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: 2808OE231 01.03.2009 - 31.12.2011

Berichtszeitraum: 01.03.2009 - 31.12.2011

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 30. Dezember 2011

Inhaltsverzeichnis

1. ZIELE UND AUFGABENSTELLUNG DES PROJEKTES 3

1.1 GESAMTZIEL DES VORHABENS 3
1.2 WISSENSCHAFTLICHE UND TECHNISCHE ARBEITSZIELE 3
1.3 BEZUG DES VORHABENS ZU DEN FÖRDERPOLITISCHEN ZIELEN 4
1.4 PLANUNG UND ABLAUF DES PROJEKTES 4

2 WISSENSCHAFTLICHER UND TECHNISCHER STAND, AN DEN ANGEKNÜPFT WURDE 6

3 MATERIAL UND METHODEN 8

3.1 MIKROORGANISMEN 8
3.2 BAKTERIZIDE ODER BAKTERIOSTATISCHE WIRKUNG IM SCHÜTTELKOLBEN 8
3.3 IN VIVO TESTSYSTEM 9
3.4 TEST AUF RESISTENZINDUZIERENDE WIRKUNG AN APFELTRIEBEN 10
3.5 QUANTIFIZIERUNG DES FEUERBRANDERREGERS AUF BLÜTEN 11
3.6 FREILANDVERSUCHE ZUR FEUERBRANDBEKÄMPFUNG 12
3.6.1 Versuchsanlagen 12
3.6.2 Inokulation 13
3.6.3 Behandlungen 13
3.6.4 Auswertung 14
3.6.5 Datenanalyse 15
3.7 EINFLUSS DER BEHANDLUNGEN AUF DIE FRUCHTBEROSTUNG 15

4 ERGEBNISSE 17

4.1 AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG DER WICHTIGSTEN ERGEBNISSE 17
4.1.1 Wirksamkeit der Präparate gegen Feuerbrand 17
4.1.2 Wirkungsweise der Präparate 24
4.1.3 Kombination verschiedener Wirkungsmechanismen 30
4.1.4 Einfluss von Behandlungen auf die Fruchtberostung 32
4.1.5 Entwicklung und Prüfung von Anwendungsstrategien 36
4.2 VORAUSSICHTLICHER NUTZEN UND VERWENDBARKEIT DER ERGEBNISSE 39
4.2.1 Möglichkeiten der Umsetzung der Ergebnisse 39
4.2.2 Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus 40
4.2.3 Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse 41

5 GEGENÜBERSTELLUNG DER URSPRÜNGLICH GEPLANTEN UND DEN TATSÄCHLICH ERREICHTEN ZIELEN 42

6 ZUSAMMENFASSUNG 43

7 DANKSAGUNG 44

8 LITERATUR 44

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. Daraufhin wurden in drei aufeinander aufbauenden Projekten (BÖL: 030OE534/4F; 06OE336) Präparate sowohl auf ihre Wirksamkeit als auch auf ihre Wirkungsweise systematisch geprüft. So wurde für jedes Präparat ein Profil erarbeitet, das seine spezifischen Fähigkeiten bei der Feuerbrandbekämpfung zeigt. Anhand dieser Profile wurden Bekämpfungsstrategien entwickelt. Diese wurden in Freilandversuchen überprüft. Zusätzlich musste sichergestellt werden, dass die zur Feuerbrandbekämpfung gewählte Strategie eine verlässliche Schorfbekämpfung zulässt und dass keine Mehrberostung der Früchte entsteht (Kunz, Mendgen et al. 2009).

In der Fortsetzung der oben genannten Projekte sollten diese Strategien in weiteren Freilandversuchen auf Ihre Praxistauglichkeit evaluiert werden. Weitere Präparate sollten geprüft und gegebenenfalls in die Strategien aufgenommen werden. Begleitende Laboruntersuchungen sollten zeigen, ob das Erregerpotenzial die Wirksamkeit der Präparate beeinflusst und ob Resistenzinduktoren in der Lage sind die Ausbreitung des Erregers in der Pflanze zu reduzieren. Den Praktikern und der Ökoobstbauberatung soll damit eine fundierte Information über die verschiedenen Präparate und Strategien für eine praxisgerechte Feuerbrandbekämpfung zur Verfügung gestellt werden.

1.2 Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele

In den vorangegangenen Projekten wurden 44 Präparate auf ihre Wirksamkeit gegen den Feuerbranderreger mit verschiedenen Methoden getestet. Aus den Ergebnissen wurden drei Bekämpfungsstrategien abgleitet. Diese Strategien sollten in den drei Projektjahren 2009-2011 in Freilandversuchen sowohl auf ihre Wirksamkeit als auch auf ihre Pflanzenverträglichkeit hin untersucht werden.

In Labor- und in den Freilandversuchen sollte zusätzlich der Einfluss der Erregerabundanz auf die Wirksamkeit der Präparate bzw. Bekämpfungsstrategien untersucht werden. Damit sollten mögliche Grenzen der Feuerbrandbekämpfung bei hohem Erregerdruck erforscht und unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Epidemiologie des Erregers (Teilprojekt 06HS017/1 des Verbundvorhabens „Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika“) Empfehlungen für die Reduktion des Erregerdrucks in ökologisch bewirtschafteten Anlagen erarbeitet werden.

Ein weiteres Testsystem wurde aufgebaut, welches es erlaubt die Auswirkung von Resistenzinduktoren auf die Symptomausbreitung im Trieb und auf die endophytische Ausbreitung des Erregers im Trieb zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass der Wachstumsregulator Regalis die Symptomausprägung am Trieb deutlich reduziert. In diesem Projekt sollte geprüft werden, ob auch im ökologischen Obstbau verwendbare Resistenzinduktoren dazu in der Lage sind.

1.3 Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen

Bevor in 2004 mit den vorangegangenen Projekten begonnen 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 wirksamer Bekämpfungsstrategien war für eine weitere Ausdehnung des Ökoanbaus deshalb notwendig. 2008 lagen Ergebnisse vor, die auch bereits in der Praxis umgesetzt wurden. Trotzdem war es notwendig die erarbeiteten Strategien weiter zu prüfen und zu verbessern, um der Beratung und der Praxis Daten für eine verlässliche Feuerbrandbekämpfung in die Hand zu geben.

Die geplanten Arbeiten waren auf die spezifischen Anforderungen des ökologischen Obstbaus abgestimmt. Dies war durch die Mitarbeit der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau (FÖKO) gewährleistet. Die Projektleiter brachten Ihre Erfahrungen und Ergebnisse in Diskussionsrunden ein, die im Rahmen des von der BLE parallel finanzierten Forschungsvorhabens „Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika“ stattfanden. Die vom BLE geförderten Projekte waren darauf ausgerichtet Alternativen zum Streptomycin für den Integrierten Anbau zu finden. Durch einen intensiven Austausch von Ergebnissen und Absprachen bei der Versuchsplanung wurde gewährleistet, dass sich das hier bearbeitete Projekt mit den anderen laufenden Projekten möglichst ergänzte. Positive Ergebnisse aus den laufenden Forschungsprojekten sollten, soweit sie im ökologischen Anbau verwendbar sind, mit den hier etablierten Testverfahren überprüft und gegebenenfalls in die Bekämpfungsstrategien eingearbeitet werden. Somit konnte dieses Projekt zur praktischen Umsetzung der Ergebnisse aus anderen Projekten im ökologischen Obstbau führen.

1.4 Planung und Ablauf des Projektes

Im Laufe der vorangegangenen Projekte (BÖL: 030OE534/4F; 06OE336) wurden an der Universität Konstanz vier Testsysteme aufgebaut, mit denen die Wirksamkeit von Ökopräparaten gegen den Feuerbranderreger 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. Zusätzlich wurde an Apfeltrieben die resistenzinduzierende Wirkung von Präparaten in einer Phytokammer geprüft. Wesentlicher Bestandteil des Projektes war der Aufbau der Versuchsanlage in Mühlingen zur Durchführung der Freilandversuche nach EPPO Richtlinie PP1/166 (3). Dieser neue Versuchsstandort wurde ergänzt durch die vom JKI, Institut für Biologischen Pflanzenschutz betreute Versuchsanlage in Darmstadt. In Deutschland gibt es nur vier weitere Standorte, an denen Freilandversuche zur Feuerbrandbekämpfung durchgeführt werden. Somit wurde über dieses Projekt die Testkapazität deutlich erhöht. Nur so war es möglich, neben der Prüfung von Einzelpräparaten auch Anwendungsstrategien zu prüfen. Zusätzlich zu den Versuchen mit künstlicher Inokulation wurden auch Freilandversuche in Praxisanlagen unter natürlichen Infektionsbedingungen durchgeführt. In diesen Versuchen wurde auch die Pflanzenverträglichkeit der Präparate und Strategien beurteilt.

Unter Berücksichtigung der bereits vorhandenen Ergebnisse (Kunz, Mendgen et al. 2009) waren folgende Strategien für die weiter Prüfung vorgesehen:

1. Einsatz von BlossomProtect nach Gebrauchsanleitung. Zur Schorfbekämpfung wird alternierend Netzschwefel bis 2h vor BlossomProtect eingesetzt.

2. Alternierender Einsatz von BlossomProtect und einer Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel.
3. Alternierender Einsatz Kupfer (z.B. Cueva, Cuprocin) mit einer Mischung aus Myco-Sin und Netzschwefel

Diese drei Strategien wurden sowohl in Freilandversuchen nach der EPPO Richtlinie PP1/166(3) auf Wirksamkeit als auch in Freilandversuchen in Praxisanlagen auf Nebenwirkungen (Schorfbefall, Fruchtberostung) untersucht (siehe Arbeitspakete). Die Auswahl weiterer Testpräparate wurde anhand von Literaturdaten (Renner 2001; Fried 2002; Harzer 2002; Fried, Lange et al. 2004; Scheer, Trautmann et al. 2005; Fried 2006; Fried 2007; Scheer, Trautmann et al. 2007; Fried 2008; Fried 2009; Scheer 2009), Praxiserfahrungen der Berater, Ergebnissen aus abgeschlossenen und laufenden Forschungsprojekten und anhand von Anfragen von Herstellern getroffen. So konnten in den vergangenen 3 Projektjahren insgesamt 20 neue Präparate in die Untersuchungen aufgenommen und mit den bereits vorhandenen Daten zu 44 Präparaten verglichen werden.

Die Arbeiten wurden in 6 Arbeitspakete gegliedert (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. Vier Versuche zur resistenzinduzierenden Wirkung bei Triebinfektionen wurden durchgeführt, ohne ein Präparat mit signifikanter Wirkung zu identifizieren.

Tabelle 1: Balkenplan für den zeitlichen Ablauf des Projektes

	2009				2010				2011			
Quartal	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Wirksamkeit im Labor	—	—			—	—			—	—		
2. Freiland Wirksamkeit	—	—	—		—	—			—	—		
3. Freiland Berostung	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—
4. Resistenzinduktion Trieb			—	—			—	—			—	—
5. Erregerabundanz	—	—	—		—	—			—	—		
6. Aufarbeitung der Ergebnisse und Transfer in Praxis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Nach Klärung der Wirkmechanismen wurde die Möglichkeit der Kombinationen verschiedener Wirkungsmechanismen analysiert und auch experimentell überprüft. Die Ergebnisse zeigen, dass es nur wenige sinnvolle Möglichkeiten gibt Präparate zu mischen. Meist waren nur Mischungen aus Präparaten mit gleichem Wirkmechanismus möglich. Deshalb wurden überwiegend Anwendungsstrategien mit alternierendem Einsatz verschiedener Präparate im Freiland getestet.

Die Präparate wurden *in vitro* und im Blütentest untersucht und nur bei entsprechender Wirksamkeit in die Freilandversuche übernommen. Sechs Freilandversuche zur Prüfung der Wirksamkeit von Präparaten und Strategien gegen Feuerbrand wurden durchgeführt. In diesen Versuchen wurde auch die Erregerabundanz in den Blüten von behandelten und unbehandelten Parzellen mit der qPCR bestimmt, um den Einfluss der Erregermenge auf die Befallsstärke und die Wirksamkeit der Präparate zu erfassen und um den Einfluss der Behandlungen auf die Erregerentwicklung auf den Blüten zu messen.

Leider ergaben zwei der Freilandversuche keine Aussage zur Wirksamkeit der Präparate und Strategien, da keine Übertragung der Feuerbrandbakterien auf die nicht inokulierten Pflanzen stattfand und dadurch auch keine Symptome auftraten. Deshalb konnten nicht alle geplanten Strategien ausreichend geprüft werden. Allerdings ergab sich aus der Diskussion um die Kupferzulassung ohnehin die Entscheidung Kupferpräprate und Kupferstrategien nicht weiter gegen Feuerbrand zu prüfen, wodurch Testkapazität eingespart wurde.

Anstelle der geplanten Strategie mit Kupfer und Myco-Sin wurden Mischungen aus Myco-Sin mit neuen Präparaten untersucht. Wie geplant wurden die Strategien mit BlossomProtect geprüft. Sowohl die Mischung mit Netzschwefel als auch der alternierende Einsatz mit Myco-Sin hat sich bewährt.

Wie geplant, wurden über drei Jahre Berostungsversuche in Praxisanlagen durchgeführt. Auch hier konnte in 2009 Versuche auf der Mainau durch Hagelschlag nicht ausgewertet werden. Trotzdem konnten Daten in geplantem Umfang erarbeitet werden, da in 2010 und 2011 ein zusätzlicher Standort in Wasserburg einbezogen wurde.

Wichtiger Bestandteil des Projektes war über die gesamte Laufzeit der Transfer der Ergebnisse in die Praxis. Die Ergebnisse der Freilandversuche wurden bei Versuchsbesichtigungen interessierten Fachleuten an den Versuchsstandorten präsentiert. Alle Ergebnisse wurden in den einschlägigen Fachzeitschriften sowohl im Fachgebiet Obstbau als auch in Zeitschriften des ökologischen Landbaus (Obstbau, Ökoobstbau, Acta Horticulturae, IOBC-WPRS Bulletin) publiziert. Ebenso wurde auf Tagungen (z.B. Dt. Pflanzenschutztagung, Ecofruit, Int. fire blight conference, IOBC-WPRS- workshop), Arbeitskreisen und anderen Vortragsveranstaltungen über die Ergebnisse berichtet. Damit sollte gewährleistet werden, dass die Ergebnisse als Grundlage für weiterführende Forschungsarbeiten zur Verfügung stehen.

