc6** und **BPGP07** arbeiten nach demselben Prinzip wie BlossomProtect. Sie unterschieden sich in der Zusammensetzung der Pufferkomponenten. Alle *A. pullulans* Präparate incl. **BoniProtect** waren auf Blüten wirksam. Im Freiland zeigte sich aber, dass die Zugabe der Pufferkomponente für eine gute Wirkung notwendig war (Tabelle 1). Keine der Formulierungsvarianten war im Freiland wirksamer als BlossomProtect, so dass diese nicht weiter untersucht wurden. Bei Applikation von

BlossomProtect wird durch die Pufferkomponente der pH-Wert auf den Blüten abgesenkt. *A. pullulans* vermehrt sich auch im sauren Millieu bis zu einem pH-Wet von 3 sehr gut und ist in der Lage seine Umgebung weiter anzusäuern. Es wird deshalb angenommen, dass der pH-Wert auf den Blüten so über einen längeren Zeitraum in einem für den Feuerbranderreger ungünstigen sauren Bereich gehalten wird.

Tabelle 10: Reduktion der *Ea385* Konzentration durch BlossomProtect oder seinen Bestandteilen im Schüttelkolben in Abhängigkeit vom pH-Wert. Aufgeführt sind Mittelwerte aus jeweils zwei Versuchen.

Behandlung	Konz. %	pH Start	pH 24 h	Reduktion 4 h (%)	Reduktion 24 h (%)
BlossomProtect	1,20	4,0	3,7	85	100
BlossomProtect gepuffert pH 7	1,20	5,9	5,5	14	-617
BlossomProtect Komp. B	0,15	6,9	4,9	16	99
BlossomProtect Komp. A	1,05	4,0	3,9	88	100
BlossomProtect Komp. B gepuffert pH7	0,15	6,9	6,3	-38	-286
BlossomProtect Komp. A gepuffert pH7	1,05	6,0	5,7	7	-609
Medium gepuffert pH 7	--	6,9	6,6	27	26

Baci M enthält den *Bacillus amyleliquefaciens* Stamm FZB42, und die beiden **Serenade** Formulierungen enthalten den *Bacillus* Stamm QST 713, der inzwischen auch der Art *B. amyleliquefaciens* zugeordnet wird (Chen *et al.*, 2007). Für Baci M lagen Voruntersuchungen zur Wirkungsweise vor, so dass an dieser Stelle keine weiteren Untersuchungen durchgeführt wurden. FZB42 produziert verschiedene antibakterielle Polyketide, die für die Wirksamkeit von Baci M gegen Feuerbrand notwendig sind (Chen *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008).

Auch in den Serenadeformulierungen sind sowohl Sporen von *B. amyloliquefaciens* als auch die während der Fermentation gebildeten antibakteriellen Lipopeptide enthalten. Durch Zentrifugation einer 1% igen Serenade WPO Suspension wurden Sporen und lösliche Substanzen voneinander getrennt. Beide Fraktionen hemmten *E. amylovora* in Schüttelkultur vollständig, obwohl der pH-Wert der Kulturen über 6 lag. Dies zeigt, dass im Serenade WPO lösliche antibakterielle Substanzen enthalten sind.

Mit Funguran, Protex-Cu, Cuprozin flüssig, SPU-02690-F-O-SC, SPU-01010-F, Cueva, Kupferprotein04 und Kupferprotein06 wurden 8 verschieden Kupferpräparate in die Untersuchungen einbe-

zogen (Tabelle 11). Kupfer ist ein bekanntes bakterizides Element (Psallidas und Tsiantos, 2000). So wurden diese Präparate weniger auf Ihre Wirkungsweise als auf den Einfluss der Formulierung auf die benötigte Kupfermenge untersucht. Es sollte die Formulierung identifiziert werden, die mit der geringsten Kupfermenge die höchste Wirkung erzielt.

Tabelle 11: Anwendungskonzentration, Kupferanteil und ausgebrachte Kupfermenge für die untersuchten Kupferpräparate. MIK90 gibt die Konzentration an, die in Schüttelkultur für eine Wirkung von 90% benötigt wurde.

Präparat	Anwendungskonz. [%]	Kupferanteil [%]	MIK90 (mmolCu/L)	Anwendungskonz. mmol Cu/L Spritzbrühe	Aufwandmenge: g Cu/ha
Funguran	0,3	45,0	1,3	21,3	1.354
Funguran 1/10	0,03	45,0	-	2,1	135
Protex-Cu	0,15	6,0	1,3	1,4	88
Kupferprotein 04	1,0	0,47	0,8	0,7	47
Kupferprotein 06	1,0	1,90	0,375	3,0	190
Cuprozin flüssig	0,05	30,0	2,4	2,4	153
SPU-02690-F-0-SC	0,05	20,0	1,6	1,6	102
SPU-01010-F	0,08	6,3	1,6	0,8	51
Cueva Pilzfrei	2,0	1,18	0,9	3,7	235

Funguran, Protex-Cu, Cuprozin flüssig, SPU-02690-F-O-SC, SPU-01010-F hatten eine vergleichbare *in vitro* Wirkung (Tabelle 11). Die Konzentration, die für eine 90% Wirkung nötig war (MIK90), lag bei diesen fünf Präparaten bei 1,3 bis 2,4 mmol Cu/l (1 mmol Cu entspricht 0,064g). Cueva mit einer MIK von 0,9 mmol Cu/l und die beiden Kupferproteine mit 0,8 und 0,375 mmol Cu/l hatten eine höhere Aktivität in der Schüttelkultur. Auffallend ist, dass sowohl Cueva Pilzfrei als auch die Kupferproteine einen sehr geringen Kupferanteil (<2%) in der Formulierung haben. Durch die große Menge an Beistoffen und der dadurch eingesetzten hohen Aufwandmenge, ist nicht auszuschließen, dass die hier gemessene Wirkung nicht vom Kupfer sondern von andern Inhaltstoffen der Formulierung (z.B. Tenside) kommt. Dies müsste mit Leerformulierungen geprüft werden.

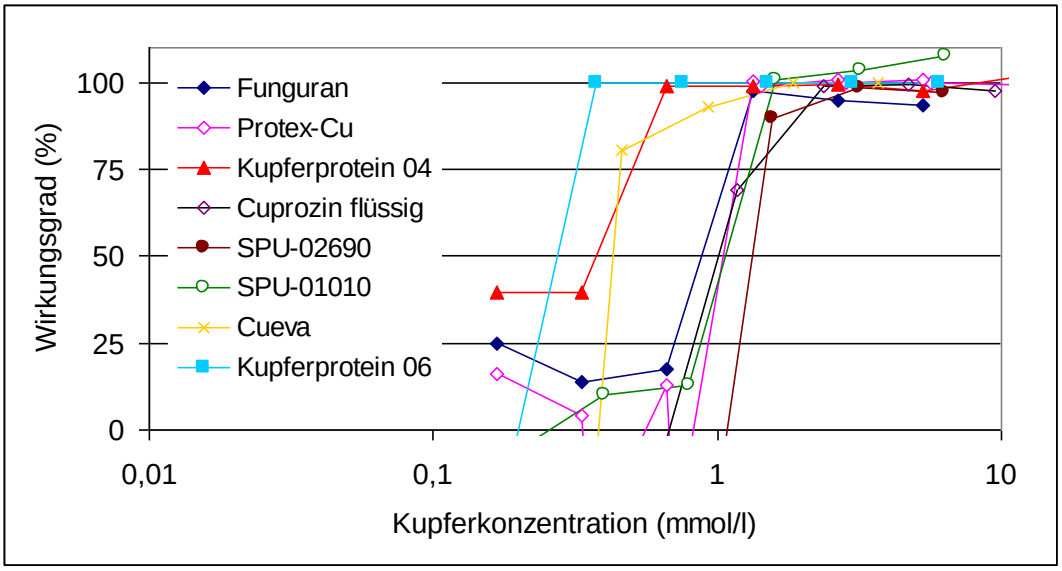

Abbildung 9: Dosis-Wirkungskurven von Kupferpräparaten gegen den Feuerbranderreger *E. amylovora* in Schüttelkulturen. Gemessen wurde das Wachstum der Kultur anhand der Zunahmen der OD690.

Während bei Funguran und Kupferprotein06 noch 1/10 der empfohlenen Aufwandmenge für eine 90% ige Wirkung ausreicht, benötigt Cueva ein Viertel der empfohlenen Aufwandmenge und beim Kupferprotein04, beim Cuprozin flüssig und beim SPU-02690-F-0-SC entspricht die empfohlene Anwendungskonzentration dem MIK90. Bei SPU-01010-F reicht die empfohlene AWK nicht für eine 90% ige Wirkung aus.

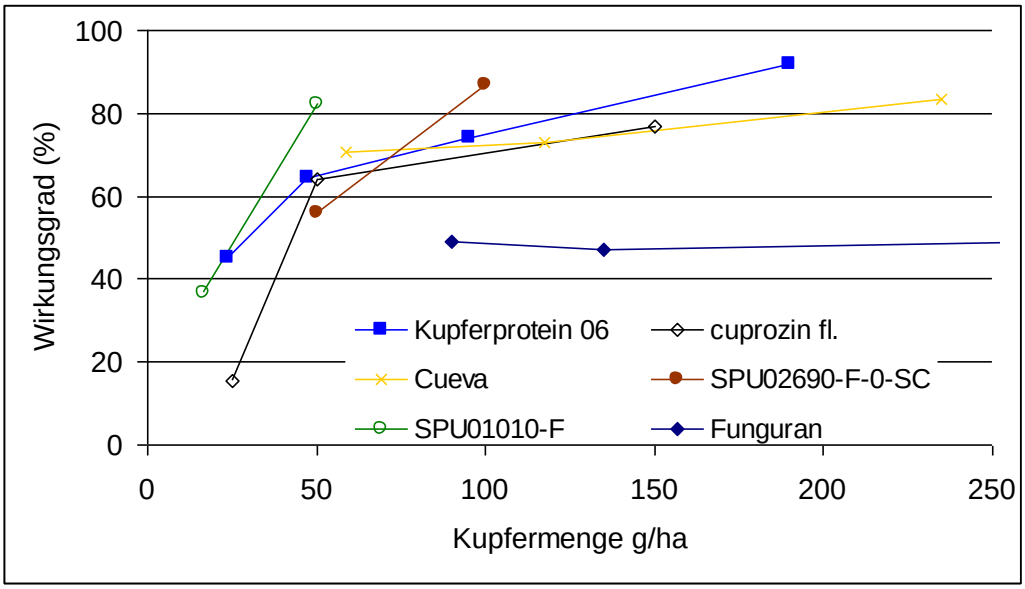

Abbildung 10: Dosis-Wirkungskurven von Kupferpräparaten gegen den Feuerbranderreger *E. amylovora* auf abgeschnittenen Blüten. Angegeben ist der mittlere Wirkungsgrad aus mind. 3 Versuchen. Die Kupfermenge/ha wurde unter der Annahme berechnet, dass 1.000l Spritzbrühe/ha eingesetzt werden.