Darüber hinaus wurden die Versuchsergebnisse im Rahmen von Beratungsveranstaltungen für Berater und Obstbauern vorgestellt. Die Beteiligung der FÖKO am Forschungsprojekt gewährleistet, dass erfolgreiche Anwendungsstrategien Einzug in die Praxis finden. Durch engen Kontakt mit den Ökoberatern während der Blühperioden wurde die Einführung der Strategien in die Praxis begleitet und es ergaben sich wichtige Rückmeldungen über die Probleme bei der Umsetzung, welcher wiederum in die Versuchsplanung einfloss.

2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

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, die

Blüteninfektionen verhindern. 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. Im vom BÖL geförderten Projekt „Entwicklung von Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau“ (030OE534/4F 06OE336) wurden seit 2004 44 Präparate *in vitro* auf bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung und auf abgeschnittenen Blüten auf ihre Fähigkeit Feuerbrandsymptome zu verhindern untersucht. 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 Blüten (Kunz 2006; Kunz und Haug 2006; Kunz, Schmitt et al. 2008).

Die von den Herstellern als Resistenzinduktor bezeichneten Präparate Phyto-Vital, Biplantol erwinia, Biopro, Kaolin Tec 800, Fungend, BioZell2000, Elot-Vis, Günkraft für Gemüse und Obst, Pflanzendo+Pflanzenvital, Blossom-Protect und Myco-Sin wurden auf resitenzinduzierende Wirkung getestet. Mit keinem der Präparate konnte eine eindeutige Resistenzinduktion in den Blüten erreicht werden. Hier sollte geprüft werden, ob die Präparate in der Lage sind, die Ausbreitung des Erregers im Trieb zu verhindern.

In den Freilandversuchen nach EPPO-Richtlinie PP1/166 (3) bestätigten sich die im Labor an Blüten gefundenen Ergebnisse. BlossomProtect war in allen Freilandversuchen das wirksamste Präparat (78%). Die gute Wirkung von BlossomProtect wurde auch von anderen Versuchsanstellern bestätigt (Kunz und Haug 2006). Das Gesteinsmehlpräparat Myco-Sin war mit durchschnittlich 65% Befallsreduktion wirksamer als von anderen Versuchsanstellern beschrieben (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 48,5% 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 100 und 190g Reinkupfer/ha eingesetzt. Für eine ausreichende Wirkung wurden 190g 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, wurden 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 oder AlgoVital 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 in weiteren Versuchen unter unterschiedlichen Witterungsbedingungen auf ihre Praxistauglichkeit geprüft werden.

3 Material und Methoden

3.1 Mikroorganismen

Feuerbranderreger: Die Stämme Ea385, Ea839, Ea797, Ea894, Ea763, Ea840, Ea851 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 Stämmen inokuliert, die nach Prüfung der Virulenz von der Arbeitsgruppe Feuerbrand ausgewählt wurden (Fried 2007).

3.2 Bakterizide oder bakteriostatische Wirkung im Schüttelkolben

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 Feuerbranderreger (Stamm Ea385) angeimpft. Die Startkonzentration von 10^7 Zellen/ml wurde photometrisch eingestellt (OD_{660} 0,2 = $2{,}6 \times 10^8$ 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, 20 g/L Agar) mit dem Tropfplattenverfahren bestimmt (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.

3.3 In vivo Testsystem

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 (Abbildung 1) 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 2) und mit einer Suspension ($1x10^7$ 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 2). Die Wirkung der Präparate im Vergleich zu einer mit Wasser behandelten Kontrolle wurde nach Abbott berechnet (Abbott 1925)..

Abbildung 1: Apfelbäume (Gala) zur Blütenanzucht im Gewächshaus.

Abbildung 2: 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.

3.4 Test auf resistenzinduzierende Wirkung an Apfeltrieben

Der Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* Stamm 385 wurde auf NBZA bei 27°C kultiviert.

Handveredelte Topfpflanzen (Jonagold auf M9) wurden im Gewächshaus eintriebig bis zu einer Trieblänge von mind. 30cm angezogen. Zur Inokulation wurde das jüngste, vollentfaltete Blatt jeden Triebes mit einer Schere angeschnitten, die zuvor in eine Erregersuspension (Ea385) mit 10^9 Zellen/ml getaucht worden war (Abbildung 3).

Um gleichzeitig die resistenzinduzierende Wirkung und die direkte bakterizide Wirkung der Präparate zu prüfen, wurden zwei Behandlungen durchgeführt. Die erste Behandlung erfolgte sechs Tage vor der Inokulation, die zweite Behandlung erfolgte eine Stunde nach der Inokulation durch tropfnasses Besprühen der Triebe. Im Vergleich wurden unbehandelte Triebe und mit Regalis (AWK: 0,25%; Wirkstoff: Prohexadion-Ca) behandelte Triebe untersucht.

Die Ausbreitung der Feuerbrandsymptome in den Trieben wurde über einen Zeitraum von bis zu vier Wochen beobachtet. Die Länge des nekrotischen Gewebes wurde regelmäßig gemessen und der prozentuale Anteil des Symptoms am Gesamttrieb errechnet. Für jeden Trieb wurde die Fläche unter der Befallskurve (Area under the disease progress curve = AUDPC) errechnet. In jeder Behandlung wurden 6 Triebe ausgewertet. Die AUDPC Werte der Triebe wurden gemittelt. Der Mittelwert wurde mit einem zweiseitigen T-Test mit der unbehandelten Variante verglichen.

Abbildung 3: Inokulation von Apfeltrieben (Sorte Jonagold) mit einer in eine Bakteriensuspension (10^9 *E. amylovora* /ml) getauchten Schere.

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 2 gezeigten Schema angesetzt. Als Template wurde Blütenwaschwasser eingesetzt. Im Freilandversuch wurden je Parzelle 10-20 Blüten abgewaschen. 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 2: 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 4: Versuchsanlage Mühlingen während der Apfelblüte 2011 (oben) und Darmstadt nach dem Austrieb 2010 (unten).

Sechs Freilandversuche wurden nach EPPO Richtlinie PP 1/166(3) in randomisierten Blockanlagen mit jeweils 4 Wiederholungen an den Standorten Darmstadt und Mühlingen durchgeführt. In Darmstadt wurden die Versuche auf gepflanzten Bäumen durchgeführt, die jedes Jahr nach dem Versuch durch Rückschnitt der Befallsstellen saniert wurden. In Mühlingen wurden jeweils zwei- bis dreijährige Topfbäume verwendet (Abbildung 4), die nach dem Versuch verbrannt wurden.

In Mühlingen wurde in 2009 und 2010 in den unbehandelten Parzellen kein ausreichender Feuerbrandbefall erreicht, so dass für diese Versuche keine Wirkungsgrade der Behandlungen errechnet

wurden. Die Versuchsdetails und Ergebnisse der anderen vier Versuche wurden bereits veröffentlicht (Kunz, Schmitt et al. 2010; Kunz, Schmitt et al. 2011; Kunz, Schmitt et al. 2012).

3.6.2 Inokulation

In allen Versuchen wurden je Parzelle ein bis vier Bäume mit dem Erreger inokuliert, in dem Bakteriensuspensionen mit einer Konzentration von $1x10^7$ Zellen/ml bis $4x10^8$ Zellen/ml aufgesprüht wurden.

3.6.3 Behandlungen

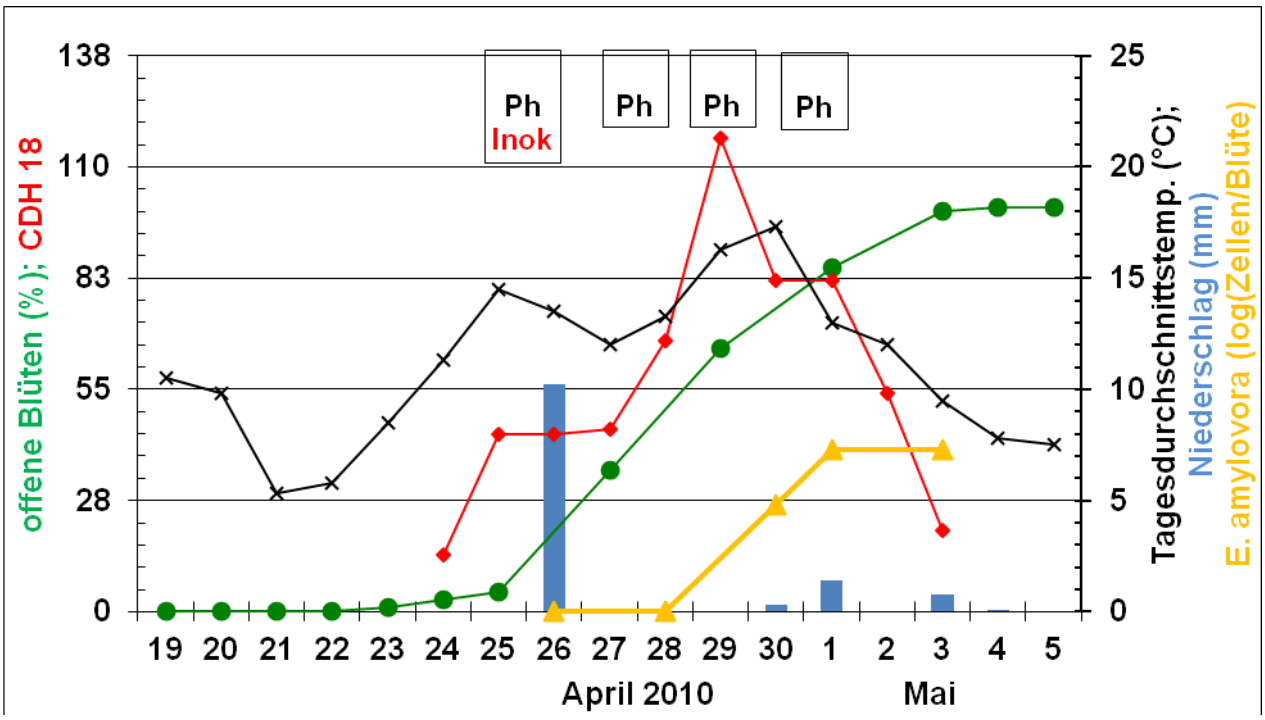


Abbildung 5: Tagesdurchschnittstemperatur, Stundengradsumme zur Basis 18,3 (CDH18), Blühverlauf (offene Blüten), Niederschlagsmenge und epiphytisches Erregerpotenzial (*E. amylovora*) am Standort Darmstadt 2010. Behandlungen wurden nach der Phänologie der Blütenöffnung (ph) durchgeführt.

Die Präparate wurden mit einer Motorrückenspritze (Darmstadt) oder mit einer handgeführten Druckspritze (Mühlingen) mit einer Wasseraufwandmenge von ca. 500l/ha*m Kronenhöhe ausgebracht. In 2011 wurde in Darmstadt eine geringere Wasseraufwandmenge von 250 l/ha*mKH verwendet, wodurch die Präparate mit etwa der halben empfohlenen Aufwandmenge ausgebracht wurden.

In Mühlingen wurden außerhalb des Versuchs keine Pflanzenschutzmittel eingesetzt. In Darmstadt wurden die Bäume außerhalb der Blühperiode praxisüblich mit Insektiziden und Fungiziden be-

handelt. 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 Mühlingen stand eine mobile Wetterstation des LTZ Augustenberg (Außenstelle Stuttgart), welche die für Prognoseberechnungen im Obstbau notwendigen Daten aufzeichnete. Diese wurden dann mit dem Programm Maryblyt® (http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/maryblyt, March 23rd, 2009) zur Feuerbrandprognose verrechnet (Abbildung 5).

In Darmstadt erfolgte die Terminierung der Behandlungen immer nach Phänologie zu ca. 10%, 40%, 70% und 90% offener Blüten. In Mühlingen 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

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 6).

Abbildung 6: Blütenbüschel mit Feuerbrandsymptomen in der Versuchsanlage in Mühlingen.

Eine zweite Bonitur wurde 7 bis 14 Tage später durchgeführt. In Mühlingen 2011 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 Mühlingen wurden weder 2009 noch 2010 die für eine Auswertung erforderliche Mindestbefall von 40 Befallsstellen in der Kontrolle erreicht (mind. 5% Befall aus mind. 800 Blütenbüscheln), so dass Daten aus diesen beiden Versuchen nicht für die Bewertung der Präparate oder Strategien verwendet wurden.

3.6.5 Datenanalyse

Die Befallstärken 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 Befallstärke 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 Obstbaus geführt wurden. Versuche wurden an den Standorten Lindau, Wasserburg und Insel Mainau an verschiedenen Apfelsorten 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 7). 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 Frucht-oberfläche	0%	1-10%	11-30%	>30%
Berostungsklasse	1	2	3	4

Abbildung 7: 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

4.1.1.1 Wirksamkeit in Schüttelkolben und im Blütensystem

In den Jahren 2004 bis 2008 wurden 44 Präparate auf Ihre Wirksamkeit gegen den Feuerbranderreger *Erwinia amylovora* mit den Labortestsystemen geprüft. 23 der Präparate wurden auch in Freilandversuchen 2004-2008 eingesetzt (Kunz, Mendgen et al. 2009). Davon wurden die 4 Präparate BlossomProtect, Myco-Sin, Temauxin A und BoniProtect im Projektzeitraum 2009-2011 in Strategien in Freilandversuchen weiter untersucht. Der Vergleich der Testsysteme Labor/Freiland zeigte, dass eine Wirkung *in vitro* (Schüttelkultur) notwendig aber nicht ausreichend war, um eine gute Wirkung im Freiland vorherzusagen. Die Wirksamkeit im Blütentest korrelierte meist mit der Wirksamkeit im Freiland (Kunz, Mendgen et al. 2009). Deshalb wurden neue Präparate weiterhin *in vitro* und im Blütentest überprüft, bevor sie im Freiland eingesetzt wurden.

Von 2009-2011 wurden 20 neue Präparate ins Versuchsprogramm aufgenommen und im Vergleich zu BlossomProtect und dem Antibiotikum Streptomycin *in vitro* und im Blütensystem auf Wirksamkeit gegen den Feuerbranderreger geprüft (Tabelle 3).

Vier Präparate (VP1, VP2, FZB13 fl., ABI 09 fl.) waren mit Mikroorganismen kontaminiert, so dass der *in vitro* Test nicht ausgewertet werden konnte. Diese vier Präparate reduzierten Feuerbrandsymptome im Blütensystem um mind. 58% und wurden auch im Freilandversuch in Mühlingen 2009 eingesetzt. Eine Aussage über die Wirksamkeit der Präparate im Freiland ist nicht möglich, da in diesem Versuch kein Befall in der unbehandelten Kontrolle auftrat. Ob die hohe Wirkung im Blütentest tatsächlich durch die Präparate verursacht wurde oder durch die enthaltenen mikrobiologischen Kontaminationen, kann nicht beantwortet werden. Aufgrund der Kontaminationsprobleme wurden diese vier Präparate von den Herstellern in den folgenden Jahren nicht weiter verfolgt.

Neun Präparate reduzierten das Erregerwachstum in der Schüttelkultur nicht oder nur wenig. Keines dieser Präparate hatte im Blütentestsystem eine Wirkung von mehr als 40% (Tabelle 3). Aus dieser Gruppe wurde das als Resistenzinduktor beschriebene Vacciplant trotzdem im Freilandversuch in Strategien getestet. Als Einzelpräparat kam es nicht zum Einsatz. Die anderen Präparate dieser Gruppe wurden nicht weiter untersucht.

Sieben 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. Drei der sieben Präparate (LX4630, Chitoplant, Algonit) reduzierten die Lebendzellzahl in der Kultur im Vergleich zur ursprünglichen Lebendzellzahl nach 4h deutlich, was eine bakterizide Wirkung zeigt (Tabelle 3).

Von den sieben in Schüttelkultur wirksamen Präparaten reduzierten 4 die Symptombildung im Blütentest nicht ausreichend (<60% Wirkungsgrad). Diese Präparate (Algonit, Sprühmolkenpulver natursauer, HanForte, Folanx Ca29) wurden nicht weiter im Freiland getestet.

Drei Präparate (LX4630, SPU-02700F, Chitoplant) hemmten das *E. amylovora* Wachstum in Schüttelkultur vollständig und waren auch im Blütentest wirksamer als 60% (Tabelle 3). Diese drei Präparate wurden in den Freilandversuchen als Einzelbehandlung (Tabelle 4) oder in Strategien eingesetzt.

Bisher liegen nur sehr wenige Daten zur Wirksamkeit der Ökopräparate an **Birnenblüten** vor. Da sich für Apfelblüten gezeigt hat, dass die Wirksamkeit von Präparaten im Blütensystem mit deren Wirksamkeit in Freiland korreliert wurden die bisher wirksamsten Präparate auf Birnenblüten getestet (Oberösterreichische Weinbirne). Für jede Behandlung wurden 4x 24 Blüten verwendet.

An den nicht inokulierten Blüten waren keine Symptome zu sehen. Die Inokulation der Blüten und anschließende Behandlung mit Leitungswasser führte zu einem durchschnittlichen Befall von 89,5%. Alle anderen Behandlungen reduzierten den Befall im Vergleich zur Leitungswasserkontrolle signifikant (Abbildung 8). 0,044% Funguran (200g Reinkupfer/ha) hatte mit 86% die beste Wirkung, gefolgt von 1,2% BlossomProtect und 1,0% FolanxCa29. Das Vergleichspräparat 0,06% Strepto hatte mit 69% einen mittleren Wirkungsgrad.

Die Wirkungsgrade entsprechen den auf Apfelblüten gefundenen Wirkungen. Wahrscheinlich sind auch die Freilandergebnisse zur Wirksamkeit von Apfel auf Birne übertragbar. So zeigen Freilandversuchsergebnisse mit BlossomProtect aus den USA für Apfel und Birne vergleichbare Ergebnisse (Larry Parker, USA, persönliche Mitteilung). Die Phytotoxizität, vor allem Berostung, muss im Freiland an verschiedenen Birnensorten geprüft werden.

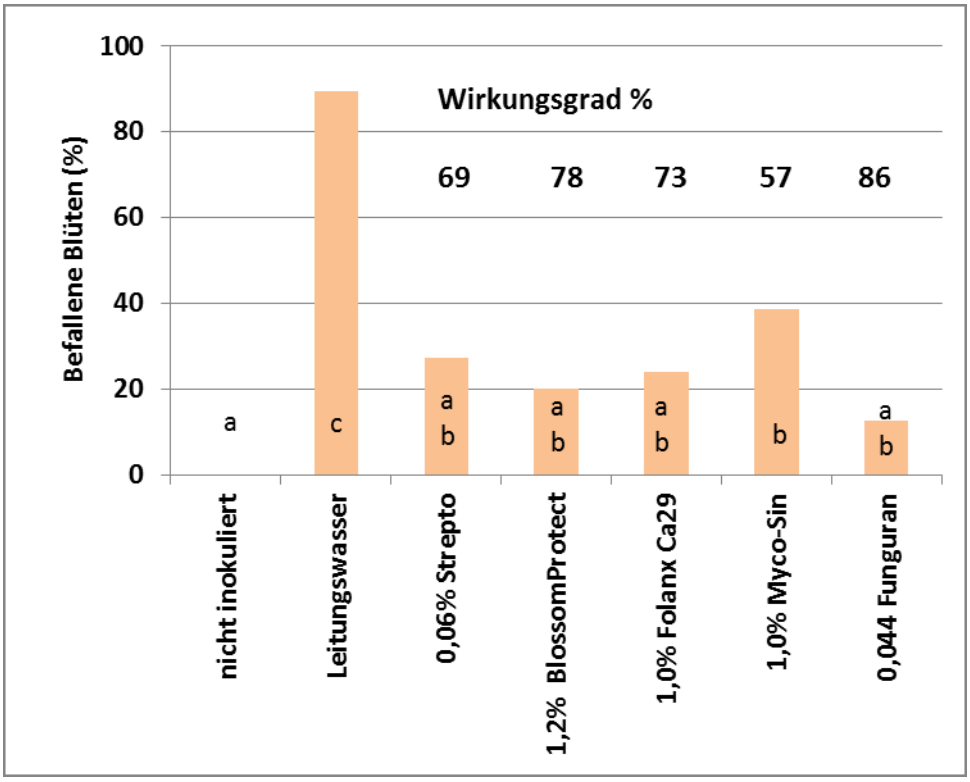


Abbildung 8: Birnenblüten mit Feuerbrandsymptomen nach Inokulation mit *E. amylovora* und Behandlung mit unterschiedlichen Präparaten. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgliedern (p<0,05) in Tukey`s Multiple Comparison Test.

4.1.1.2 Wirksamkeit in Freilandversuchen

Das Kupferpräparat **SPU-02700F** wurde in den Versuchen entsprechend einer Kupferaufwandmenge von 200g Reinkupfer/ha eingesetzt. Im Freilandversuch in Mühlingen 2010 konnte aufgrund des geringen Befalls in unbehandelt über die Wirksamkeit gegen Feuerbrand keine Aussage getroffen. In 2011 wurden mit Kupfer keine weiteren Versuche angesetzt, da der Kupfereinsatz während der Blüte wegen der Berostungsgefahr und wegen des Kupferreduktionsprogramms nicht empfohlen werden kann.

Chitoplant wurde 2011 in Darmstadt und in Mühlingen jeweils mit vier Behandlungen im Vergleich zum Standard BlossomProtect eingesetzt. In keinem der Versuche wurde mit Chitoplant eine signifikante Wirkung erzielt. Der Wirkungsgrad lag jeweils deutlich unter dem von BlossomProtect. Sowohl bei den Laborversuchen als auch bei den Freilandversuchen zeigte sich, dass Chitoplant sich in der empfohlenen Konzentration von 0,1% nicht in Wasser lösen und auch nur unzureichend resuspendieren lässt (Abbildung 2). Beim Sprühen wurden also nur Teile des Präparates ausgebracht. Die schlechte Resuspendierbarkeit könnte auch die hohe Standardabweichung im Blütentest erklären. Je nachdem wie lange geschüttelt wurde, löste sich mehr oder weniger Wirkstoff. Chitoplant ist in der gelieferten Formulierung nicht praxistauglich und erbrachte auch keine ausreichende Wirkung im Freiland. Die von der Firma Chipro zur Verfügung gestellte Flüssigformulierung (Chitoplant 50 Flüssigformulierung) war in den Blütentest nicht wirksam und wurde deshalb nicht im Freiland geprüft.

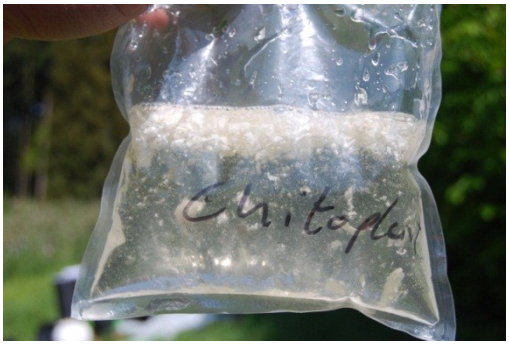


Abbildung 9: 5g Chitoplant wurden in 0,5l Wasser 15min geschüttelt.

LX4630 ist eine Formulierungsvariante des Calciumdüngers Folanx Ca29 und wurde in diesem Projekt in zwei Freilandversuchen getestet. In Darmstadt 2010 wurde mit 82% eine signifikante Wirkung erreicht. In 2011 war die Wirkung mit 38% nicht signifikant und deutlich geringer. Schwankende Wirkungsgrade werden für dieses Präparat auch von anderen Versuchsanstellern berichtet (Scheer und Bantleon 2009; Fried 2010). Trotzdem ist das Präparat eines der wirksamsten in unseren Versuchen und wurde auch in Anwendungsstrategien weiter verfolgt. Allerdings hat es keine Zulassung und auch die Ökotauglichkeit wird noch diskutiert, so dass dieses Präparat der Praxis noch nicht zur Verfügung steht.

Von den in 2011 im Handel verfügbaren und im Ökoobstbau einsetzbaren Präparaten (Tabelle 4, grün unterlegt), hatte BlossomProtect im Durchschnitt aller Freilandversuche mit 78% den höchsten Wirkungsgrad, gefolgt von Myco-Sin mit 61% und Funguran (135 g Reinkupfer/ha) mit 58%. Für die Entwicklung von Strategien boten sich also vor allem BlossomProtect und Myco-Sin an.

Tabelle 3: Von 2009-2011 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	79±17 (112)
Vergl	BlossomProtect	Bio-Protect GmbH	*A. pullulans* + Puffer P	1,2	4,0	85	100	76±17 (61)
1	VP1 FIBL (16.05.06)	FiBl, Frick, CH		50 bzw. 100	6,9	n.a.	n.a.	88± 8 (4)
2	LX4630	Lanxess GmbH	Calciumformiat	1,5	4,3	100	100	78±23 (6)
3	SPU-02700-F (28.04.09)	Spiess-Urania	Kupfer	0,08 (200g RK/ha)	7,1	85	98	75±14 (3)
4	VP2 FIBL (24.04.09)	FiBl, Frick, CH		50 bzw. 100	6,8	n.a.	n.a.	75±13 (4)
5	FZB13 fl.	Ecostyle B.V., NL	*B. amyloliquefaciens*	5	6,5	n.a.	n.a.	68±12 (3)
6	Chitoplant	Chipro	Chitosan	0,1	6,5	100	100	61±32 (8)
7	ABI 09 fl	ABiTEP GmbH	*B. amyloliquefaciens*	5	6,8	n.a.	n.a.	58± 8 (3)
8	Folanx Ca29	Lanxess AG	Calciumformiat	1	5,5	75	98	33± 5 (3)
9	Pulsatilla C200	Weder, CH	Homöopatika	2 Gl./100ml	7,2	0	0	31±27 (3)
10	Vacciplant	Belchim	Laminarin	0,075	7,3	0	0	29±23 (7)
11	Chitoplant 50 Flüssigkonz.	Chipro GmbH	Chitosan	0,1	7,1	60	58	23±10 (4)
	Chitoplant 50 Flüssigkonz.	Chipro GmbH	Chitosan	0,05				22±14 (4)
12	Hanfauszug Rechsteiner (23.1.09)	Rechsteiner, CH	Ethanolischer Hanfextrakt	5	6,80	70	23	22± 4 (3)
13	Nitricum acidum C200	Weder, CH	Homöopatika	2 Gl./100ml	7,3	0	0	20±28 (3)
14	Calcium fluoratum C200	Weder, CH	Homöopatika	2 Gl./100ml	7,3	0	0	15±8 (3)
15	Belladonna C200	Weder, CH	Homöopatika	2 Gl./100ml	7,3	0	0	10±27 (3)
16	Antica	Chipro GmbH	Alpha-Hydroxysäuren	0,5	6,9	3	0	7±10 (4)
17	Algonit 0,3%	Techsano, D	Quarternäre N-Verb.	0,3	7,4	100	100	6±8 (3)-
18	Sprühmolkenpulver-natursauer	Hanns, D,	Molke	4	4,6	89	100	5±31 (3)
19	Phytocare (24.03.09)	Proagro GmbH	Pflanzenextrakt	0,5	6,6	75	46	2±14 (3)
20	HanForte (01.10.08)	FiBL, Frick, CH	Ethanolischer Hanfauszug	5	7,1	71	95	-2±7 (3)

Tabelle 4: Der Befall in der unbehandelten Kontrolle sowie die Wirkung (%) der Präparate in Freilandversuchen im Rahmen des BÖL-Projektes in Karsee (KA), Groß-Umstadt (GU), Darmstadt (DA) und Mühlingen (MÜ). Grün unterlegte Präparate waren 2011 in Deutschland erhältlich.