Blütentests mit den Kupferpräparaten zeigten, dass man umgerechnet mind. 50g Cu /ha für eine Wirkung über 50% benötigt. Mit SPU01010-F wurden mit 50g Kupfer bereits 80% Wirksamkeit erreicht. Mit SPU02690-F-0-SC wurden dafür 100g Kupfer/ha benötigt, mit dem Kupferprotein06 190g/ha und mit Cueva 235g/ha (Abbildung 10). Die Wirksamkeit im Blütensystem war also nicht mit der Wirksamkeit in Schüttelkultur vergleichbar.

Für die Freilandversuche 2008 wurde pro Behandlung eine Kupfermenge von 100g/ha festgelegt, da höhere Konzentrationen zu Mehrberostung führen können und da die Gesamtkupfermenge pro ha und Jahr im ökologischen Obstbau auf 2kg begrenzt ist. Laut Blütentests war mit dieser Konzentration eine Wirkung von ca. 70% zu erwarten. Für die Freilandversuche wurde Cueva verwendet, da dieses eine Zulassung zur Verwendung im Obstbau hat und bei entsprechender Wirksamkeit für die Praxis schnell verfügbar gemacht werden könnte. Sinnvoll wäre in Zukunft sicher auch die Prüfung von SPU01010-F.

Die Kupferpräparate Cueva und Kupferprotein06 waren mit der verwendeten Kupferaufwandmenge von 100g/ha in 2008 weniger wirksam als 135 g/ha Funguran in den Vorjahren (Durchschnitt 58%). Protex-Cu wurde 2004 mit einer Kupfermenge von 90g/ha eingesetzt und erreichte eine Wirkung von 49%. Kupferprotein06 wurde 2007 im Freiland einprozentig (190g/ha) appliziert und erreichte damit eine Wirkung von 71%. Die Wirkung der Kupferpräparate in den bisherigen Freilandversuchen zeigte also eine Korrelation mit den verwendeten Kupferaufwandmengen (Abbildung 11). Die Formulierung scheint in den Freilandversuchen einen geringeren Einfluss zu haben als *in vitro*. Für eine ausreichende Wirkung im Freiland waren mindestens 200g Reinkupfer/ha und Behandlung notwendig. Aufgrund der Berostungsgefahr kann dies nicht bei Tafeläpfeln empfohlen werden.

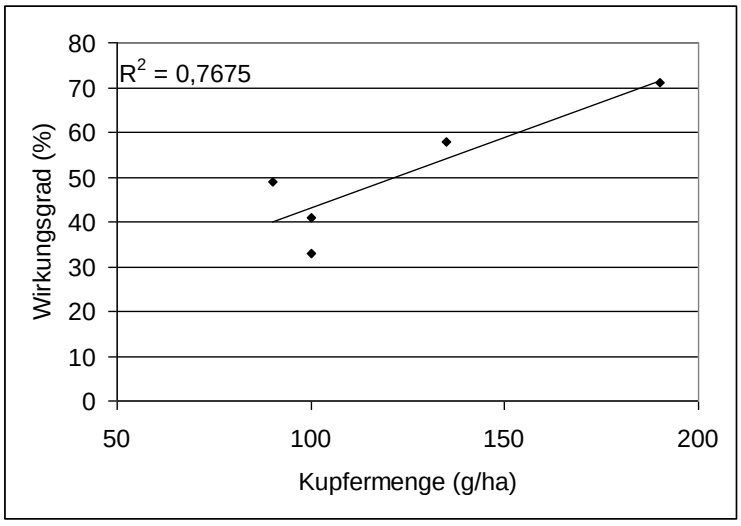

Abbildung 11: Korrelation zwischen Wirksamkeit gegen Feuerbrand von Kupferpräparaten im Freiland und der Kupferaufwandmenge. Eingesetzt wurden die Kupferpräparte Protex-Cu, Funguran und Kupferprotein 06. R^2= Bestimmtheitsmaß.

4.1.4 Einfluss der Präparate auf das epiphytische Wachstum von E. amylovora

Weiteren Aufschluss über die Wirkmechanismen der Präparate sollte die Untersuchung der epiphytischen Besiedlung von Blüten mit *E. amylovora* nach Behandlung mit verschiedenen Präparaten geben. Dafür wurden Blüten der Apfelsorte Gala im Gewächshaus angetrieben und in Zuckerlösung gestellt. Die Blüten wurden mit dem entsprechenden Präparat behandelt und danach mit 1000 Zellen von *E. amylovora* (Ea385) inokuliert. 1h bzw. 48h nach der Inokulation wurden jeweils 3 Blüten aus jeder Behandlung abgewaschen. Im Waschwasser wurde die Konzentration an *E. amylovora* mit der Real-time PCR bestimmt (siehe Glp. 3.5). Für jedes Präparat wurden zwei bis vier Versuche durchgeführt.

Auf inokulierten, nicht behandelten Blüten vermehrte sich *E. amylovora* von 333 auf $9x10^6$ Zellen pro Blüte. Auf mit Strepto (Streptomycin) behandelten Blüten wurde nach 48h nur eine Populationsdichte von $2,5x10^4$ Zellen nachgewiesen. Die Behandlung reduzierte also die Populationsdichte um Faktor 180. Serenade Max reduzierte die *E. amylovora* Dichte um Faktor 9, Löschkalk um Faktor 3, BlossomProtect um Faktor 2 und Myco-Sin gar nicht. Allerdings wurden auch auf nicht inokulierten Blüten, die mit Leitungswasser behandelt wurden *E. amylovora* nachgewiesen (Abbildung 12). Diese Versuche deuten darauf hin, dass BlossomProtect und Myco-Sin nicht in der Lage sind, die Vermehrung des Erregers auf der Narbe zu verhindern. Die gute Wirkung auf die Symptomausprägung im selben Versuchsansatz (Tabelle 4) zeigt, dass beide Präparate den Infektionsweg auf andere Weise blockieren.

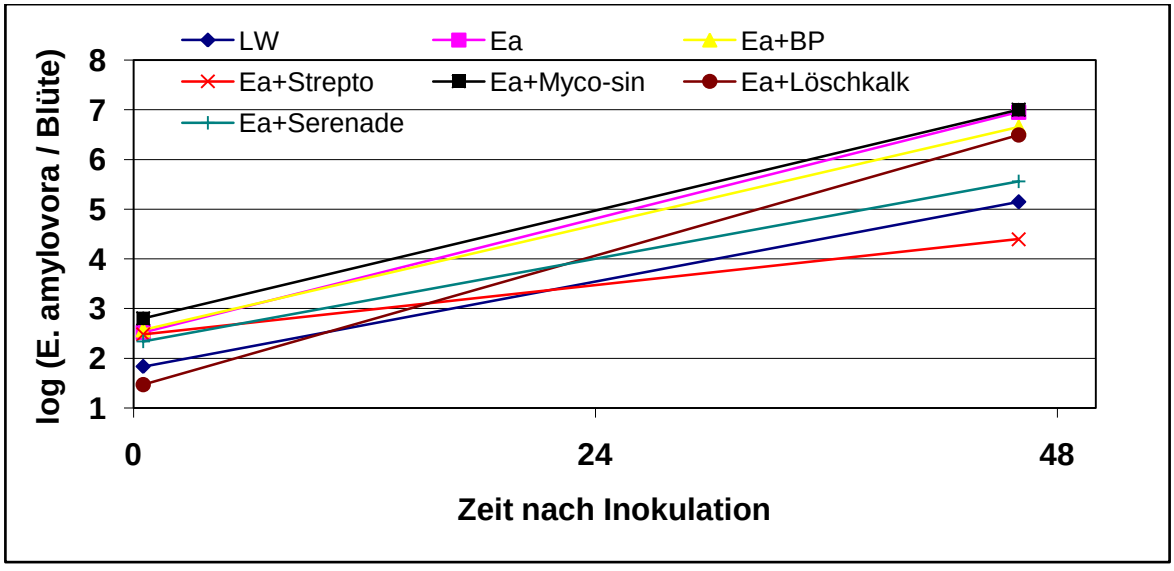

Abbildung 12: Konzentration von *E. amylovora* auf Apfelblüten nach Inokulation mit ca 1.000 Zellen je Blüte (Ea), Behandlung mit Leitungswasser (LW) oder nach Inokulation und Behandlung mit 1,2% BlossomProtect (BP), 1,0% Myco-Sin, 0,5% Serenade Max (Serenade), 2% Löschkalk oder 0,06% Strepto. Die Konzentraion von *E. amylovora* wurde mit der Real-time PCR Methode gemessen.

Auch in den Freilandversuchen in Karsee 2007 und 2008 wurde die Abundanz von *E. amylovora* auf den Blüten in behandelten und unbehandelten Parzellen mit der Real-time PCR-Methode gemessen. In 2007 wurde der Einfluss der Behandlungen mit Myco-Sin, BlossomProtect oder Funguran untersucht. Nach dem Aufsprühen der Erregersuspension am 23.4. wurde auf den inokulierten Bäumen eine durchschnittliche Konzentration von 500.000 *E. amylovora*/Blüte ermittelt. Die Konzentration sank bis zum 29.4. auf 600 *E. amylovora*/Blüte ab und schwankte bei den Probenahmen bis zum 23.5.07 auf den symptomlosen Blüten zwischen 1.000 und 100.000 *E. amylovora*/Blüte.

An den nicht inokulierten Bäumen konnten bis zum 27.4. in keiner Behandlung Erreger auf den Blüten nachgewiesen werden. Am 29.4. waren in den Funguran Parzellen und in der unbehandelten Kontrolle Erreger nachzuweisen. Funguran wurde am 25.4. nicht eingesetzt und es könnte sein, dass sich deshalb ein höheres Potenzial aufgebaut hat. Bis zwei Tage nach der letzten Behandlung (1.5.) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen nachzuweisen. Erst am 7.5. waren auf den mit BlossomProtect behandelten Blüten signifikant weniger Erregerzellen messbar als in unbehandelt. Am 17.5. waren es in BlossomProtect signifikant weniger als in unbehandelten oder in Funguran behandelten Parzellen (Abbildung 13).

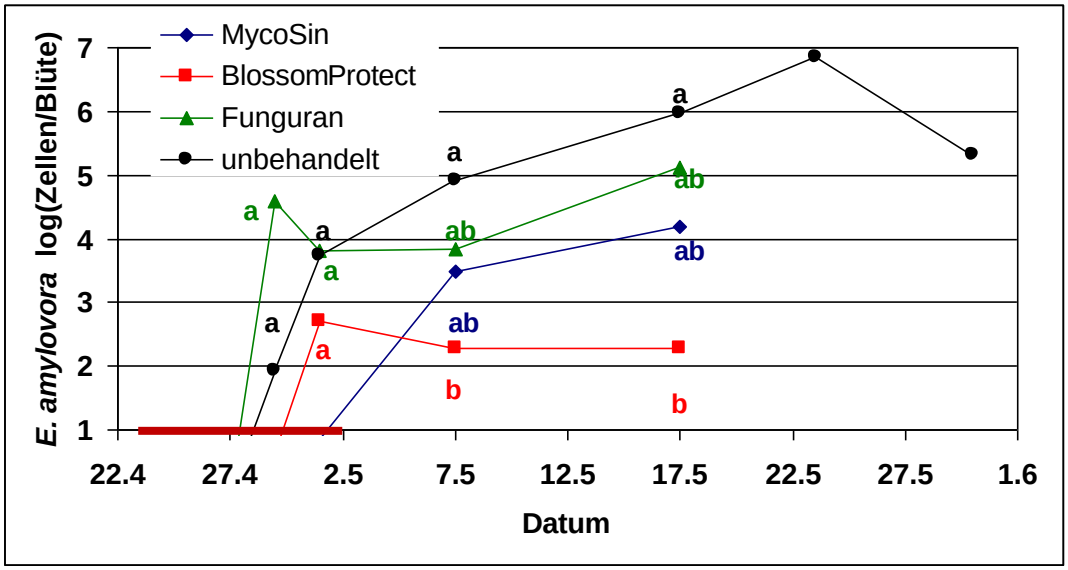

Abbildung 13: Die Konzentration von *E. amylovora* auf Apfelblüten aus dem Freilandversuch in Karsee 2007 wurde mit der Real-time PCR bestimmt. Aus je vier Parzellen der Varianten unbehandelt, 0,03% Funguran, 1,2% BlossomProtect und 1,0% Myco-Sin wurden bei jeder Probenahme jeweils 20 symptomlose Blüten entnommen. Angegeben sind die Mittelwerte. Unterschiedliche Buchstaben an einem Tag zeigen signifikante Unterschiede im Tukey`s Multiple Comparison Test ($p \leq 0{,}05$). Am 23.4. wurde der Erreger ausgebracht, Blühende war am 2.5.07.

Mit der Entnahme symptomloser Blüten sollte das epiphytische Erregerpotenzial überprüft werden. Es ist aber nicht auszuschließen, dass ab dem 7.5. auch infizierte Blüten gesammelt wurden, die noch keine Symptome zeigten, und dass die deutliche Erhöhung der Erregermenge in den unbe-

handelten Blüten nach dem Fall der Blütenkronblätter auf die Erhöhung des endophytischen Potenzials und nicht auf ein epiphytisches Wachstum zurückzuführen war. Diese Vermutung wird auch dadurch bestätigt, dass die Messung der Erregermenge mit der Auswertung der Symptome korreliert.

2008 wurde der Einfluss der Behandlungen mit BlossomProtect oder Cueva auf die Abundanz des Feuerbranderregers untersucht. Am 14.5. konnten in keiner Behandlung Erreger auf den Blüten nachgewiesen werden. Am 15.5. waren in jeweils einer Kontrollparzelle und mit BlossomProtect behandelten Parzelle Erreger zu finden (Abbildung 14). Auch am 16. 5. (2. Behandlung) waren nur einzelne Proben positiv, so dass sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen ergaben. Am 19.5. wurde in der BlossomProtect Variante signifikant weniger Erreger gefunden, als in unbehandelten Blüten. Cueva und der alternierende Einsatz von Cueva mit BlossomProtect reduzierte die Erregermenge nur tendenziell. Am 23. und 26. 5. wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt (Abbildung 14).

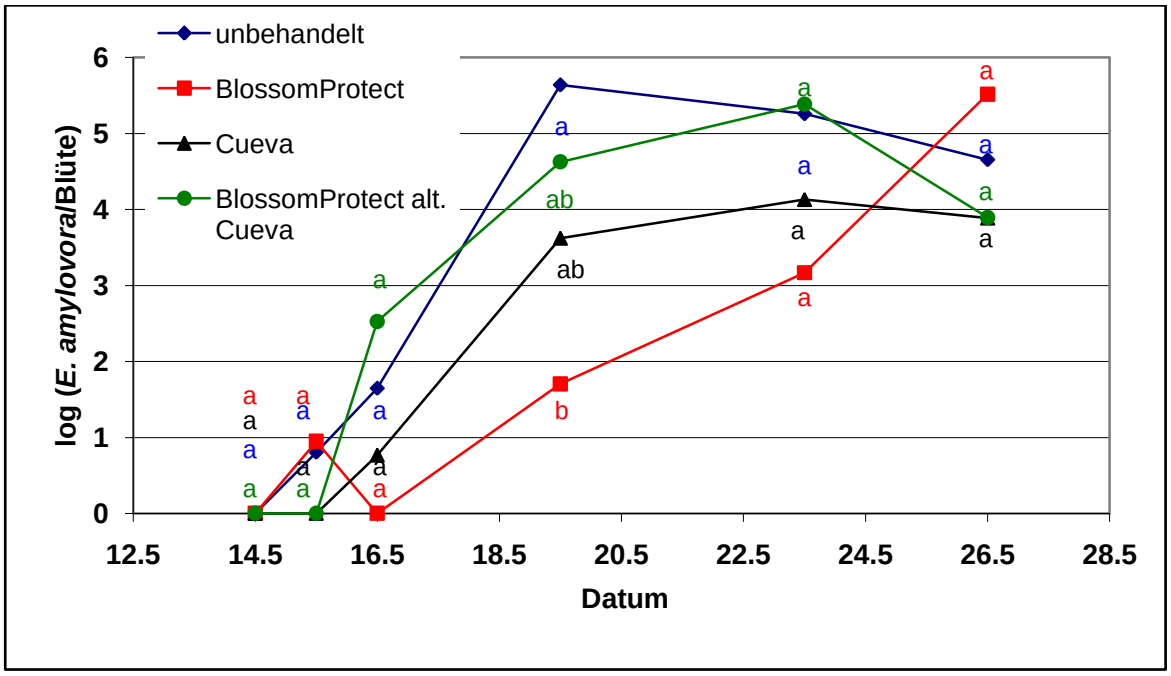

Abbildung 14: Die Abundanz von *E. amylovora* auf den Blüten im Freilandversuch Karsee 2008 wurde mit der Real-time PCR bestimmt. Aus je vier Parzellen der Varianten unbehandelt, BlossomProtect, Cueva und BlossomProtect alternierend mit Cueva wurden bei jeder Probenahme jeweils 10 symptomlose Blüten entnommen. Angegeben sind die Mittelwerte. Unterschiedliche Buchstaben an einem Tag, zeigen signifikante Unterschiede in Tukey`s Multiple Comparison Test ($p \leq 0{,}05$).

Im Gegensatz zu den Laborversuchen, in denen BlossomProtect die Vermehrung des Erregers auf den Blüten nicht verhindern konnte, gab es in der Versuchsanlage in Karsee 2008 eine deutliche Verzögerung des Erregerwachstums in den mit BlossomProtect behandelten Blüten. Allerdings war zum Ende der Blüte, die Erregerabundanz auf behandelten und unbehandelten Blüten wieder gleich, so dass diese Verzögerung in der epiphytischen Erregervermehrung die gute Wirksamkeit

von BlossomProtect nur unzureichend erklärt. Auch die Freilanddaten deuten also auf einen anderen Wirkmechanismus hin.

E. amylovora dringt über die Nektarthoden in die Blüte ein (Wilson *et al.*, 1990), die der Erreger durch Chemotaxis auf organische Säuren und Aspartat findet (Raymundo und Ries, 1980). Diese Chemotaxis verläuft optimal bei pH-Werten zwischen 6 und 8 und wird bei pH-Werten unter 4 und über 10 komplett inhibiert. Zwischen 4 und 6 verläuft die Reaktion verlangsamt (Raymundo und Ries, 1980). Der pH-Wert von Apfelnektar liegt zwischen 5,8 und 6,4 (Beutler, 1930) und entspricht damit dem von Pusey (Pusey, 2006) auf den Narben gemessenen pH-Wert. Wenn es nun durch Applikation von Myco-Sin oder BlossomPortect gelingt den pH-Wert im Nektar unter 5 zu drücken, wäre die Chemotaxis von *E. amylovora* gestört und dadurch die Infektion verhindert. Die in BlossomProtect enthaltenen *A. pullulans* verträgt hohe Zuckerkonzentrationen und ist in der Lage sich auch im Nektar der Apfelblüten zu vermehren (Sickinger, 2008). Wenn Sie dabei wie in Schüttelkultur gezeigt, die Umgebung ansäuert, sorgt sie dauerhaft für einen niedrigen pH-Wert und eine gestörte Chemotaxis des Erregers. Selbst wenn es nicht gelingt die Vermehrung auf den Narben nachhaltig zu unterbinden, wird so eine Infektion verhindert.