Präparat	Konz. %	KA 04	GU 04	KA 06	DA 06 I	DA 06 II	DA 07	KA 07	DA 08	KA 08	DA 09	DA 10	DA 11	MÜ 11	
Befall in unbehandelt (%)		12,6	15,3	5,9	21	6,8	33,2	11,2	42,7	4,4	20,5	23	43,8	7,8	Mittelwert
BPASc4	1,2	83**													83
BlossomProtect	1,2	85**	66*	86**	85**		82**	89**	56**	80**	81**	82**	47*	91*	78
BPGP07								78**							78
Kupferprotein 06	1						71**								71
BPASC6	0,75			63*											63
Myco-Sin	1	56	54	60*	80*	68		74**					37		61
Serenade Max + Nu-Film P	0,5+0,03			61*											61
LX4630	1,5											82**	38		60
Folanx Ca29	1									59*					59
Funguran	0,03			74**			62**	38**							58
Serenade WPO	1	51													51
Protex-Cu	0,15	49													49
Löschkalk (CaOH)	2		48	53*		32									44
Cueva (100gRK/ha)	0,85									41					41
BaciM	5								41**						41
Temauxin A	2								35*		38				37
Kupferprotein 08 (100gRK/ha)	0,53									33					33
Chitoplant	0,1												12	52	32
Schwefelkalk	1,5	28													28
Phyto-Vital	2			25											25
Elot-Vis	10		19												19
BoniProtect	0,15									19					19
Fungend	0,05		7												7
Hydrocal super	gestäubt									-2					-2
Biplantol erwinia	0,2	-15	-18												-17
Kaolin Tec 800	1,5		-25												-25

*/**Der Feuerbrandbefall war in dieser Variante im zweiseitigen, homoskedastischen T-Test signifikant niedriger als in der Kontrolle ($p<0,05$*; $p<0,01$**).

4.1.1.3 Resistenzinduktion zur Vermeidung von Triebinfektionen

Einige der getesteten Präparate sind als Pflanzenstärkungsmittel gelistet und werden von den Herstellern zur Förderung der Widerstandskraft der Pflanzen oder als Resistenzinduktoren empfohlen. Die resistenzinduzierende Wirkung der Präparate wurde an Apfeltrieben der Sorte Jonagold untersucht, die mit *E. amylovora* inokuliert wurden. An nicht inokulierten Trieben zeigten sich keine Symptome. Die Inokulation von älteren Blättern (5. Blatt von der Triebspitze ab gezählt) führte zu einer vergleichbaren Symptomentwicklung wie bei der Inokulation des jüngsten Blattes.

Tabelle 5: Befallsreduktion an inokulierten Trieben durch je zwei Behandlungen (6d vor der Inokulation und 2h nach der Inokulation) mit Präparaten. Für jeweils 6 Triebe wurde die AUDPC berechnet. Die Reduktion des AUDPC-Wertes im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle ist aufgeführt. * zeigt einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle (T-Test).

Präparat	Konz. %	Befallsreduktion (%)			
		11.12.09	03.02.10	26.11.10	20.04.11
Regalis	0,25	79*	99*		
Myco-Sin	1		29	17	
BlossomProtect	1,2		6		
Biocin B1	6,5	-4			
Biocin B2	6,5	-32			
Funguran	0,1 (450g RK/ha)			88*	26
Funguran+BoniProtect	0,1+0,1			16	-4
Funguran nur am Infektionstag behandelt	0,1				-12
Hanforte	5	4			
VP1 (FIBL)	100	-9			
Pseudomonas flourescens	$1x10^8$/ml	-13	9		
Temauxin A	2		21		
OmniProtect	0,5		16		
Vacciplant	0,075			61	7
Chitoplant	0,1			14	37*
LX4630	1,5				23
Unbehandelt: 5. Statt 1. Blatt inokuliert			14		
Nicht inokuliert				100*	100*

In den Jahren 2009-2011 wurden Versuche auf resistenzinduzierende Wirkung mit insgesamt 13 Präparaten durchgeführt (Tabelle 5). Präparate können in diesem System entweder als Resistenzi-

duktor wirken und müssen dann einige Tage vor der Inokulation eingesetzt werden oder sie wirken bakterizid an der Inokulationswunde. Um für wirkungslose Präparate nicht beide Varianten prüfen zu müssen, wurden jeweils beide Behandlungen an denselben Pflanzen gemacht. Es war vorgesehen, bei wirksamen Präparaten, dann in der Versuchswiederholung auch die Einzelbehandlungen zu prüfen. In den ersten beiden Versuchen wurde das Vergleichspräparat Regalis (Prohexadione-Ca) eingesetzt. Mit Regalis wurde jeweils eine signifikante Befallsreduktion um 79% bzw. 99% im Vergleich zu den unbehandelten Trieben erzielt (Tabelle 5; Abbildung 10).

Abbildung 10: unbehandelter Trieb (links) und mit Regalis behandelter Trieb am 15.2.10. Die Triebe wurden am 3.2.2010 mit einer in eine Bakteriensuspension getauchten Schere inokuliert.

Mit 0,1% Funguran wurde in einem Versuch eine ähnlich hohe Wirkung erzielt. Allerdings bestätigte sich diese in der Versuchswiederholung nicht. Da bei Funguran eine bakterizide Wirkung vermutet wurde, wurde im zweiten Versuch auch eine Variante mit nur einer Behandlung kurz nach der Inokulation durchgeführt. Diese war wirkungslos, genau wie die Doppelbehandlung mit Funguran in diesem Versuch. Auch mit 0,1% Chitoplant wurde in einem der beiden Versuche eine signifikante Befallsreduktion erzielt. Allerdings war der Wirkungsgrad von 37% nicht sehr hoch.

Insgesamt wurde also mit keinem der getesteten Präparaten eine reproduzierbare Wirksamkeit erzielt. Eine Empfehlung zum Einsatz in der Praxis gegen Triebinfektionen zum Beispiel nach Hagel kann deshalb für keines der Präparate gegeben werden.

4.1.2 Wirkungsweise der Präparate

4.1.2.1 Wirkmechanismus *in vitro*

Präparate, die in keinem der Testsysteme wirksam waren (Tabelle 3), wurden hier nicht weiter untersucht. Für einen Teil der anderen Präparate kann die Wirkungsweise anhand der Zusammensetzung oder durch Literaturdaten erklärt werden, für andere wurden weitere Laboruntersuchungen zur Aufklärung des Wirkmechanismus durchgeführt.

Hanforte ist ein ethanolischer Hanfauszug und besteht im Wesentlichen aus Ethanol. Wie bereits für das Elot-Vis gezeigt (Kunz, Mendgen et al. 2009), hat Ethanol eine gute Wirkung *in vitro,* nicht jedoch auf Blüten. Wahrscheinlich verdampft der Alkohol beim Sprühen oder auf der Oberfläche sehr schnell, so dass auf der Blütenoberfläche kein ausreichender Kontakt mit dem Erreger zustande kommt.

0,1% Chitoplant reduzierte sowohl das Erregerwachstum in Schüttelkolben als auch die Symptombildung auf Blüten, war aber schlecht löslich. Die Herstellerfirma stellte eine Flüssigformulierung zur Verfügung (Chitoplant 50 Flüssigkonz.), die aber in den eingesetzten Konzentrationen keine ausreichende Wirkung hatte. Eine Dosis-Wirkungskurve für Chitoplant im Schüttelkolben zeigte, dass eine Reduktion der Aufwandmenge auf ein Drittel bereits zu Wirkungsverlusten führt (Abbildung 11). Somit ist für den Freilandeinsatz keine Wirkungsreserve vorhanden und bei schlechter Löslichkeit werden Wirkstoffschwankungen nicht ausgeglichen. Weitere Untersuchungen zum Wirkmechanismus wurden nicht durchgeführt, da das Präparat in der vorliegenden Formulierung nicht praxistauglich ist.

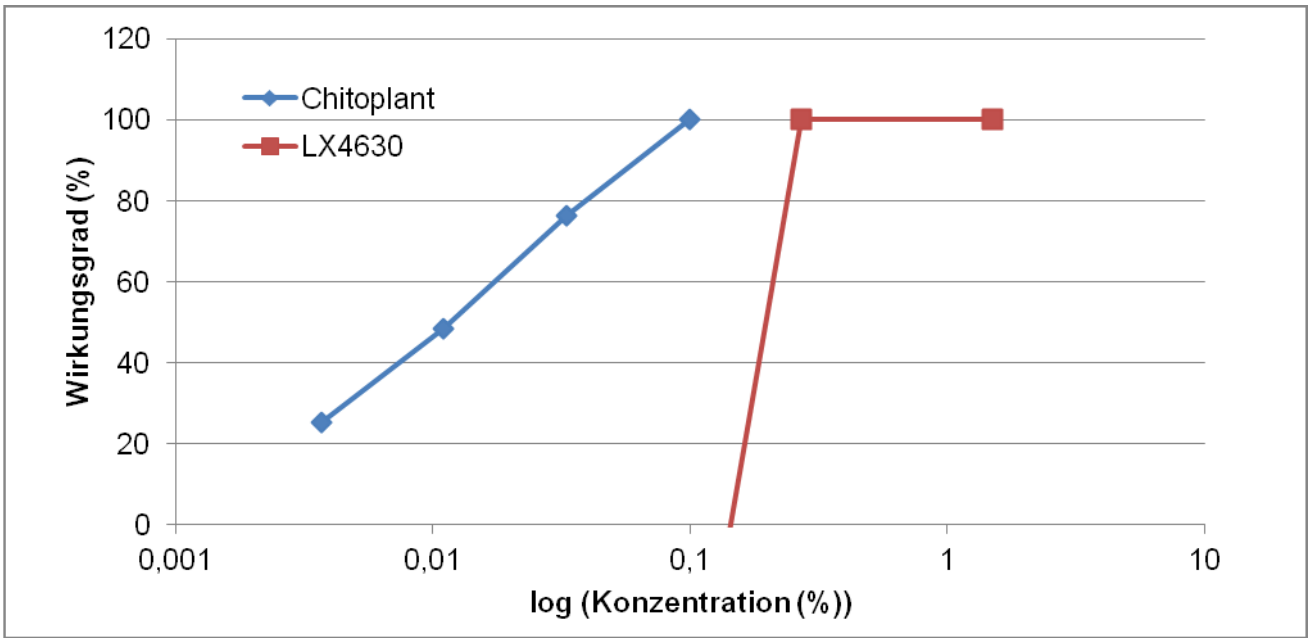


Abbildung 11: Dosis-Wirkungskurven von Chitoplant und LX4630 gegen den Feuerbranderreger *E. amylovora* in Schüttelkulturen. Gemessen wurde das Wachstum der Kultur durch cfu-Bestimmung 24h nach der Inokulation.

Sprühmolkepulver natursauer, Folanx Ca29 und LX4630 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 (Kunz, Mendgen et al. 2009).

So kann über die pH-Absenkung des Mediums die *in vitro* Wirkung dieser Gruppe von Präparaten erklärt werden. Für Myco-Sin und BlossomProtect wurde gezeigt, dass für eine gute Wirkung auf der Blüte weitere Mechanismen notwendig sind. Die pH-Absenkung unterstützt bei Myco-Sin die Wirkung von im Präparat enthaltenen Aluminiumionen, die nur unter sauren pH-Bedingungen ihre bakterizide Wirkung entfalten, und bei BlossomProtect unterstützt der saure pH-Wert das Wachstum des Antagonisten *A. pullulans* in den Blüten.

Die pH-Absenkung durch das **natursaure Sprühmolkepulver** reicht nicht für eine gute Wirkung auf der Blüte aus. **FolanxCa29** ist ein Calciumdünger auf der Basis von Calciumformiat 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 (Kunz, Mendgen et al. 2009). Auch hier bestätigt sich, dass die pH-Absenkung alleine zwar in Schüttelkultur wirkt, auf der Blüte aber nicht ausreicht.

LX4630 enthält wie FolanxCa29 Calciumformiat. In der vom Hersteller empfohlenen Anwendungskonzentration von 1,5% wurde ein pH-Wert von 4,3 gemessen. Dieser ist niedriger als beim Folanx Ca29 und liegt im Bereich von Myco-Sin und BlossomProtect. Das Erregerwachstum in Schüttelkultur wurde vollständig gehemmt bis zu einer Konzentration von 0,5%. Mit geringeren Konzentrationen wurde keine Wirkung mehr erzielt (Abbildung 11). In auf pH 7 gepuffertem Medium hatte LX4630 keine Wirkung (Tabelle 6). Der niedrige pH-Wert ist also Voraussetzung für die Wirkung. Ob andere Mechanismen beteiligt sind, konnte nicht geklärt werden.

Tabelle 6: Reduktion der *Ea385* Konzentration durch LX4630 im Schüttelkolben nach 4h und nach 24h in Abhängigkeit vom pH-Wert.

Behandlung	Konz. (%)	pH Start	pH 24 h	Reduktion 4 h (%)	Reduktion 24 h (%)
LX4630	1,5	4,0	4,0	100	100
LX4630 in pH 7 Puffer	1,5	7,3	7,2	40	-315

4.1.2.2 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. Im Laborversuch an abgeschnittenen Blüten hatten die Ökopräparate im Vergleich zu Streptomycin nur einen geringen Einfluss auf die epiphytische Erregervermehrung. Die Symptombildung wurde vor allem mit BlossomProtect trotzdem reduziert (Kunz, Mendgen et al. 2009).

Seit 2007 wurde auch in Freilandversuchen die Abundanz von *E. amylovora* auf den Blüten in behandelten und unbehandelten Parzellen mit der qPCR-Methode gemessen. Nach der Inokulation wurden regelmäßig Blüten (20 pro Probe) aus allen Parzellen entnommen. Zum Vergleich der epiphytischen Besiedlung in den unterschiedlichen Behandlungen wurde der Zehnerlogarithmus der einzelnen Messwerte gemittelt. Mit den log-transformierten Messwerten wurde eine Vari-

anzanalyse gerechnet. Für die Beschreibung im Text werden rücktransformierte Mittelwerte verwendet.

Beispielhaft für die 8 Freilandversuche, in denen Messungen auch auf behandelten Blüten durchgeführt wurden, sind hier die Daten aus Darmstadt 2010 erklärt (Abbildung 12).