4.2 Kombination verschiedener Wirkungsmechanismen

4.2.1 Mischung von Präparaten

Keines der getesteten Präparate reduzierte den Feuerbrandbefall im Freiland vollständig. Deshalb ist es sinnvoll für eine Wirkungssteigerung verschiedene Wirkmechanismen zu kombinieren. Die direkte Mischung von zwei Präparaten mit unterschiedlichem Wirkmechanismus in Tankmischung wäre eine Möglichkeit. Die wirksamen Präparate wurden auf mögliche Mischpartner hin analysiert. Dabei wurden die Wirkungsmechanismen und der pH-Wert der Spritzbrühe berücksichtigt. Bei Präparaten, die lebende Mikroorganismen enthalten, wurde auch die Auswirkung des potenziellen Mischungspartners auf diese Mikroorganismen im Schüttelkolben untersucht (Durchführung wie unter 3.2.1). Der in BlossomProtect enthaltene *Aureobasidium pullulans* wird von Serenade, Myco-Sin, FolanxCa29 gehemmt. Die in Serenade oder BaciM enthaltenen *Bacillus amyleloquefaciens* werden von allen sauren Präparaten (pH-Wert<6) und von Kupferpräparaten gehemmt.

Die sich aus dieser Analyse ergebenden sinnvollen Möglichkeiten zur Mischung von Präparaten wurden im *in vivo* Testsystem an abgeschnittenen Blüten auf Ihre Wirksamkeit überprüft (Tabelle 12). BlossomProtect wurde entgegen der Aussage der Herstellerfirma nicht durch die Zugabe von Netzschwefel Stulln beeinträchtigt. Mischungen von BlossomProtect mit Kupfer ergaben jeweils die Wirkung des wirksamsten Mischungspartners, so dass zwar keine Beeinträchtigung der Wirkung aber auch keine Steigerung der Wirkung gefunden wurde. Die Mischungen von Myco-Sin mit Kupferpräparaten führte in beiden Fällen zu einer Reduktion der Wirkung. Die Zugabe von NuFilm P zu Serenade Max hatte keine Wirkungssteigerung zur Folge, während die Zugabe eines Emul-

gators die Wirkung von Fungend deutlich erhöhte. Allerdings wirkte die letztgenannte Mischung im Freilandversuch nicht ausreichend.

Tabelle 12: Wirksamkeit von Mischungen im Blütentestsystem im Vergleich zu den Einzelpräparaten. Gezeigt werden Mittelwerte der Wirkung, Standardabweichung und Anzahl der Wiederholungen (N).

Präparat	Konz. %	Wirkung (%)	Standardabweichung	N
BlossomProtect	1,2	**77**	**15**	**28**
BlossomProtect+Netzschwefel Stulln	1,2+0,25	**81**	**3**	**3**
Netzschwefel Stulln	0,25	**3**	**18**	**3**
BlossomProtect+Fuguran	1,2+0,03	**75**	**9**	**3**
BlossomProtect + Kupferprotein06	1,2+1,0	**92**	**2**	**3**
Kupferprotein06	1,0	**92**	**3**	**3**
Funguran	0,03	**47**	**15**	**4**
Myco-Sin + Funguran	1,0+0,03	**46**	**10**	**3**
Myco-Sin	1,0	**68**	**23**	**12**
Myco-Sin + Kupferprotein06	1,0 +1,0	**53**	**20**	**4**
Serenade Max	0,5	**79**	**11**	**3**
Serenade Max+Nu-Film P	0,5+0,03	**83**	**7**	**3**
Fungend	0,025	**-6**	**15**	**6**
Fungend+Emulgator	0,025+0,01	**75**	**17**	**3**

Theoretisch möglich aber noch nicht geprüft sind Mischungen aus Kupfer mit FolanxCa29 oder Temauxin A. Beim Einsatz von Kupferpräparaten in Kombination mit sauren Präparaten muss allerdings mit einer hohen Kupfermobilisierung gerechnet werden. Dies könnte die Wirksamkeit verbessern aber auch die phytotoxischen Nebenwirkungen erhöhen.

Die Mischung von Temauxin A mit den anderen Präparaten (Tabelle 13) wurde auch noch nicht geprüft, da der Einsatzzeitpunkt des Resistenzinduktors Temauxin A wahrscheinlich vor dem Einsatzzeitpunkt der anderen Präparate liegen wird.

Tabelle 13: Möglichkeiten zur Mischung von Feuerbrandpräparaten: Mögliche Kombinationen sind mit + gekennzeichnet. pH zeigt Kombinationen, die aufgrund des pH-Werts mindestens eines Partners keinen Sinn machen. Experimentell bestätigte Unverträglichkeit ist mit – gekennzeichnet.

	Kupfer	Myco-Sin	Serenade	BlossomProtect	FolanxCa 29
Myco-Sin	-		pH	-	+
Serenade	Tox	pH		-	pH
BlossomProtect	+	-	-		-
FolanxCa29	+	+	pH	-	
Temauxin A	+	+	pH	+	+

Abgesehen von der eventuellen Mischbarkeit von BlossomProtect mit Netzschwefel, haben sich durch die Analyse der Mischbarkeit keine praxisrelevanten Feuerbrandbekämpfungsansätze ergeben. Vielversprechender war deshalb der alternierende Einsatz von verschiedenen Präparaten in Anwendungsstrategien.

4.3 Einfluss von Behandlungen auf die Fruchtberostung

Tabelle 14: Berostungsindex nach Behandlungen mit BlossomProtect oder Funguran, jeweils mit oder ohne Zusatzstoffe. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede im Tukey`s Multiple Comparison Test ($p \leq 0.05$) innerhalb eines Versuches.

Standort und Jahr	Stetten 05	Lindau 05	Stetten 06	Lindau 06	Lindau 07
Sorte	Jonagored	Golden Delicious	Pinova	Golden Delicious	Jonagold
Anzahl der Behandlungen	2	3	3	3	4
Bonitur	31.8.	31.8.	31.8.	8.9.	3.8.
Unbehandelt	1,48 (ab)	1,18 (a)	1,43 (a)	1,54 (a)	1,18 (a)
BlossomProtect (1,2%)	1,51 (ab)	1,16 (a)	1,53 (a)	1,67 (a)	1,64 (c)
BlossomProtect (1,2%)+ Cutisan (1,5%)	1,34 (a)		1,54 (a)	1,66 (a)	1,40 (b)
BlossomProtect (1,2%) und AlgoVital Plus (0,4%)	1,39 (ab)		1,47 (a)	1,75 (a)	
Funguran (0,03%)	1,60 (b)		1,58 (a)	1,81 (a)	1,38 (b)
Funguran (0,03%)+Cutisan (1,5%)	1,48 (ab)		1,49 (a)	1,68 (a)	1,32 (ab)

Aus den Ergebnissen aus den Freilandversuchen zur Feuerbrandbekämpfung war ersichtlich, dass BlossomProtect oder Kupferpräparate zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau eingesetzt werden können. Beides stand jedoch unter dem Verdacht Fruchtberostung auszulösen. Deshalb wurden ab 2005 auch Freilandversuche in Praxisanlagen durchgeführt, um den Einfluss von BlossomProtect oder Kupfer auf die Fruchtberostung zu überprüfen.

In 2005 wurden am Standort Stetten an der Sorte Jonagored jeweils zwei Behandlungen nach Warnaufruf durchgeführt. In den unbehandelten Parzellen wurde ein Berostungsindex von 1,48 festgestellt. Weder durch BlossomProtect noch durch Funguran wurde die Berostung im Vergleich zur unbehandelten Variante signifikant erhöht. Der Zusatz des Tonerdepräparates Cutisan bzw. dem Algenextrakt Algovital zu BlossomProtect oder Funguran reduzierte die Berostung im Vergleich zur alleinigen Anwendung von BlossomProtect oder Funguran tendenziell. Die Kombination aus BlossomProtect und Cutisan führte zu einer signifikant geringeren Berostung als Funguran.

Am Standort Lindau waren an der berostungsempfindlichen Sorte Golden Delicious in der Kontrolle mit einem Berostungsindex von 1,18 nur eine sehr geringe Berostung zu verzeichnen. Trotz dreimaliger Behandlung mit BlossomProtect trat keine Mehrberostung auf.

Auch in 2006 war in Freilandversuchen in Lindau an der Sorte Golden Delicious oder in Stetten an der Sorte Pinova nach jeweils drei Behandlungen keine signifikante Erhöhung der Fruchtberostung durch BlossomProtect oder Funguran festzustellen (Tabelle 14). Wiederum verringerte der Zusatz von Cutisan zu BlossomProtect oder Funguran die Berostung tendenziell.

In 2007 führten 4 Behandlungen mit 0,03% Funguran an der Sorte Jonagold zu einer signifikanten Mehrberostung der Früchte. 1,2% BlossomProtect führte an Jonagold zu einer stärkeren Berostung als 0,03% Funguran. Der Zusatz von Cutisan zu BlossomProtect reduzierte die Berostung signifikant. Der Zusatz von Cutisan zu Funguran hatte keinen Effekt (Tabelle 14). BlossomProtect wurde an weiteren Sorten mit einer unbehandelten Kontrolle verglichen. 1,2% BlossomProtect führte bei Braeburn (4 Behandlungen) und Williams (3 Behandlungen) nicht zu einer signifikanten Mehrberostung, aber bei Santana (3 Behandlungen) und Goldrush (3 Behandlungen). Bei Sansa war die Mehrberostung 2007 nach 2 Behandlungen tendenziell und 2008 nach 3 Behandlungen signifikant sichtbar (Abbildung 15).

In 2008 wurden Berostungsversuche an den Standorten Lindau und Insel Mainau durchgeführt. In Lindau wurden vier Versuche angelegt, die aber alle wegen Hagels nicht ausgewertet werden konnten.

Auf der Insel Mainau wurde zusätzlich zum Versuch an Sansa (dreimalig behandelt; Abbildung 15), an der Sorte Santana der Einfluss der Behandlungshäufigkeit mit BlossomProtect und des Behandlungszeitpunktes auf die Mehrberostung untersucht. Versuchsglied BP1 wurde nur am 1. Termin behandelt, Vgl. BP1+2 wurde am 1. und am 2. Termin behandelt, und so weiter. Insgesamt gab es 4 Behandlungstermine und incl. Kontrolle 8 Versuchsglieder (Abbildung 16).