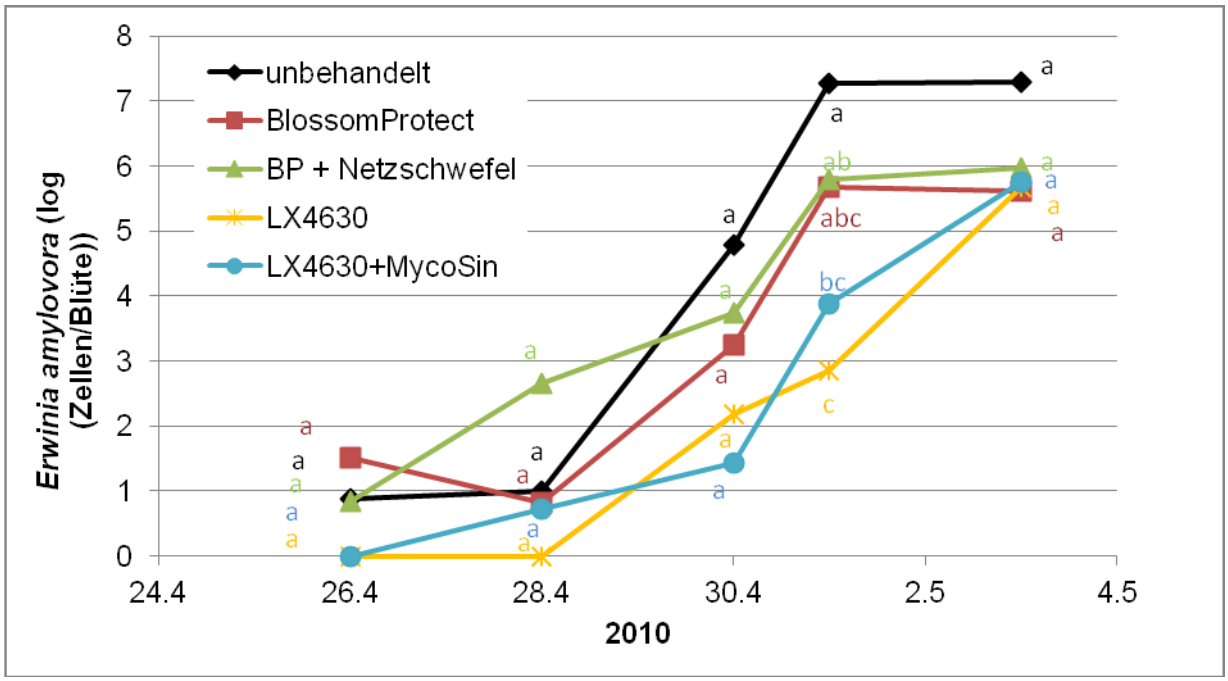


Abbildung 12: Die Abundanz von *E. amylovora* auf den Blüten im Freilandversuch Darmstadt 2010 wurde mit der Real-time PCR bestimmt. Aus je vier Parzellen jeder Variante wurden bei jeder Probennahme jeweils 20 symptomlose Blüten entnommen. Angegeben sind die Mittelwerte. Unterschiedliche Buchstaben an einem Tag, zeigen signifikante Unterschiede in Tukey`s Multiple Comparison Test ($p \leq 0{,}05$).

Am 26.4.2010, einen Tag nach der Inokulation, waren nur 3 der 20 Proben positiv. Durchschnittlich wurden auf den nicht inokulierten Bäumen in den Varianten zwischen 0 und 30 *E. amylovora* Zellen/Blüte nachgewiesen (Abbildung 12). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungen. Am 28.4. zeigte sich ein ähnliches Ergebnis. An diesem Tag waren 5 der 20 Proben positiv. Ab dem 30.4. stieg die durchschnittliche Erregerkonzentration in der unbehandelten Variante über 60.000 bis zum 1.5. auf 1,9 x 10^7 an und hielt sich bis zum 3.5. auf diesem Niveau. Auch in den Behandlungen stieg die Erregerabundanz in diesem Zeitraum an, blieb aber bis zum 3.5. durchschnittlich unter einer Million pro Blüte. LX4630 und die Mischung aus LX4630 verzögerten die Erregerentwicklung am 1.5. sogar signifikant. Alle Behandlungen reduzierten die epiphytische Erregermenge am 3.5. tendenziell. (Abbildung 12). Die Erregerabundanz in den Varianten entsprach am Blühende somit der gefundenen Symptomreduktion (Tabelle 4).

In 6 der 8 Freilandversuche gab es ähnliche Verläufe bei der Erregerentwicklung wie in Darmstadt 2010. Ausnahmen waren die Versuche in Mühlingen 2009 und 2010, in denen die Abundanz vom *E. amylovora* in den unbehandelten Parzellen über die gesamte Blühperiode jeweils nicht auf 10.000 Zellen/Blüte anstieg. In diesen beiden Versuchen war dann auch der Befall unter 1% befallener Blütenbüschel.

In insgesamt 16 Freilandversuchen zur Feuerbrandbekämpfung wurde sowohl der Befall in unbehandelten Parzellen bonitiert, als auch die Erregerdichte über die Blüte mit der qPCR gemessen. Berücksichtigt sind jeweils nur die nicht inokulierten Bäume. 9 dieser Versuche wurden im Rahmen des Projektes durchgeführt. 7 weitere Datensätze wurden im Rahmen von im BLE und im Interreg IV durchgeführten Versuchen erarbeitet (Kunz, Scheer, Höfert, Vögele, unveröffentlichte Daten). Die 16 Datensätze ergaben eine Korrelation zwischen der Erregermenge in den Blüten und dem Befall in der Anlage (Abbildung 13). Für den von der EPPO-Richtlinie geforderten Mindestbefall von 5%, war eine Erregerdichte auf den Blüten von über 5.000 Zellen/Blüte notwendig. Bei geringeren Zellzahlen war kein oder nur sporadischer Befall zu finden.

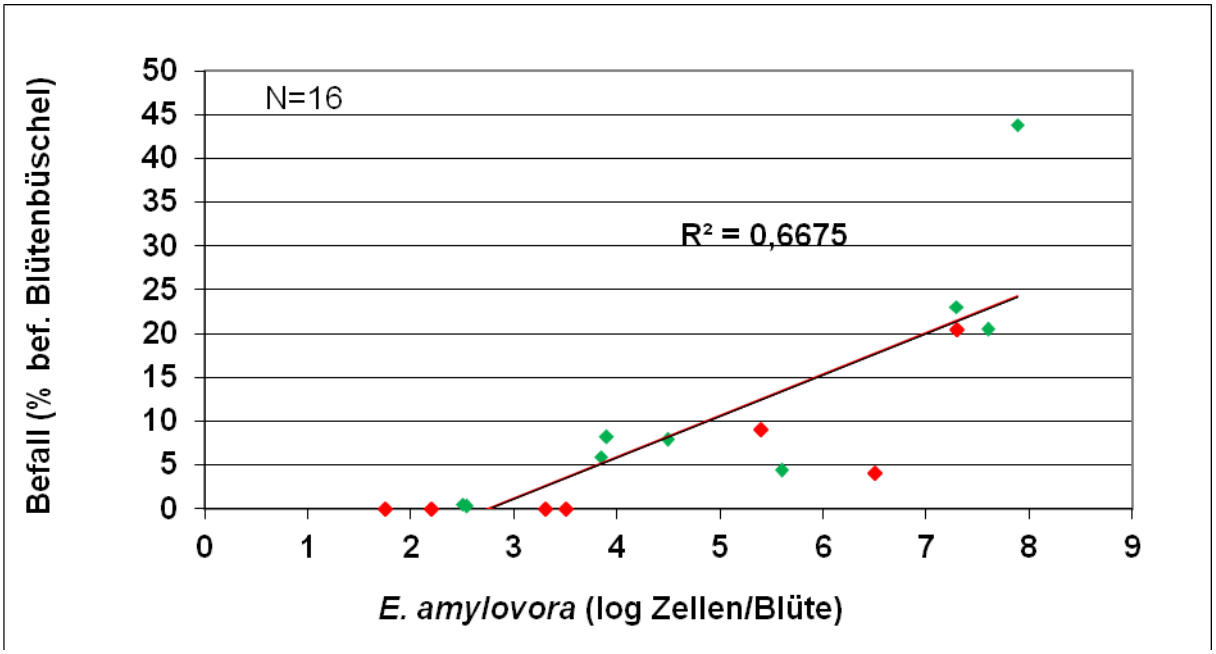


Abbildung 13: Korrelation zwischen dem Befall (% befallene Blütenbüschel) und der mit qPCR maximal gemessenen Erregerdichte (log (Zellen/Blüte) auf den Blüten in 16 Freilandversuchen im Rahmen des BÖL_Projektes (grüne Punkte) und in anderen Projekten (rote Punkte).

Stellt sich die Frage, ob eine wirksame Behandlung die Erregerdichte in den Blüten unter den Schwellenwert von 5.000 Zellen/Blüte reduzieren muss.

Für die 6 Freilandversuche, in denen eine Erregervermehrung in den Blüten gemessen wurde, ist die Reduktion der Zellzahl durch die Behandlung als Quotient aus Zellzahl pro Blüte in behandelt und Zellzahl pro Blüte in unbehandelt in Tabelle 7 aufgeführt. Es wurde jeweils der letzte Probenahmetag am Blühende berücksichtigt. Z.B. reduzierte BlossomProtect die Zellzahl in Darmstadt 2011 nicht. Es ergab sich ein Quotient kleiner 1. In Karsee 2007 wurde die Zellzahl um drei Zehnerpotenzen reduziert. Es ergab sich ein Quotient von über 1.000. In zwei der 6 Versuche reduzierte BlossomProtect die Erregerzahl signifikant. In drei weiteren ergab sich eine tendenzielle Reduktion der Erregermenge. In diesen 5 Versuchen wurden die Symptome signifikant reduziert. Selbst in dem Versuch, in dem die Erregermenge nicht reduziert wurde, ergab sich noch eine signifikante Reduktion der Symptome. Auch Myco-Sin und LX4630, die beide auch über den sau-

ren pH-Wert wirken, reduzierten die Erregermenge auf den Blüten tendenziell. Über alle Behandlungen und Strategien gesehen, ergibt sich kein klarer Zusammenhang zwischen dem Wirkungsgrad und der Reduktion der Erregermenge (Tabelle 7). So wurde mit der Strategie Vacciplant-BlossomProtect ein Wirkungsgrad von 90 erreicht, obwohl die Erregermenge nur um Faktor 4 reduziert wurde. Für eine Einzelbewertung liegen für die meisten Präparate und Strategien zu wenige Messwerte vor.

Tabelle 7: Reduktion der Erregerzellzahl auf behandelten Blüten (Quotient: Zellzahl pro Blüte in behandelt/Zellzahl pro Blüte in unbehandelt) und Symptomreduktion (Wirkungsgrad in %) in den Freilandversuchen. Die Erregerzellzahl wurde jeweils am Ende der Blüte gemessen. Signifikant Unterschiede zur unbehandelten Kontrolle sind rot markiert.

		Karsee 07	Karsee 08	Darmst. 09	Darmst. 10	Darmst. 2011	Mühlingen 2011
unbehandelt	Befall	11,2	4,4	20,5	23	43,8	7,8
	Zellen/Blüte	9,3E+05	1,8E+05	3,8E+07	2,0E+07	7,9E+07	3,1E+04
BlossomProtect	WG (%)	89	80	81	82	47	91
	Quotient	4898	123	78	48	0,8	16
Mycosin	WG (%)	74				37	
	Quotient	63				26	
LX4630	WG (%)				82	38	
	Quotient				43	8	
Funguran	WG (%)	38					
	Quotient	7					
Cueva (100gRK/ha)	WG (%)		41				
	Quotient		23				
Temauxin A	WG (%)			38			
	Quotient			2			
Chitoplant	WG (%)					12	52
	Quotient					0,8	8
BlossomProtect alt. MycoSin/NS	WG (%)			74			76
	Quotient			25704			11
Temauxin alt BlossomProtect	WG (%)			78			
	Quotient			776			
BlossomProtect alt. Cueva	WG (%)		57				
	Quotient		23				
LX4630+Myco-Sin	WG (%)				90		
	Quotient				35		
BlossomProtect+NS	WG (%)				74		89
	Quotient				21		11
BoniProtect+ OmniProtect+NS	WG (%)						49
	Quotient						7
Vacciplant alt BlossomProtect	WG (%)						90
	Quotient						4

Mit Präparaten und Strategien wurden hohe Wirkungsgrade erzielt auch wenn die Erregermenge nicht unter 5.000 pro Blüte reduziert wurde (Abbildung 14). Vor allem BlossomProtect und mit Strategien, die BlossomProtect in der Spritzfolge hatten, ergaben sich hohe Wirkungsgrade selbst bei Erregermengen von bis zu 10^6 Zellen pro Blüte. Aber auch bei LX4630, Myco-Sin oder einer Mischung aus beiden konnten trotz hoher Erregerdichten in behandelten Blüten hohe Wirkungsgrade erzielt werden. Somit gilt für behandelte Blüten, die für unbehandelte Blüten festgestellte Korrelation zwischen Erregermenge und Befall (Abbildung 12) nicht.

Neben der Reduktion des Erregerwachstums auf den Blüten durch die Präparate, muss also noch ein weiterer Wirkmechanismus postuliert werden.

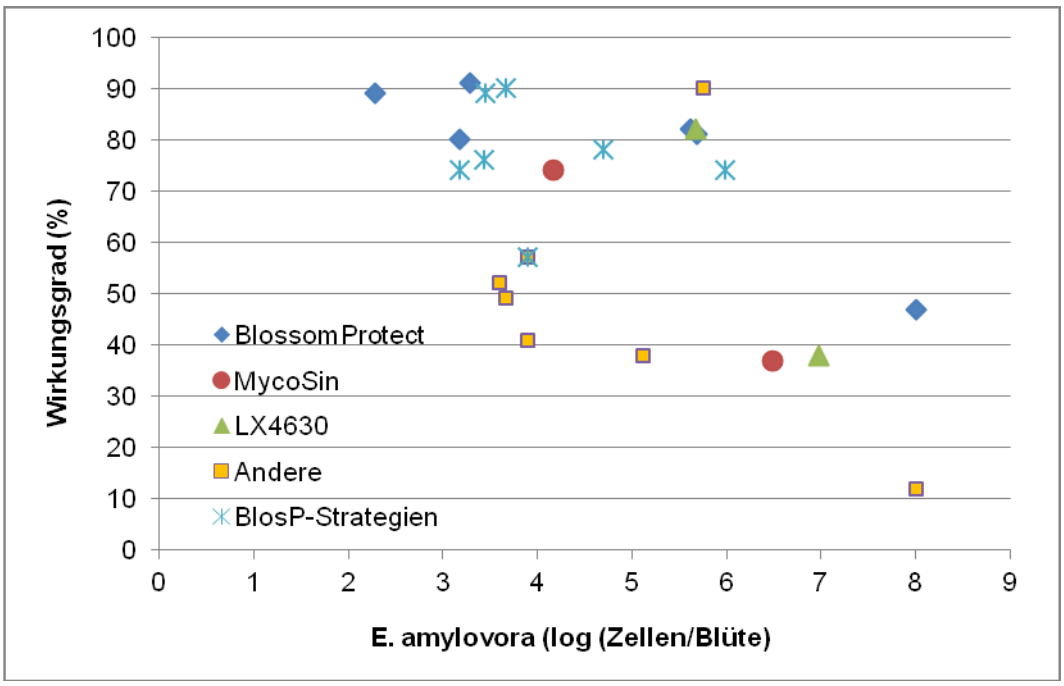


Abbildung 14: Wirkungsgrad eines Präparates oder einer Strategie und die mit qPCR maximal gemessenen Erregerdichte (log (Zellen/Blüte) auf den behandelten Blüten in Freilandversuchen.