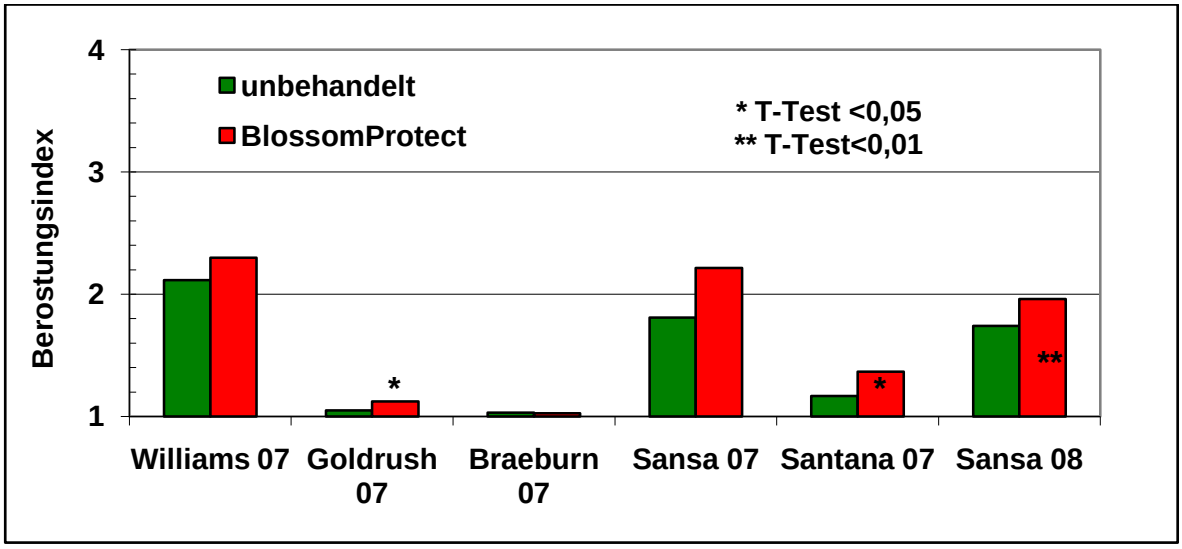

Abbildung 15: Berostungsindex an verschiedenen Sorten an unbehandelten Früchten oder nach Behandlung mit 1,2% BlossomProtect in den Jahren 2007 oder 2008.

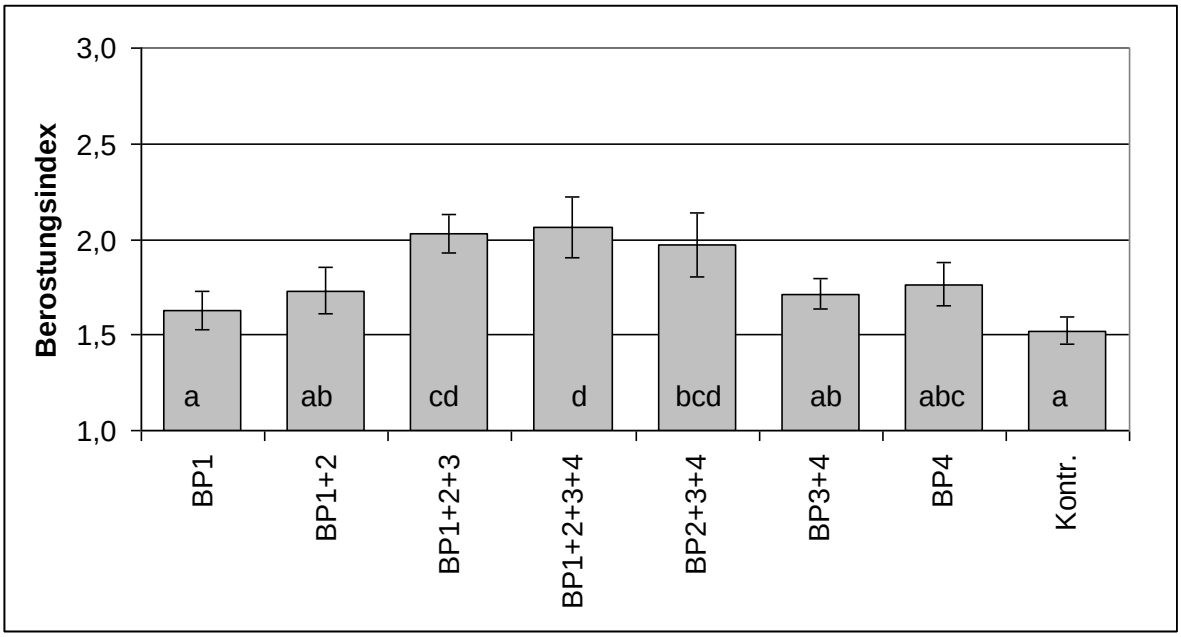

Abbildung 16: Berostungsindex an der Sorte Santana nach 1 bis 4 Behandlung mit 1,2% BlossomProtect zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Blüte. Angegeben ist der Mittelwert und Standardabweichung aus 4 Wiederholungen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied nach einfaktorieller Varianzanalyse im Tukey`s Multiple Comparison Test (p<0,05).

In den Versuchsgliedern wurden zwischen 300 und 700 Früchten ausgewertet. In der unbehandelten Variante wurde ein durchschnittlicher Berostungsindex von 1,52 ermittelt. Eine oder zwei

Behandlungen mit BlossomProtect führten nicht zu einer signifikanten Mehrberostung der Früchte, egal ob zu Beginn der Blüte (Vgl. BP1+2) oder am Ende der Blüte (Vgl. BP 3+4) behandelt wurde. Drei oder vier Behandlungen führten in jedem Fall zu einer signifikanten Mehrberostung der Früchte (Abbildung 16).

4.4 Entwicklung und Prüfung von Anwendungsstrategien

BlossomProtect war in den Freilandversuchen das wirksamste Präparat (Tabelle 5:). Nach Empfehlung soll es möglichst so eingesetzt werden, dass jede Blüte kurz nach dem Öffnen mit den enthaltenen Blastosporen von *A. pullulans* belegt wird. Dies kann mit vier Behandlungen in die Blüte meist gewährleistet werden. Auch bei einer Anwendung nach Prognosemodell können vier bis fünf Applikationen notwendig werden. In den Versuchen wurde BlossomProtect daher zwischen drei bis fünfmal eingesetzt.

Dieser häufige Einsatz führt in der Praxis aber zu Problemen.

1. Häufige Behandlungen mit BlossomProtect können zu einer Mehrberostung der Früchte führen.
2. Die Behandlungen mit BlossomProtect müssen mit anderen Pflanzenschutzmaßnahmen vor allem mit der Schorfbekämpfung abgestimmt werden. In BlossomProtect ist *A. pullulans* enthalten, welcher sensitiv gegenüber vielen Schorffungiziden wie Netzschwefel oder Schwefelkalk ist.

Deshalb war die alleinige Verwendung von BlossomProtect zur Feuerbrandbekämpfung für die Praxis nicht uneingeschränkt zu empfehlen. Anwendungsstrategien sollten entwickelt werden, die bei gleicher Wirkung eine gleichzeitige Schorfbekämpfung ermöglichen und das Berostungsrisiko minimieren.

Die Versuche zur Auswirkung auf die Fruchtberostung zeigten, dass der Zusatz von Cutisan das Berostungsrisiko sowohl bei Einsatz von BlossomProtect als auch bei Kupfer reduziert. In zwei Freilandversuchen in Karsee wurde deshalb die Auswirkung des Zusatzes von 1,5% Cutisan zu BlossomProtect getestet. In beiden Versuchen gab es eine tendenzielle Reduktion der Wirksamkeit. Deshalb wurde in 2008 im Versuch in Darmstadt der Zusatz von 0,3% Cutisan getestet, welcher die Wirkung von BlossomProtect nicht verringerte (Tabelle 15). Der Zusatz von Cutisan zu BlossomProtect in geringer Aufwandmenge kann also zur Reduktion des Berostungsrisikos empfohlen werden. Inwieweit diese geringe Cutisanaufwandmenge die Berostung tatsächlich reduziert muss weiter untersucht werden.

Zur Schorfbekämpfung wird im ökologischen Obstbau während der Blüte hauptsächlich Netzschwefel, Schwefelkalk oder Myco-Sin eingesetzt. Laut Herstellerangaben ist BlossomProtect mit

keinem dieser Präparate mischbar und hat selbst auch keine Schorfwirkung. Die Integration der BlossomProtect Anwendungen in die Schorfbekämpfung war deshalb notwendig.

Die Freilandversuche in diesem Projekt zeigten, dass ein alternierender Einsatz von BlossomProtect und Netzschwefel empfohlen werden kann. Netzschwefel wurde in den Versuchen bis zu 2h vor der BlossomProtect Behandlung eingesetzt, ohne dessen Wirksamkeit gegen Feuerbrand zu reduzieren (Tabelle 15). Der Einsatz von Schwefelkalk war hier tendenziell kritischer, ohne jedoch die Wirkung von BlossomProtect stark zu verringern. Bei Schwefelkalk sollten größere Abstände zur BlossomProtect Behandlung eingehalten werden. Eine gleichzeitige Bekämpfung von Schorf und Feuerbrand ist also möglich. Diese Strategien führen aber unter Umständen zu einem hohen Arbeitsaufwand und zu häufigen Überfahrten.

Tabelle 15: Wirksamkeit (%) von Bekämpfungsstrategien gegen Feuerbrand in den Freilandversuchen: BlossomProtect wurde während der Blüte jeweils drei[3] oder viermal eingesetzt. Die Zahlen in Klammer geben an, wie oft die zur Schorfbekämpfung eingesetzten Präparate (Netzschwefel Stulln, Schwefelkalk, Myco-Sin oder Cueva eingesetzt wurden). „+" steht für gemeinsame, „abw." für alternierende Ausbringung.

Strategie	Konz. %	Karsee 04	Karsee 06	Darmstadt 06	Darmstadt 07	Karsee 07	Darmstadt 08	Karsee 08
BlossomProtect	1,2	85**	86**	85**	82**	89** 83[3]**	56**	80**
BlossomPr. + Cutisan	1,2+1,5		77**			74*		
BlossomPr. + Cutisan	1,2+0,3						65**	
BlossomProtect abw. Netzschwefel Stulln	1,2 0,25		88** (3)	85** (1)		84[3]** (3)		
BlossomProtect + Netzschwefel Stulln	1,2 0,25							77** (4)
BlossomProtect abw. Schwefelkalk	1,2 1,5	68* (4)		87[3]** (1)		77[3]** (3)		
BlossomProtect abw. Netzschwefel Stulln + Myco-Sin	1,2 0,25+1,0					87[3]* (3)		70[3]** (2)
Cueva (100g RK/ha)	0,85							41
Cueva abw. Netzschwefel Stulln + Myco-Sin	0,85 0,25+1,0							77[3]** (2)
BlossomProtect abw. Cueva	1,2 0,85							57[3]** (1)
Kupferprotein 06 + BlossomProtect	1,0+1,2				91[a]			

*Der Feuerbrandbefall war in dieser Variante signifikant niedriger als in der Kontrolle (p<0,1), **p<0,05). [a] Tastversuch mit 2 Wiederholungen;

Der Einsatz von BlossomProtect in Tankmischung mit Netzschwefel würde hier eine deutliche Entlastung bringen. Laborversuche, die gezeigt hatten, dass *A. pullulans* nur eingeschränkt schwefelempfindlich ist (Rühmer, 2007), wurden im Blütentest bestätigt (Tabelle 12). Auch im Freilandversuch in Karsee 2008 war die Mischung aus Netzschwefel und BlossomProtect genauso wirksam gegen Feuerbrand wie BlossomProtect alleine (Tabelle 15). Die Wirksamkeit der Mischung muss aber in weiteren Versuchen bestätigt werden.