E. amylovora dringt über die Nektarthoden in die Blüte ein (Wilson, Sigee 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, LX4630 oder BlossomProtect gelingt den pH-Wert im Nektar unter 5 zu drücken, wäre die Chemotaxis von *E. amylovora* gestört und dadurch die Infektion verhindert, obwohl der Erreger sich epiphytisch vermehrt.

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 Erregervermehrung auf den Narben nachhaltig zu unterbinden, wird so eine Infektion verhindert.

Dies könnte auch für alle anderen pH-absenkenden Präparate gelten, wenn die pH-Absenkung im Nektar ausreichend und anhaltend ist.

4.1.3 Kombination verschiedener Wirkungsmechanismen

Tabelle 8: Wirksamkeit ± Standardabweichung (Anzahl der Wiederholungen) von im Blütensystem getesteten Mischungen und deren Einzelkomponenten. Verschiedene Versuchsreihen sind mit unterschiedlichen Farben unterlegt.

Präparate	**Konz. %**	**Blüten** Wirkung (%)
BlossomProtect	1,2	**82**±8 (3)
BlossomProtect + Cutisan	1,2+0,3	**75**±16 (3)
BlossomProtect + Cutisan	1,2+1,5	**78**±7 (3)
BlossomProtect + AlgoVital	1,2+0,4	**76**±10 (3)
BlossomProtect + Netzschwefel Stulln	1,2+0,3	**78**±16 (3)
BlossomProtect + Temauxin A	1,2+2,0	**43**±6 (4)
BlossomProtect	1,2	**84**±9 (4)
BlossomProtect + Mycosin	1,2+1,0	**91**±7 (4)
BlossomProtect + Mycosin+ Netzschwefel Stulln	1,2+1,0+0,3	**91**±7 (4)
BlossomProtect + Vacciplant	1,2+0,075	**81**±11 (4)
BlossomProtect + Funguran	1,2+0,044	**88**±16 (4)
Funguran	0,044	**55**±28 (4)
OmniProtect + Netzschwefel Stulln	0,5+0,3	**0**±12 (3)
BoniProtect	0,15	**65**±25 (16)
OmniProtect + Netzschwefel Stulln +BoniProtect	0,5+0,3+0,1	**93**±5 (4)
LX4630 +MycoSin	1,5+1,0	**91**±11 (6)
Myco-Sin + Netzschwefel Stulln	1,0+0,3	**75**±27 (7)
Myco-Sin + Temauxin A	1,0+2,0	**89**±6 (3)
LX4630	1,5	**78**±23 (6)
Myco-Sin	1,0	**69**±21 (20)
Temauxin A	2,0	**47**±14 (3)
Antica + ChitoPlant 50 Flüssigkonz.	0,5+0,05	**12**±8 (4)

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 bzw. Hersteller- und Literaturangaben berücksichtigt. Der in BlossomProtect enthaltene *Aureobasidium pullulans* wird von Serenade, FolanxCa29, LX4630 oder Chitoplant gehemmt, aber nicht von Myco-Sin, Vacciplant oder Kupferpräparaten mit Ausnahme von Cueva (http://www.bio-ferm.com, 22.12.2011). Der in Serenade enthaltene *Bacillus subtilis* wird von allen sauren Präparaten (pH-Wert<6) und von Kupferpräparaten gehemmt (Kunz, Mendgen et al. 2009).

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 8). BlossomProtect wurde nicht durch die Zugabe von Netzschwefel Stulln, Vacciplant, Funguran oder die für eine Berostungminderung verwendeten Cutisan oder AlgoVital beeinträchtigt. Die Zugabe von Myco-Sin zu BlossomProtect erhöhte die Wirkung tendenziell. Temauxin A reduzierte die Wirkung von BlossomProtect deutlich (Tabelle 8). Temauxin A und BlossomProtect sollten deshalb nur in Strategien kombiniert aber nicht in Tankmischungen ausgebracht werden.

Mischungen aus Myco-Sin, Temauxin A und LX4630 ergaben meist höhere Wirkungen als die des wirksamsten Mischungspartners. Auch die Zugabe von Netzschwefel Stulln zu Myco-Sin verbesserte die Wirkung tendenziell. Die Mischungen von Myco-Sin mit Kupferpräparaten führte zu einer Reduktion der Wirkung (Kunz, Mendgen et al. 2009).

Die Mischung aus BoniProtect+OmniPortect+Netzschwefel Stulln hatte im Vergleich zu den Einzelkomponenten eine sehr gute Wirkung im Blütensystem (Tabelle 8). Leider bestätigte sich dies im Freilandversuch nicht.

Tabelle 9: 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. PT zeigt erhöhte Gefahr der Pytotox.

	Kupfer	Myco-Sin	Serenade	Blossom-Protect	FolanxCa 29/ LX4630
Myco-Sin	PT		pH	+	+
Serenade	tox	pH		pH	pH
BlossomProtect	PT	+	pH		tox
FolanxCa29 LX4630	PT	+	pH	tox	
Temauxin A	PT	+	tox	-	+
Vacciplant				+	

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.

Für die Praxis relevant ist vor allem die Mischbarkeit von BlossomProtect mit Netzschwefel Stulln und die erhöhte Wirksamkeit von Mischungen aus Myco-Sin mit anderen sauren Präparaten (Temauxin A, LX4630, Folanx Ca29 oder BlossomProtect).

4.1.4 Einfluss von Behandlungen auf die Fruchtberostung

Aus den Ergebnissen aus den Freilandversuchen zur Feuerbrandbekämpfung zeigte sich, dass BlossomProtect das wirksamste Präparat war, gefolgt von Myco-Sin, Serenade und Kupferpräparaten. Der Einsatz von BlossomProtect oder Kupfer erhöhten aber im bisherigen Projekt in einem Versuch die Fruchtberostung signifikant (Kunz, Mendgen et al. 2009). In 2007 führten 4 Behandlungen mit 0,03% Funguran oder 1,2% BlossomProtect an der Sorte Jonagold zu einer signifikanten Mehrberostung der Früchte. Der Zusatz von Cutisan zu BlossomProtect reduzierte die Berostung signifikant. Der Zusatz von Cutisan zu Funguran hatte keinen Effekt. 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 der Sorte Sansa war die Mehrberostung 2007 nach 2 Behandlungen tendenziell und 2008 nach 3 Behandlungen signifikant sichtbar (Kunz, Mendgen et al. 2009). Die Auswirkung von BlossomProtect oder Kupfer auf die Fruchtberostung war also von der behandelten Sorte, der Anwendungshäufigkeit und von Mischungspartnern abhängig.

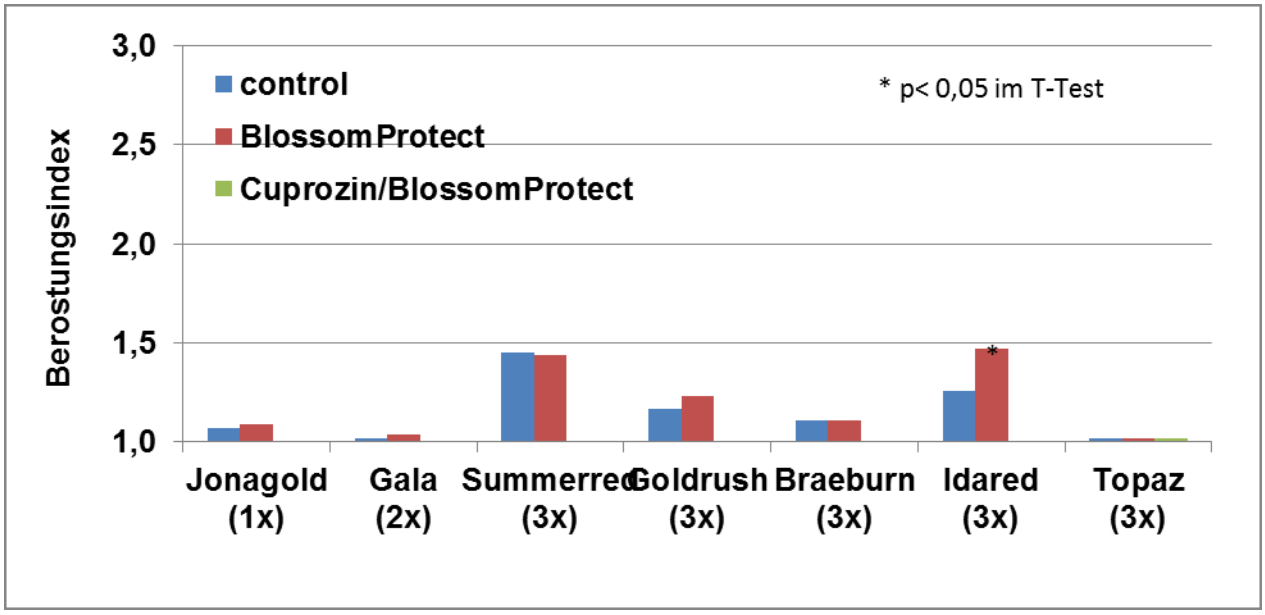


Abbildung 15: Berostungsindices in unbehandelten und mit 1,2% BlossomProtect behandelten Parzellen verschiedener Apfelsorten am Standort Lindau 2009. In Gala wurden während der Blüte zwei in allen anderen Sorten drei Behandlungen ausgebracht. An Topaz wurde zusätzlich Eine Tankmischung aus 1,2% BlossomPortect und 0,08% Cuprozin eingesetzt. * markiert signifikante Unterschiede innerhalb einer Sorte im T-Test (p≤0,05).

2009 bis 2011 wurde deshalb der Einfluss von Behandlungen und Behandlungsstrategien auf die Fruchtberostung in weiteren Freilandversuchen geprüft.

Einfluss der Apfelsorte: In 2009 wurde BlossomProtect in Lindau auf 6 verschiedenen Apfelsorten eingesetzt. An der Sorte Topaz wurde in den unbehandelten Parzellen ein durchschnittlicher Berostungsindex von 1,02 ermittelt. Durch drei Behandlungen mit 1,2% BlossomProtect oder durch eine Mischung aus BlossomProtect und 0,08% Cuprozin SC wurde der Berostungsindex nicht erhöht (Abbildung 15). An der Sorten Summerred, Goldrush, Braeburn und Idared wurden je 3 Behandlungen mit BlossomProtect ausgebracht. An der Sorte Gala zwei Behandlungen. Die Berostung war mit Indices zwischen 1,0 und 1,45 auf niedrigem Niveau. Bei Idared wurde die Berostung durch die drei Behandlungen mit BlossomProtect signifikant von 1,26 auf 1,47 erhöht. Bei den anderen Sorten hatte BlossomProtect keinen signifikanten Einfluss auf die Fruchtberostung. (Abbildung 15).

Applikationstechnik: In 2009 und 2010 wurde in insgesamt vier Versuchen an den Sorten Jonagold und Discovery der Einfluss der Applikationstechnik, mit der BlossomProtect ausgebracht wurde, auf die Fruchtberostung untersucht. Die in den Berostungsversuchen standardmäßig verwendete Ausbringung mit der Motorrückenspritze mit ca. 1.000 l Wasser pro ha wurde mit der praxisüblichen Spritztechnik (Feinsprühen mit 180l Wasser pro ha in Lindau und Wasserburg; 300l/ha auf der Mainau) verglichen. Dabei waren die Versuchsvarianten mit der Rückenspritze und unbehandelt in einem randomisierten Blockdesign angelegt, und die Variante „feinsprühen“ in den daran angrenzenden Reihen ausgebracht worden.

In den vier Versuchen wurden in den unbehandelten Varianten Berostungsindices zwischen 1,07 und 2,21 errechnet. Nur auf der Mainau 2010 führte die Applikation von BlossomProtect mit der Rückenspritze zu einer signifikanten Mehrberostung. In diesem Versuch war die Berostung nach Ausbringung von BlossomProtect mit dem Praxissprühgerät tendenziell geringer, so dass sich zwischen unbehandelt und „Feinsprühen“ kein signifikanter Unterschied ergab. In den anderen drei Versuchen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten (Tabelle 10).

Die Messung der Konzentration des in BlossomProtect enthaltenen *A. pullulans* Stammes DSM14940 in den Blüten mit qPCR (Sickinger 2008) ergab an keinem der Standorte signifikante Unterschiede zwischen den Ausbringen mit der Rückenspritze und Ausbringen mit Feinsprühen. Mit beiden Applikationstechniken wurde also gleich viel Präparat in die Blüten gebracht, so dass auch von einer gleichen Wirkung ausgegangen werden kann. Das Feinsprühen kann für die Ausbringung von BlossomProtect empfohlen werden.

Mischungen und Strategien: 2009 wurden in Lindau an der Sorte Jonagold Behandlungsstrategien geprüft. Dabei wurde BlossomProtect mit verschiedenen Zusätzen (Netzschwefel oder AlgoVital plus) bei Feuerbrandgefahr eingesetzt und eine Myco-Sin/Netzschwefel Mischung bei Schorfgefahr. Am Standort waren eine Feuerbrandbehandlung und zwei Schorfbehandlungen notwendig. In den unbehandelten Parzellen wurde ein durchschnittlicher Berostungsindex von 1,07 ermittelt. Durch eine Behandlung mit BlossomProtect und zwei Behandlungen mit Myco-Sin/Netzschwefel erhöhte sich der Berostungsindex nicht signifikant auf 1,12. Der Zusatz von AlgoVital oder Netzschwefel Stulln zu BlossomProtect hatte bei nur einer Behandlung keinen Einfluss auf die Fruchtberostung (Tabelle 10).

Die Mischung aus BlossomProtect und Kupfer (200g Reinkupfer/ha) wurde in 3 Versuchen geprüft. Bei der Sorte Topaz führten 3 Behandlungen nicht zu einer signifikanten Mehrberostung, wogegen bei Jonagold sowohl in Lindau 2010 als auch in Wasserburg 2011 die Fruchtberostung nach zwei bzw. drei Behandlungen mit der Mischung signifikant höher war als in Unbehandelt oder in der nur mit BlossomProtect behandelten Variante (Tabelle 10).

Tabelle 10: Berostungsindex nach unterschiedlichen Behandlungen in der Blühperiode. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede im Tukey`s Multiple Comparison Test ($p \leq 0.05$) innerhalb eines Versuches.

Standort und Jahr	Lindau 09	Lindau 09	Lindau 10	Wasserburg 10	Mainau 10	Lindau 11	Wasserburg 11
Sorte	Topaz	Jonagold	Jonagold	Jonagold	Discovery	Jonagold	Jonagold
Anzahl der Behandlungen	3	1	2	2	3	3	3
Bonitur	18.9.	18.9.	6.9.	6.9.	30.7.	25.8.	25.8.
Unbehandelt	1,02 (a)	1,07 (a)	1,62 (a)	2,21 (a)	1,39 (a)	1,05 (a)	1,15 (a)
BlossomProtect (1,2%)	1,02 (a)	1,12 (a)	1,70 (a)	2,26 (a)	1,68 (b)	1,13 (ab)	1,25 (ab)
BlossomProtect (1,2%) feinsprühen		1,09 (a)	1,82 (ab)	2,29 (a)	1,55 (ab)		
BlossomProtect (1,2%) und AlgoVital Plus (0,4%)		1,12 (a)					
BlossomProtect (1,2%)+ Kupfer (200gRK/ha)	1,02 (a)		2,03 (b)				1,41 (b)
BlossomProtect (1,2%) + Netzschwefel Stulln (0,25%)		1,11 (a)					
Strategie Myco-Sin/NS alt. BlossomProtect		1,12 (a)					
Tankmischung BoniProtect+Netzschwefel+Omni Protect			1,65 (a)	2,53 (a)		1,30 (b)	
Vacciplant (0,075%)			1,66 (a)				
LX4630 (1,5%)				2,38 (a)			
LX4630 (1,5%)+MycoSin (1,0%)				2,17 (a)			
Strategie Vacciplant - BlossomProtect				2,38 (a)		1,22 (ab)	
Tankmischung: Vacciplant und BlossomProtect							1,32 (b)
Chitoplant (0,1%)						1,06 (a)	
Myco-Sin (1,0%) +Netzschwefel (0,3%)							1,09 (a)
Tankmischung: Myco-Sin+Netzschwefel+Vacciplant							1,13 (a)

Die Mischung aus BlossomProtect und Kupfer kann also nur an der Sorte Topaz empfohlen werden. Weder Vacciplant, Chitoplant noch LX4630 führten zu signifikanter Mehrberostung. Das

gleiche gilt auch für die Mischungen aus LX4630 + MycoSin, Myco-Sin+Netzschwefel und die Strategie Vacciplant – BlossomProtect (Tabelle 10). Allerdings müssten mit diesen Präparaten weitere Versuche an verschiedenen Sorten und mit häufigeren Behandlungen durchgeführt werden, damit eine Mehrberostung vollkommen ausgeschlossen werden kann. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von Chitoplant ist auch dieses Ergebnis zu überprüfen.

In 2011 wurde Vacciplant einmal zum Stadium rote Knospe solo eingesetzt (11.4.) und während der Blüte dreimal in Tankmischung mit BlossomProtect. Alle anderen Behandlungen wurden dreimal ausgebracht (18.4.; 20.4. 23.4.). In der unbehandelten Variante wurde ein Berostungsindex von 1,05 errechnet. BlossomProtect erhöhte den Berostungsindex auf 1,13 und die Kombination Vacciplant mit BlossomProtect erhöhte den Berostungsindex signifikant auf 1,22. Der dreimalige Einsatz der Mischung aus OmniPortect + Netzschwefel Stulln +BoniProtect führte auch zu einer signifikanten Erhöhung der Fruchtberostung auf 1,30 (Tabelle 10). Beide Mischungen können zur Feuerbrandbekämpfung während der Blüte nicht empfohlen werden.

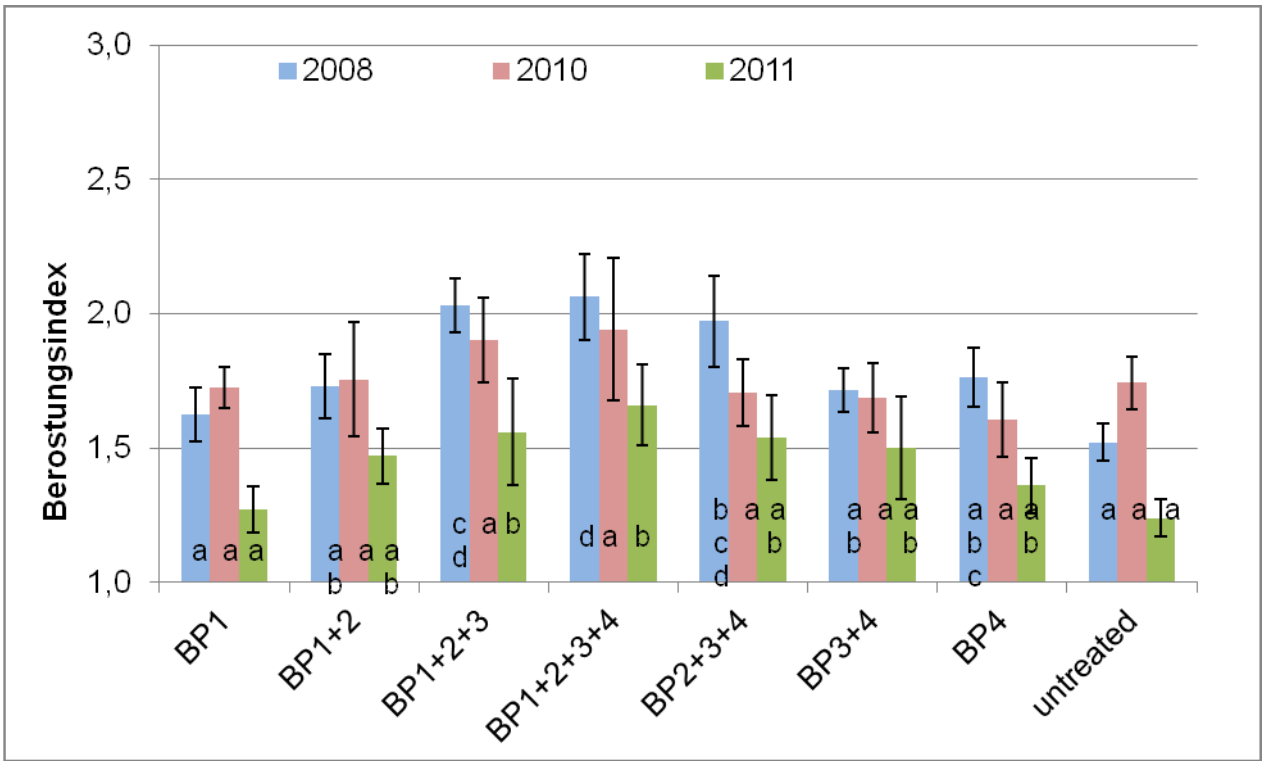


Abbildung 16: Berostungsindices an der Sorte Santana nach 1 bis 4 Behandlung mit 1,2% BlossomProtect zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Blühperioden in 2008, 2010 und 2011. Angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichung aus 4 Wiederholungen. Unterschiedliche Buchstaben zeigen einen signifikanten Unterschied nach einfaktorieller Varianzanalyse im Tukey`s Multiple Comparison Test (p<0,05) innerhalb des Jahres.

Anwendungshäufigkeit: Auf der Insel Mainau wurde 2008, 2009, 2010 und 2011 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 jeweils 8 Versuchsglieder (Abbildung 16). Der Versuch in 2009

konnte wegen Hagels nicht ausgewertet werden. In den anderen drei Versuchsjahren war die von BlossomProtect verursachte Mehrberostung jeweils von der Anzahl der Behandlungen abhängig. 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 2008 und 2011 jeweils zu einer signifikanten Mehrberostung der Früchte (Abbildung 16).

In 2010 war bei der Auswertung am 24.08. auffällig, dass in einer Reihe in 3 nebeneinander liegende Parzellen die Bäume am Absterben waren. Wahrscheinlich durch Mäusefraß an den Wurzeln. Diese Parzellen konnten nicht ausgewertet werden, so dass für diese Varianten nur drei Wiederholungen vorlagen. Dadurch ergab die statistische Auswertung in 2010 keine signifikanten Mehrberostungen. Tendenziell war die Berostung in der viermal behandelten Variante höher als in unbehandelt. In der Tendenz wurden die Ergebnisse der Jahre 2008 und 2011 bestätigt (Abbildung 16).

- Die Versuche zur Mehrberostung bestätigten die bisherigen Ergebnisse (Kunz, Mendgen et al. 2009; Kunz, Schmitt et al. 2011):
    - BlossomProtect kann ab 3 Behandlungen bei berostungsempfindlichen Sorten zu signifikanter Mehrberostung führen.
    - BlossomProtect+Kupfer kann auch bei nur zwei Behandlungen zu signifikanter Mehrberostung führen. Diese Kombination ist nur auf Topaz zu empfehlen.
    - Myco-Sin+Netzschwefel erhöht die Berostung nicht.
    - Kombinationen mit Vacciplant erhöhen die Berostungsgefahr, wenn Behandlungen auch während der Blüte durchgeführt werden.
    - Die Mischung aus BoniProtect+OmniPortect+Netzschwefel Stulln erhöht die Berostungsgefahr. Diese Mischung ist nicht zu empfehlen, da auch die Wirkung nicht ausreichend war.

4.1.5 Entwicklung und Prüfung von Anwendungsstrategien

BlossomProtect war in den Freilandversuchen das wirksamste Präparat (Tabelle 4). 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. Dieser häufige Einsatz führt in der Praxis aber zu Problemen.

- Häufige Behandlungen mit BlossomProtect können zu einer Mehrberostung der Früchte führen.
- Die Behandlungen mit BlossomProtect müssen mit anderen Pflanzenschutzmaßnahmen vor allem mit der Schorfbekämpfung abgestimmt werden.

Deshalb ist 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 11). Der Zusatz von Cutisan zu BlossomProtect in geringer Aufwandmenge kann also zur Reduktion des Berostungsrisikos empfohlen werden.

Zur Schorfbekämpfung wird im ökologischen Obstbau während der Blüte hauptsächlich Netzschwefel oder Schwefelkalk eingesetzt. Die Integration der BlossomProtect Anwendungen in die Schorfbekämpfung war deshalb notwendig.

Ein alternierender Einsatz von BlossomProtect mit Netzschwefel wird empfohlen. Netzschwefel wurde in den Versuchen bis zu 2h vor der BlossomProtect Behandlung eingesetzt, ohne dessen Wirksamkeit gegen Feuerbrand zu reduzieren (Tabelle 11). 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.

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 8). Auch in drei Freilandversuchen war die Mischung aus Netzschwefel und BlossomProtect nur geringfügig weniger wirksam gegen Feuerbrand als BlossomProtect alleine (Tabelle 11).

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 vier Versuchen ihre gute Feuerbrandwirksamkeit.

Eine weitere Strategie könnte der Einsatz eines Resistenzinduktors (Vacciplant, Temauxin A) vor der Blüte mit anschließenden Behandlungen mit BlossomProtect oder Myco-Sin sein. In bisher je einem Freilandversuch wurde durch den zusätzlichen Einsatz der Resistenzinduktoren jedoch keine deutliche Wirksamkeitssteigerung gegenüber dem alleinigen BlossomProtect Einsatz festgestellt (Tabelle 11). Der Nutzen von Resistenzinduktoren konnte also bisher weder in Blütenversuchen (Kunz, Mendgen et al. 2009), bei der Inokulation von Trieben (Tabelle 5) noch in Freilandversuchen nachgewiesen werden.

Die Verwendung einer Mischung aus Myco-Sin mit LX4630 zeigte eine gute Wirkung im Freilandversuch. Statt LX4630 könnte auch Folanx Ca29 oder Temauxin A in Mischung mit Myco-Sin zum Einsatz kommen. Für keinen dieser drei Mischungspartner liegt momentan eine Legitimation zum Einsatz im ökologischen Obstbau vor. Da alle diese Präparate über eine pH-Wert Absenkung wirken, könnte der bessere Effekt der Mischung auf der höheren Konzentration der pH-aktiven Stoffe beruhen. Dann könnte eventuell mit einer Erhöhung der Aufwandmenge von Myco-Sin derselbe Effekt erreicht werden.

Tabelle 11: Wirksamkeit (%) von Bekämpfungsstrategien gegen Feuerbrand in den Freilandversuchen: Die Anzahl der Behandlungen wird in Klammer angegeben. Rote Zahlen zeigen einen signifikanten Unterschied zur unbehandelten Kontrolle im T-Test ($p<0,05$). „+“ steht für gemeinsame, „abw.“ für alternierende Ausbringung.