Eine Reduktion der Überfahrten kann auch mit der Zugabe von Myco-Sin zu den Schorfbehandlungen mit Netzschwefel erreicht werden, da Myco-Sin auch eine Wirkung gegen Feuerbrand hat und so ein bis zwei BlossomProtect Applikationen entfallen können. Diese Strategie bestätigte in bisher zwei Versuchen ihre gute Feuerbrandwirksamkeit.

Der Einsatz von BlossomProtect gegen Feuerbrand und dazwischen der Einsatz von Cueva (100g/ha) zur Schorfbekämpfung war im Freilandversuch in Karsee 08 nicht wirksam gegen Feuerbrand, da an einem der Schorfapplikationstermine auch hohe Feuerbrandgefahr war (Abbildung 4) und die Feuerbrandwirkung dieser niedrigen Kupferkonzentration zu gering war, um BlossomProtect Applikationen zu ersetzen.

Der Einsatz von Cueva gegen Feuerbrand und dazwischen Einsatz von Myco-Sin und Netzschwefel zur Schorfbekämpfung war im Versuch in Karsee 08 wirksam, da auf den kritischen Feuerbrandtermin die Behandlung mit Myco-Sin/Netzschwefel fiel und nicht auf Cueva. Diese Strategie muss aber noch unter anderen Witterungsbedingungen getestet werden, bevor sie allgemein empfohlen werden kann. Vor allem muss die Auswirkung von Cueva auf die Fruchtberostung noch untersucht werden.

Eine weitere Strategie könnte die Mischung von BlossomProtect mit Kupfer sein. In einem Tastversuch in Darmstadt 07 hatte die Mischung von BlossomProtect mit Kupferprotein06 eine hervorragende Feuerbrandwirkung und von den vier Applikationen würde man auch eine gute Schorfwirkung erwarten. Allerdings wurde eine Kupferaufwandmenge von 190 g/ha eingesetzt, was ein sehr großes Berostungsrisiko darstellt. Eventuell könnte eine solche Strategie in Neupflanzungen gefahren werden.

4.5 Voraussichtlicher Nutzen und Verwendbarkeit der Ergebnisse

4.5.1 Möglichkeiten der Umsetzung der Ergebnisse

Die in diesem Projekt als wirksam getesteten Präparate BlossomProtect und Myco-Sin sind als Pflanzenstärkungsmittel in Deutschland gelistet. Die Strategie BlossomProtect bei Feuerbandgefahr (ca. einen Tag vor Eintreten der Infektionsbedingungen) einzusetzen und alternierend dazu eine Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel zur Schorfbekämpfung mit Nebenwirkung gegen Feuerbrand einzusetzen kann also in der Praxis angewendet werden und wurde in 2008 auch schon auf einigen Betrieben mit Erfolg umgesetzt.

Eine individuelle Anpassung der Strategie an die entsprechende Empfindlichkeit der Sorte gegenüber Schorf und/oder Feuerbrand ist in Abhängigkeit von der Berostungsempfindlichkeit zu berücksichtigen. Bei einer schorf- und berostungsanfälligen Sorte werden daher die Mycosin/Schwefelbehandlungen eher dominieren; Wohingegen bei hoher Feuerbrandempfindlichkeit einer Sorte auf einen konsequenten BlossomProtect Einsatz nicht verzichtet werden sollte.

4.5.2 Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus

Der Feuerbrand gefährdet Obstanlagen. Bei starkem Befall müssen Anlagen gerodet werden. Die Angst vor dem Verlust ganzer Anlagen und die Unsicherheit bei den bekannten Bekämpfungsmaßnahmen hatten vor Projektstart viele Betriebe von der Umstellung von Integrierter Produktion auf ökologische Wirtschaftsweise abgehalten. Vor allem, da in der Integrierten Produktion immer noch das vermeintlich sichere Streptomycin zur Feuerbrandbekämpfung zugelassen war. Die Versuchsergebnisse in diesem Projekt zeigen nun, dass mit ökologischen Bekämpfungsstrategien vergleichbare Ergebnisse wie mit Streptomycin erreicht werden können, wenn auch mit etwas höherem Aufwand. Dieser höhere Aufwand wird aber durch höhere Preise abgegolten. Sollte Streptomycin für die Integrierte Produktion wegfallen, werden viele Integrierte Betriebe auf die hier entwickelten Feuerbrandbekämpfungsstrategien zurückgreifen, da keine anderen Alternativen zur Verfügung stehen. Die Angst vor Feuerbrand ist dann kein Argument mehr nicht auf ökologischen Anbau umzustellen.

Die entwickelten Bekämpfungsstrategien während der Blüte werden den Feuerbranderreger nicht ausrotten, aber die Ergebnisse und Erfahrungen aus dem Projekt tragen dazu bei, dass man mit dem Erreger umgehen lernt, ohne ganze Anlagen zu verlieren. In keinem Anbausystem darf man sich bei der Feuerbrandbekämpfung nur auf Bekämpfungsmaßnahmen während der Blüte verlassen. Es sind wie bei anderen Pflanzenkrankheiten auch alle möglichen phytosanitären Maßnahmen durchzuführen, um den Erregerdruck niedrig zu halten.

4.5.3 Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Nach Auswerten der Freilandversuche in Karsee und Groß-Umstadt wurde 2004 an beiden Versuchsstandorten eine Versuchsbesichtigung für interessierte Versuchsansteller und Obstbauberater durchgeführt. Die Ergebnisse wurden als Poster bei der Deutschen Pflanzenschutztagung in Hamburg (Kunz *et al.*, 2004) präsentiert und in einem Artikel in der Zeitschrift Ökoobstbau (Kunz *et al.*, 2004) veröffentlicht. Zusätzlich wurden die Ergebnisse bei Vorträgen auf dem Feuerbrandmeeting Bodensee am 16.11.04 in Schlachters, auf der Vortragsveranstaltung des BÖL 23.11.-24.11. 2004 in Bonn und auf der ökologischen Obstbautagung am 11.2.05 in Weinsberg vorgestellt.

Die Versuchsergebnisse aus den Jahren 2005 und 2006 wurden jeweils in der Zeitschrift Ökoobstbau veröffentlicht (Haug und Kunz, 2005; Kunz *et al.*, 2006). Beim „1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases“ vom 23.-26- Oktober 2006 in Seeheim-Jugenheim (Kunz, 2006) und beim “12th International Conference on cultivation technique and

phytopathological problems in organic fruit-growing" (Kunz und Haug, 2006) wurden die Ergebnisse vorgetragen und jeweils im Tagungsband veröffentlicht.

2006 fand am 23.06. wiederum eine Versuchsfeldbesichtigung in Karsee statt, bei der die Ergebnisse aus Darmstadt 06 und Karsee 06 vorgestellt wurden. Auch bei der Praktikertagung in Weinsberg 24.2.-26.2.06, beim Tag der offenen Tür der Universität Konstanz am 8.7.06 und bei der Feuerbrand-Herbsttagung in Rothhoz, Nordtirol vom 16.-17.11 06 wurden die Ergebnisse präsentiert.

Die Ergebnisse der Freilandversuche Karsee 07 und Darmstadt 07 wurden interessierten Obstbauberatern, Versuchsanstellern und Obstbauern bei einer Versuchsfeldbesichtigung in Karsee am 13.06.07 präsentiert. An der Veranstaltung nahmen mehr als 20 Personen teil.

Am 13. Juni fand auf dem Betrieb Blank GbR in Fildenmoos bei Ravensburg ein überregionales Gruppentreffen des Beratungsdienstes Ökologischer Obstbau zum Thema Feuerbrand statt. Frau Dr. Moltmann vom Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg (LTZ) Stuttgart berichtete über die Feuerbrandsaison und die Biologie der Krankheit. Auch die eigenen aktuellen Versuchsergebnisse aus dem BÖL geförderten Forschungsprojekt zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau wurden dort vorgestellt. In der Anlage des Betriebes Blank wurde das praktische Vorgehen bei Feuerbrandbefall besprochen. Frau Dr. Moltmann und Dr. Kunz standen den Teilnehmern für eine Diskussion und die Beantwortung ihrer Fragen zur Verfügung (Künzel *et al.*, 2007).

Die Ergebnisse aus 2007 und die Zusammenfassung aller bisherigen Ergebnisse wurden bei einer Expertenrunde in Einsiedeln am 16.11.07 vorgestellt, an dem Vertreter aus Deutschland, Österreich, Schweiz, Italien und Lichtenstein die aktuelle Feuerbrandsituation und die Bekämpfungsstrategien diskutierten.

Beim Fachgespräch zur Feuerbrandbekämpfung am 11. und 12. Dezember 07 in Dossenheim hat Philipp Haug den versammelten Fachleuten die im Projekt erarbeiteten Daten und die daraus abgeleiteten Strategien zur Feuerbrandbekämpfung vorgestellt.

Am 12.12.07 wurde die Vorgehensweise im Projekt und die Ergebnisse auf dem Koordinationstreffen des Vorhabenverbundes „Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika" präsentiert.

Auf der Ecofruit Tagung vom 18.-20.2.08 in Weinsberg wurden die bisherigen Ergebnisse dieses Projektes präsentiert. Für den Tagungsband wurde eine sechsseitige Zusammenfassung der Ergebnisse erstellt (Kunz *et al.*, 2008).

Bei der Wintertagung „Ökologischer Landbau Baden-Württemberg" am 9.4.2008 in Hohenheim wurden die bisherigen Ergebnisse dieses Projektes präsentiert.

Die Ergebnisse des Freilandversuchs in Darmstadt 2008 wurden interessierten Obstbauberatern, Versuchsanstellern und Obstbauern bei einer Versuchsfeldbesichtigung in Kirschgartshausen am 5.06.08 berichtet. Bei dieser Versuchsfeldbesichtigung wurde vom Inst. für Obstbau des JKI der dortige Feuerbrandversuch präsentiert.

Die Ergebnisse der Freilandversuche Karsee und Darmstadt 2008 wurden interessierten Obstbauberatern, Versuchsanstellern und Obstbauern bei einer Versuchsfeldbesichtigung in Karsee am 16.06.08 präsentiert. An der gemeinsam mit dem KOB–Bavendorf veranstalteten Versuchsbesichtigung, auf der Dr. Scheer den Feuerbrandbekämpfungsversuch in Siggenhaus vorstellte, nahmen ca. 50 Personen aus Deutschland, Österreich und der Schweiz teil.

Am 24. Juni 2008 fand am KOB Bavendorf ein Gruppentreffen des Beratungsdienstes Ökologischer Obstbau zum Thema Feuerbrand und Apfelschorf statt. Der Ökoobstbauberater Sascha Buchleither und die Projektverantwortlichen diskutierten die aktuellen Versuchsergebnisse aus dem BÖL geförderten Forschungsprojekt und die Praxiserfahrung der Ökobetriebe mit den im Projekt erarbeiteten Anwendungsstrategien.

Eine Zusammenfassung der Projektergebnisse wurde jeweils am 13.11. 08 beim Feuerbrand-Fünf-Länder Treffen in Vaduz, am 4.12.08 bei der Koordinationssitzung des BLE Projektes „Feuerbrandbekämpfung ohne Antibiotika“ und bei den Gleisdorfer Ökoobstbautage am 17.12.08 präsentiert.

Eine Präsentation mit der Zusammenfassung der Versuchsergebnisse wurde Ökoobstbauberater Sascha Buchleither zur Verfügung gestellt, der diese im Januar 2009 auf dem Ökomensichen Obstbautag in Ingolstadt und beim einer Veranstaltung des FiBl in Frick, CH, präsentiert hat. Die Zusammenstellung der Ergebnisse der Freilandversuche wird in der Märzausgabe des Obstbau 2009 erscheinen.

5 Zusammenfassung

Der Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* kann an Apfel und Birne große wirtschaftliche Schäden verursachen. Im Extremfall müssen Bäume oder ganze Obstanlagen gerodet werden. Wichtiges Element der Feuerbrandbekämpfung sind sanitäre Maßnahmen (Rückschnitt und Rodung befallener Pflanzen), um das Erregerpotenzial niedrig zu halten. Trotzdem kann es während der Blüte zu einer starken Vermehrung und Ausbreitung des Erregers und damit zu flächendeckendem Befall kommen. Um solche Epidemien zu verhindern, benötigt der ökologische Obstbau Präparate oder Strategien, die Blüteninfektionen eindämmen. Seit 2004 wurden 44 Präparate *in vitro* auf bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung und auf abgeschnittenen Blüten auf ihre Fähigkeit hin untersucht, Feuerbrandsymptome zu verhindern. Dabei zeigte sich, dass im Blütensystem nur Präparate die Symptombildung verhindern, die auch eine bakteriostatische Wirkung haben. Allerdings wirken nicht alle bakteriziden Präparate auch auf Blüte.

Die von den Herstellern als Resistenzinduktor bezeichneten Präparate wurden in insgesamt 6 Versuchen in vier Jahren auf resistenzinduzierende Wirkung getestet. Mit keinem der Präparate konnte eine eindeutige Resistenzinduktion in den Blüten nachgewiesen werden.

In den Freilandversuchen nach EPPO-Richtlinie PP1/166 (3) bestätigten sich die im Labor an Blüten gefundenen Ergebnisse. BlossomProtect war in allen unseren Freilandversuchen das wirksamste Präparat (78%). Vergleichbar waren die Versuchspräparat BPASc4 und BPGP07, welche dieselben Mikroorganismen enthalten wie BlossomProtect, deren Formulierung aber nicht stabil war. Die gute Wirkung von BlossomProtect wurde auch von anderen Versuchs-anstellern bestätigt (Kunz und Haug, 2006). Das Gesteinsmehlpräparat Myco-Sin war mit durchschnittlich 65% Befallsreduktion wirksamer als von anderen Versuchsanstellern beschrieben (Durchschnitt 38% (Kunz und Haug, 2006)).

Kupferpräparate sind bekannt bakterizid. Allerdings birgt die Applikation von Kupfer in die Blüte die Gefahr der Fruchtberostung. Im Freilandversuch 2004 konnte mit dem Kupferdünger Protex-Cu, mit einer reduzierten Kupfermenge von 90g Cu/ha eine Befallsreduktion von 49% erzielt werden. Dosis-Wirkungskurven verschiedener Kupferpräparate gegen *E. amylovora* im Schüttelkolben zeigten, dass die für eine Wachstumsinhibition minimal benötigte Kupfermenge bei den Präparaten unterschiedlich ist. Allerdings konnten diese Unterschiede im Blütensystem nicht bestätigt werden. In Freilandversuchen wurden zwischen 90 und 200 g Reinkupfer/ha eingesetzt. Für eine ausreichende Wirkung wurden 200 g Reinkupfer/ha benötigt.

Nachdem im Jahr 2004 im Rahmen des „Pilotprojekts Hefen“ an mehreren Standorten eine Mehrberostung der Früchte durch den Einsatz von BlossomProtect berichtet wurde, haben wir im Jahr 2005 zwei Freilandversuche zur Berostung durchgeführt. Weder 1,2% BlossomProtect noch 0,03% Funguran (135 g RK/ha) führten zu einer signifikanten Mehrberostung. Allerdings konnte die Zugabe von Cutisan zu BlossomProtect oder Funguran den Berostungsindex tendenziell unter den Wert der unbehandelten Kontrolle senken. Auch auf den im Rahmen des Pilotprojektes Hefen behandelten Ökoflächen wurde keine Mehrberostung durch BlossomProtect beobachtet (Haug und Kunz, 2005). Ausnahmen sind hier Versuchsergebnisse aus IP-Anlagen aus Südtirol und vom Augustenberg. An beiden Standorten führte die BlossomProtect Behandlung zu einer deutlichen Mehrberostung. Für eine Klärung der Sachlage und der Gründe wurden in den Folgejahren weitere Versuche gemacht. Auch die berostungsmindernde Wirkung von Cutisan wurde weiter untersucht. Es zeigte sich, dass die Mehrberostung durch BlossomProtect von der Sorte und von der Anzahl der Behandlungen abhängt. Auf berostungsempfindlichen Sorten sollte die Anzahl der Behandlungen auf zwei reduziert werden.

Die Wirksamkeit von BlossomProtect ist von der Vermehrungsfähigkeit der darin enthaltenen Hefen abhängig. Im ökologischen Obstbau werden während der Blüte zur Schorfbekämpfung Netzschwefel und Schwefelkalk eingesetzt. Diese hemmen *in vitro* auch die in BlossomProtect enthaltenen Hefen. Deshalb wurde der alternierende Einsatz von Hefepräparaten und Schwefel-

präparaten in Freilandversuchen getestet. In Freilandversuchen zeigte sich, dass der Einsatz von Schwefel oder Schwefelkalk am Tag vor oder nach der BlossomProtect Applikation keinen Einfluss auf die Wirksamkeit von BlossomProtect hat. Auf berostungsempfindlichen Sorten sollte der Einsatz von BlossomProtect trotzdem auf zwei Behandlungen pro Jahr reduziert werden. Wenn aufgrund der Witterung mehr als zwei Behandlungen zur Feuerbrandbekämpfung notwendig sind, sollte BlossomProtect alternierend mit Myco-Sin eingesetzt werden. Dieses hat in Kombination mit Netzschwefel auch eine Schorfwirkung, so dass mit dieser Strategie auch die Gesamtzahl der Applikationen reduziert werden kann.

Die Wirksamkeit dieser Strategie des alternierenden Einsatzes von BlossomProtect und der Mischung von Myco-Sin und Netzschwefel gegen Feuerbrand war in den Freilandversuchen 2007 und 2008 vergleichbar mit der Wirksamkeit des alleinigen Einsatzes von BlossomProtect. Auch der alternierende Einsatz von Kupfer und Myco-Sin war in 2008 wirksam. Diese Strategien sollten also noch in weiteren Versuchen unter unterschiedlichen Witterungsbedingungen auf ihre Praxistauglichkeit geprüft werden

6 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und den tatsächlich erreichten Zielen

Das Ziel war durch Kombination von unterschiedlichen Wirkmechanismen eine praxistaugliche Feuerbrandbekämpfungsstrategie zu entwickeln. Dazu wurden 44 Präparate getestet und von den wirksamen Präparaten auch der Wirkmechanismus untersucht. Freilandversuche zeigten dann, dass BlossomProtect das wirksamste Präparat ist, gefolgt von Kupfer (bei 190 g Kupfer/ha) und Myco-Sin. Da der viermalige Einsatz von BlossomProtect das Berostungsrisiko erhöht und zusätzliche Schorfbehandlungen notwendig sind, ergab sich die Strategie, BlossomProtect bei Feuerbrandgefahr möglichst am Tag bevor Infektionsbedingungen erfüllt sind, einzusetzen und dazwischen eine Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel zur Schorfbekämpfung anzuwenden. Diese Strategie wurde in zwei Freilandversuchen erfolgreich getestet und auch bereits in der Praxis umgesetztt. Somit wurde das Ziel eine praxistaugliche Feuerbrandbekämpfungsstrategie zu entwickeln erfüllt.

- Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Neben der im Projekt entwickelten Strategie alternierender Einsatz von BlossomProtect und Myco-Sin/Netzschwefel ergaben sich weitere Ansätze für Bekämpfungsstrategien, die die Wirkung weiter verbessern bzw. die Berostungsgefahr mindern können und daher weiter untersucht werden sollten.

- Alternierender Einsatz Kupfer (z.B. Cueva) mit einer Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel

Kupfer ist sowohl gegen Feuerbrand als auch gegen Schorf wirksam, muss aber während der Blüte wegen der Berostungsgefahr mit geringen Aufwandmengen eingesetzt werden. Nach bisherigen Versuchen sind 200 g Cu/ha für eine Feuerbrandwirkung notwendig. Diese Aufwandmenge soll zweimal eingesetzt und durch alternierende Behandlungen mit einer Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel ergänzt werden.

- Tankmischung von BlossomProtect mit Netzschwefel würde auf nicht berostungsempfindlichen Sorten die Anzahl der Überfahrten reduzieren.
- Neue Präparate wie der Calciumdünger FolanxCa29, Cueva, Temauxin A oder BaciM müssen weiter untersucht werden, um mit Ihnen bestehende Strategien zu ergänzen oder neue zu entwickeln.

Alle Strategien sollten sowohl auf Wirksamkeit als auch auf Pflanzenverträglichkeit und Schorfwirkung untersucht werden, um exakte Praxisempfehlungen geben zu können.

7 Danksagung

Vielen Dank für die gute Zusammenarbeit an alle die dieses Forschungsprojekt unterstützt oder aktiv an den Versuchen mitgearbeitet haben. Insbesondere den Familien Stützenberger (Karsee), Blank (Fildenmoos), Haug (Lindau) und Schlachtenberger (Friedrichshafen) sowie der Mainau GmbH (Konstanz), Peter Triloff (MaBo, Friedrichshafen), Monika von Eitzen-Ritter und Karin Bald (JKI Darmstadt), PD. Dr. Ralf Vögele, Malin Hinze, Luise Olbrecht, Sonja Weisshaupt, Maren Sickinger, Isabelle Eisele, Annette Schmid, Otmar Ficht, Heinz Vahlenkamp (LS Phytopathologie, Universität Konstanz) und alle fleißigen Hilfswissenschaftlern.

8 Literatur

Abbott W S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. In *Journal of Economic Entomology*, pp. 265-267.

Basim H, Yegen O und Zeller W. 1998. Potential effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var *spicata* on some plant pathogenic bacteria. In *51. Deutsche Pflanzenschutztagung in Münster*, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, pp. 166.

Baumgart J. 1999. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, pp. 695.

Beutler R. **1930.** Biologisch-chemische Untersuchungen am Nektar von Immenblumen. *Z. Vergleich Physiol*, **12**:72-176.

Bundesministerium für Verbraucherschutz E u L. **2003.** *Strategie zur Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika*, 25.03.2003: www.verbraucherministerium.de/landwirtschaft/feuerbrand-strategiepapier.pdf.

Chen X H, Koumoutsi A, Scholz R, Eisenreich A, Schneider K, Heinemeyer I, Morgenstern B, Voss B, Hess W R, Reva O, Junge H, Voigt B, Jungblut P R, Vater J, Sussmuth R, Liesegang H, Strittmatter A, Gottschalk G und Borriss R. **2007.** Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium Bacillus amyloliquefaciens FZB42. *Nat Biotechnol*, **25**:1007-1014.

Chen X H, Scholz R, Borriss M und H. Junge G M, S. Kunz and R. Borriss. **2008.** Difficidin, bacilysin produced by plant-associated Bacillus amyloliquefaciens are efficient in controlling fire blight disease. *Journal of Biotechnology*:in press.

Fried A. **1997.** Feuerbrand - Bekämpfungsversuche von 1994-1997. *Obstbau*, **22**:598-602.

Fried A. **1999.** Feuerbrand - Bekämpfungsversuche 1998 - Fortsetzung der Prüfung alternativer Mittel zu Plantomycin. *Obstbau*, **24**:71-74.

Fried A. **2001.** Feuerbrandbekämpfungsversuche 2000. *Obstbau*, **26**:116-119.

Fried A. **2001.** Feuerbrandversuche 2001 - Gibt es wirksame Alternativen zu Plantomycin. *Obstbau*, **26**:453-457.

Fried A. **2002.** Feuerbrandbekämpfungsversuch 2002. *Obstbau*, **27**:551-555.

Fried A. **2005.** Feuerbrandbekämpfungsversuche -Mehrberostung durch Hefen. *Obstbau*, **30**:118-122.

Fried A. 2006. Freilandversuche zur Bekämpfung des Feuerbrands (Erwinia amylovora) 2005 und 2006. In *55. Deutsche Pflanzenschutztagung in Göttingen 25.-28. September 2006*, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, pp. 402-403.

Fried A. **2007.** Feuerbrand: Bekämpfungsversuch und Verträglichkeitsprüfung der Feuerbrand-Präparate 2006. *Obstbau*, **32**:204-208.

Fried A. **2008.** Feuerbrand-Bekämpfungsversuch und Verträglichkeitsprüfung von Feuerbrandpräparaten 2007. *Obstbau*, **33**:72-75.

Fried A. **2009.** Feuerbrand-Bekämpfungsversuch 2008. *Obstbau*, **34**:13-17.

Fried A, Lange E, Jelkmann W, Moltmann E und Seibold A. **2004.** Ist eine Alternative zu Plantomycin in Sicht? *Obstbau*, **29**:161-164.

Fried A, Moltmann E und Jelkmann W. 1998. Feuerbrandbekämpfung in Feldversuchen 97/98 - Prüfung einiger alternativer Mittel zu Plantomycin. In *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, pp. 213-214.

Harzer U. **2001.** Prüfung von Alternativen zu Plantomycin. *Obstbau*, **26**:450-452.

Harzer U. **2002.** Feuerbrand-Bekämpfungsversuch 2002. *Obstbau*, **27**:555-557.

Hassan M A E und Buchenauer H. **2007.** Induction of resistance to fire blight in apple by acibenzolar-S-methyl and DL-3-aminobutyric acid. *Journal of Plant Disease and Protection*, **114**:151-158.

Haug P und Kunz S. **2005.** Erfahrungen aus zwei Jahren Feuerbrandbekämpfung mit dem Hefepräparat "Blossom-Protect". *Ökoobstbau*: (4) 13-16.

Haug P und Kunz S. **2005.** Erfahrungen aus zwei Jahren Feuerbrandbekämpfung mit dem Hefepräparat Blossom-Protect. *Ökoobstbau*: (3) 13-16.

Kunz S. 2004. Development of "Blossom-Protect" - a yeast preparation for the reduction of blossom infections by fire blight. In *11th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing and viticulture*, pp. 108-114.

Kunz S. 2006. Fire blight control in organic fruit growing - systematic investigation of the mode of action of potential control agents. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases*, Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt, pp. 249-253.

Kunz S und Haug P. 2006. Development of a strategy for fire blight control in organic fruit growing. In *12th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing*, pp. 145-150.

Kunz S, Schmitt A und Haug P. 2008. Field testing of strategies for fire blight control in organic fruit growing. In *13th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing*, pp. 299-305.

Kunz S, von Eitzen-Ritter M, Schmitt A und Haug P. **2004.** Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau. *Ökoobstbau*: (4) 2-7.

Kunz S, von Eitzen-Ritter M, Schmitt A und Haug P. 2004. Systematische Untersuchung der Wirkmechanismen von Feuerbrandpräparaten für den ökologischen Obstbau. In *54. Deutsche Pflanzenschutztagung*, *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, pp. 495.

Kunz S, von EitzenRitter M, Schmitt A und Haug P. **2006.** Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau - Ergebnisse der Bekämpfungsversuche 2006. *Ökoobstbau*: (4) 3-7.

Künzel H, Thymian F und Buchleither S. **2007.** Feuerbrand hat viele Gesichter. *Ökoobstbau*: (2) 3-7.

Laux P, Wesche J und Zeller W. **2003.** Field experiments on biological control of fire blight by bacterial antagonists. *Zeitschrift Fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **110**:401-407.

Moltmann E, Lange E und Trautmann M. **2002.** Eine neue Methode zur Durchführung von Feuerbrandversuchen. *Obstbau*, **27**:557-560.

Psallidas P G und Tsiantos J. 2000. Chemical Control of Fire Blight. In *Fire blight : the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*, pp. 199-234.

Pusey P L. **1997.** Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology*, **87**:1096-1102.

Pusey P L. **1999.** Effect of nectar on microbial antagonists evaluated for use in control of fire blight of pome fruits. *Phytopathology*, **89**:39-46.

Pusey P L. **2000.** The role of water in epiphytic colonization and infection of pomaceous flowers by *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, **90**:1352-1357.

Pusey P L. 2006. Chemistry of apple and pear stigma exudates related to bacterial antgonism toward *Erwinia amylovora*. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases*, Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt, pp. 228-232.

Raymundo A K und Ries S M. **1980.** Chemotaxis of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, **70**:1066-1069.

Renner U. **2001.** Gibt es Alternativen in der Feuerbrand-Bekämpfung. *Obstbau*, **26**:518-526.

Rühmer T. **2007.** Mischbarkeit von Blossom protect fb mit Fungiziden. *Obstbau*, **32**:2.

Salm H und Geider K. **2004.** Dual activity of viral lysozme with high efficiency for growth inhibition of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, **94**:1315-1322.

Salm H und Geider K. **2004.** Real-time PCR for detection and quantification of Erwinia amylovora, the causal agent of fireblight. *Plant Pathology*, **53**:602-610.

Scheer C, Trautmann M und Hagl D. **2005.** Das Hefepräparat Blossom-Protect fb - Die Alternative zur Bekämpfung des Feuerbrandes? *Obstbau*, **30**:122-127.

Scheer C, Trautmann M und Hagl D. **2007.** Ergebnisse der Feuerbrandversuche 2005 und 2006. *Obstbau*, **32**:199-202.

Sickinger M. **2008.** *Untersuchungen zur Verteilung und Wirkung von Aureobasidium pullulans gegen Feuerbrand mittels Real-time PCR*, Konstanz: Universität Konstanz, Diplomarbeit

Sparla F, Rotino L, Valgimigli M C, Pupillo P und Trost P. **2004.** Systemic resistance induced by benzothiadiazole in pear inoculated with the agent of fire blight (Erwinia amylovora). *Scientia Horticulturae (Amsterdam)*, **101**:269-279.

Wilson M, Sigee D C und Epton H A S. **1990.** *Erwinia amylovora* infection of hawthorn blossom: III. The nectary. *Journal of Phytopathology (Berlin)*, **128**:62-74.

Zeller W und P.Laux. 2004. Biologische Bekämpfung des Feuerbrandes mit einem Kombinationspräparat aus einem bakteriellen Antagonisten und Na-Benzoat. In *54. Deutsche Pflanzenschutztagung*, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, pp. 370.