Strategie	Konz. %	Kar-see 04	Karsee 06	Darm-stadt 06	Darm-stadt 07	Karsee 07	Darm-stadt 08	Karsee 08	Darm-stadt 09	Darm-stadt 10	Müh-lingen 11
BlossomProtect	1,2	85 (4)	86 (4)	85 (4)	82**	89 (4) 83 (3)	56 (4)	80 (4)	81 (4)	82 (4)	91 (4) 84 (3)
Myco-Sin	1,0	56 (4)	60 (4)	80 (4)		74 (4)					
BlossomPr. + Cutisan	1,2+1,5		77 (4)			74 (4)					
BlossomPr. + Cutisan	1,2+0,3						65 (4)				
BlossomProtect abw. Netzschwefel Stulln	1,2 0,25		88 (4) (3)	85 (4) (1)		84 (3) (3)					
BlossomProtect + Netzschwefel Stulln	1,2 0,25							80 (4) (4)		74 (4) (4)	89 (4)
BlossomProtect abw. Schwefelkalk	1,2 1,5	68 (4) (4)		87 (3) (1)		77 (3) (3)					
BlossomProtect abw. Netzschwefel Stulln + Myco-Sin	1,2 0,25+1,0					87 (3) (3)		70 (4) (2)	74 (2) (2)		76 (2) (2)
Temauxin vor BlossomProtect	2,0 1,2								78 (2) (3)		
Vacciplant vor BlossomProtect	0,075 1,2										90 (2) (3)
LX4630+MycoSin	1,5+1,0									90 (4)	

4.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwendbarkeit der Ergebnisse

4.2.1 Möglichkeiten der Umsetzung der Ergebnisse

Die im Berichtszeitraum (2009-2011) erzielten Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit den im davor über 5 Jahren abgewickelten Projekt gesehen werden (Kunz, Mendgen et al. 2009), da viele Versuche auf den Erfahrungen aus dem vorangegangenen Projekt aufbauten. Die Darstellung der Umsetzungsmöglichkeiten bezieht sich deshalb auf die Ergebnisse aus der gesamten Projektlaufzeit (2004-2011).

4.2.1.1 Testsysteme

Im Projekt wurde ein dreistufiges Testverfahren entwickelt:

Schüttelkolbentest, 2. Blütentest im Labor, 3. Freilandversuche

Durch die systematische Prüfung von vielen Präparten, konnte gezeigt werden, dass die Wirkung über die drei Stufen geringer wird und dass es vor allem zwischen Blütentest und Freilandversuch eine gute Korrelation gibt. Das bedeutet, dass die beiden ersten Stufen zur Selektion von Präparate verwendet werden können.

Der Vortest im Blütensystem wird inzwischen von den meisten Versuchsanstellern verlangt, bevor Präparate in aufwändigen Freilandversuchen eingesetzt werden. Die Firma Bio-Protect GmbH hat die Testsysteme in ihrem Labor etabliert und bietet die Durchführung der Tests als Dienstleistung an. So haben Firmen, die an der Entwicklung von neuen Feuerbrandpräparaten arbeiten, die Möglichkeit über diese Testsysteme eine Vorauswahl an Wirkstoffen und Formulierungen zu treffen und nur mit wirksamen Präparaten in die Freilandversuche zu gehen.

4.2.1.2 Korrelation zwischen Erregerabundanz und Befall

In Kooperation mit dem vom BLE geförderten Projekt 06HS032, in dem Methoden zum Erregernachweis in Blüten entwickelt wurden (Voegele, Kunz et al. 2010), wurden in unserem Projekt die Erregerabundanz in den Freilandversuchen in unbehandelten und behandelten Blüten gemessen.

Es zeigt sich eine gute Korrelation zwischen Erregermenge in den Blüten und dem späteren Befall in unbehandelten Parzellen. Wenn während der Blüte nicht mindestens 5.000 Erreger pro Blüte nachgewiesen werden, gibt es keinen oder nur sporadischen Befall. Basierend auf dieser Korrelation wäre ein anlagenspezifisches Monitoring möglich, um die Notwendigkeit von Bekämpfungsmaßnahmen zu prüfen. Behandlungen sind nur notwendig, wenn tatsächlich Erreger in der Anlage nachgewiesen werden. Allerdings ist eine anlagenspezifische Überprüfung mit den momentanen Techniken (qPCR) teurer als die Behandlung. Deshalb werden die Erkenntnisse aus der Erregermessung bisher nicht anlagenspezifisch, aber in einem überregionalen Monitoring im Bodenseegebiet (Schweiz, Deutschland, Österreich) umgesetzt. Dieses gibt dann eine allgemeine Einschätzung des Infektionspotenzials zusätzlich zu den über Wetterdaten errechneten Infektionsrisiken.

4.2.1.3 Direkte Feuerbrandbekämpfungsstrategien

Die Umsetzung der in diesem Projekt als wirksam getesteten Strategien hängt auch an der Verfügbarkeit der entsprechenden Präparate. Zwar wurde bereits bei der Auswahl der Präparate auf

deren Verfügbarkeit im ökologischen Obstbau geachtet. Aufgrund von Gesetzesänderungen und der nicht Erteilung von beantragten Genehmigungen, sind nun doch nicht alle Präparate verfügbar.

FolanxCa29 ist ein Dünger, der aber im ökologischen Anbau momentan nicht eingesetzt werden darf. Auch für LX4630 und Temauxin A liegen keine Legitimationen vor, da den Anträgen auf Listung als Pflanzenstärkungsmittel nicht zugestimmt wurde.

BlossomProtect und Myco-Sin sind noch als Pflanzenstärkungsmittel in Deutschland gelistet. Für BlossomProtect ist der Antrag auf Aufnahme der Wirkorganismen auf Annex I gestellt und in mehreren Ländern liegen bereits nationale Zulassungen zum Pflanzenschutzmittel vor (Schweiz, Österreich, Italien, Frankreich). Auch in Deutschland ist ein Zulassungsantrag gestellt. Für Myco-Sin ist die Zukunft noch unklar. 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 in der Praxis in 2012 angewendet werden. Darüber hinaus ist eine langfristige Listung von Myco-Sin unbedingt notwendig.

Die Terminierung der Präparate nach Feuerbrandprognose, und deren Einsatz am Tag vor möglichen Infektionstagen, kann die Behandlungshäufigkeit je nach Witterung zusätzlich reduzieren. Ebenfalls zur Reduktion von Behandlungen beitragen kann ein Erregermonitoring in den Blüten. Nur wo Erreger nachgewiesen wird sind Behandlungen notwendig. Auch die Mischbarkeit von Netzschwefel mit BlossomProtect erleichtert die gleichzeitige Bekämpfung von Schorf und Feuerbrand in den Betrieben.

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

Während der Blühperiode 2011 stand der Projektleiter in engem Kontakt mit der Ökoanbauberatung, um die Bekämpfungsstrategien in den Betrieben umzusetzen und wird auch nach Ende des Projektes noch für Beratung zur Verfügung stehen.

4.2.2 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. Nach der Beschränkung von Streptomycin auf zwei Anwendungen pro Jahr, greift auch die Integrierte Produktion auf Bausteine der hier erarbeiteten Strategien zurück, um den gesamten Blühzeitraum abzudecken. 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 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.

4.2.3 Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Die Ergebnisse aus dem Projektzeitraum 2004-2008 waren im Abschlussbericht (Kunz, Mendgen et al. 2009) und in mehreren Publikationen (Kunz, vonEitzen-Ritter et al. 2004; Haug und Kunz 2005; Kunz 2006; Kunz und Haug 2006; Kunz, vonEitzenRitter et al. 2006; Kunz, Schmitt et al. 2008) zusammengefasst.

Das Ergebnis des Freilandversuches in Darmstadt 2010 wurde bei einer Versuchsbesichtigung in Kirschgartshausen am 3.6. 09 vorgestellt. Am Standort Mühlingen wurde zusammen mit dem Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee (KOB) Bavendorf, das an diesem Standort ebenfalls einen Versuch durchführte, eine Versuchsbesichtigung mit interessierten Fachleuten am 8.6.09 durchgeführt.

In der Zeitschrift Obstbau erschien im März 2009 eine Zusammenfassung der bis dahin gewonnen Ergebnisse in Freilandversuchen (Kunz, Haug et al. 2009). Im Oktober 2009 in Bologna, Italien und im Januar 2010 in Warschau, Polen sowie auf der ökologischen Obstbautagung des FIBL in Frick, Schweiz, wurden Ergebnisse aus dem Projekt jeweils auf Einladung des Veranstalters präsentiert. Eine weitere Präsentation erfolgte auf dem Feuerbrand Fünf-Länder Treffen vor Obstbauberatern aus Deutschland, Italien, Österreich, Lichtenstein und der Schweiz und auf der Ecofruit 2010. Im Tagungsband der Ecofruit sind die wichtigsten Ergebnisse der Freilandversuche aus 2008 und 2009 zusammengefasst (Kunz, Schmitt et al. 2010).

Die Ergebnisse wurden am 23. September 2009 auf dem Koordinationstreffen zu den parallel durch das BLE geförderten Verbundvorhaben zur „Bekämpfung des Feuerbranderregers im Obstbau ohne Antibiotika“ präsentiert. Die enge Zusammenarbeit mit anderen Projekten im Verbundvorhaben zeigt sich auch in der gemeinsamen Veröffentlichung von Daten auf der Ecofruit (Voegele, Kunz et al. 2010).

Das Ergebnis des Freilandversuches in Darmstadt 2010 wurde bei einer Versuchsbesichtigung in Kirschgartshausen am 8.6.2010 vorgestellt. Die Ergebnisse wurden 09. 06. 2010 auf dem Statusseminar „Feuerbrand“ auf Einladung vom BMELV in Bonn präsentiert.

Am 19. August 2010 wurden die Ergebnisse auf dem internationalen Feuerbrand Workshop in Warschau präsentiert. Der Tagungsband dieses Workshop ist als Sonderband der Acta Horticulturae publiziert (Kunz, Schmitt et al. 2011). Auf der dt. Pflanzenschutztagung in Berlin im September 2010 wurde ein Poster präsentiert. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse wurde im Tagungsband abgedruckt (Hinze, Haug et al. 2010). Eine weitere Präsentation erfolgte auf dem Feuerbrand Fünf-Länder Treffen auf der Laimburg in Südtirol vor Obstbauberatern aus Deutschland, Italien, Österreich, Lichtenstein und der Schweiz.

Am 6.6.2011 wurden die Ergebnisse der Freilandversuche in Darmstadt 2011 und Mühlingen 2011 bei einer Versuchsbesichtigung am Standort Mühlingen interessierten Beratern und Obstbauern präsentiert. Selbst aus der Schweiz, Österreich und aus Südtirol waren Berater angereist um an der gemeinsam mit dem KOB Bavendorf organisierten Veranstaltung teilzunehmen.

Am 30. August 2011 wurden die Ergebnisse auf dem internationalen IOBC-WPRS Workshop on Pome Fruit Diseases in Hasselt, präsentiert. Der Tagungsband dieses Workshop wird als Sonder-

band des IOBC-WPRS Bulleitn publiziert (Kunz, Schmitt et al. 2012). Eine weitere Präsentation erfolgte am 11.11.11 auf dem Feuerbrand Fünf-Länder Treffen in Wien vor Obstbauberatern aus Deutschland, Italien, Österreich, Lichtenstein und der Schweiz.

Für die Ecofruit 2012 wurde ein Vortrag angemeldet und ein Artikel mit den Ergebnissen aus 2011 eingereicht. Auf Einladung werden die Ergebnisse im Januar 2012 beim Bioland Seminar am Ritten (Bozen. Südtirol) und im Februar auf einem Praktikerseminar des Südtiroler Biohandels (Lana, Südtirol) präsentiert.

Für das Frühjahr 2012 wird eine Zusammenfassung des Abschlußberichtes in der Praktikerzeitschrift „ÖKOOBST“ erscheinen und eine Präsentation auf der dt. Pflanzenschutztagung im September 2012 ist angemeldet.

Jährlich wurden die Versuchsergebnisse der letzten Jahre bei der gemeinsamen Versuchsplanung im Februar der Feuerbrandversuchsansteller aus D, A und CH in Dossenheim eingebracht. Versuchspläne wurden mit anderen Versuchsanstellern abgestimmt.

In mehreren Treffen wurden die Ergebnisse und die Anwendungsstrategien mit den Ökoobstbauberatern vom Beratungsring, Vertretern der FÖKO, Ökoberatern aus der Schweiz, Österreich und Italien diskutiert, so dass die in diesem Projekt entwickelten Anwendungsstrategien in den letzten Jahren für die Praxis entsprechend empfohlen und umgesetzt wurden.

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten und den tatsächlich erreichten Zielen

Das Ziel war eine praxistaugliche Feuerbrandbekämpfungsstrategie für den Ökologischen Anbau zu entwickeln. Dazu wurden 64 Präparate getestet und von den wirksamen Präparaten auch der Wirkmechanismus untersucht. Freilandversuche zeigten dann, dass BlossomProtect das wirksamste Präparat ist, gefolgt von Myco-Sin und Kupfer. 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 vier Freilandversuchen erfolgreich getestet und auch bereits in der Praxis umgesetzt. Somit wurde das Ziel eine praxistaugliche Feuerbrandbekämpfungsstrategie zu entwickeln erfüllt.

6 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. Von 2004 bis 2008 wurde in einem von BÖL geförderten Projekt Methoden etabliert, Präparate getestet und Strategien entwickelt.

Aufbauend auf diese Ergebnisse wurden von 2009 bis 2011 20 weitere Präparate ins Versuchsprogramm aufgenommen. LX4630 und Chitoplant reduzierten die Symptombildung im Blütensystem und wurden auch in Freilandversuchen geprüft.

Die von den Herstellern als Resistenzinduktor bezeichneten Präparate wurden an inokulierten Trieben untersucht. Keines der Präparate konnte in diesem Testsystem die Symptomentwicklung signifikant reduzieren.

Untersuchungen zu den Wirkmechanismen ergaben, dass fast alle wirksamen Präparate einen sauren pH-Wert haben. Bei saurem pH wird die Vermehrung des Erregers gehemmt. So ergab die Messung der Erregermenge mit qPCR in den Freilandversuchen in den behandelten Blüten meist eine Reduktion des Erregerwachstums im Vergleich zu unbehandelten Blüten. Allerdings ist die epiphytische Erregerhemmung nicht in allen Fällen so stark, dass die gute Wirkung damit erklärt werden kann. Weitere Wirkmechanismen werden postuliert.

In den Freilandversuchen nach EPPO-Richtlinie PP1/166 (3) bestätigten sich die im Labor an Blüten gefundenen Ergebnisse für Chitoplant nicht. LX4630 zeigte eine gute Wirkung, welche durch Mischung mit Myco-Sin noch gesteigert werden konnte. Allerdings steht dieses Präparat für die Praxis noch nicht zur Verfügung. Über beide Projekte gesehen war BlossomProtect in den Freilandversuchen das wirksamste Präparat (78%). Das Gesteinsmehlpräparat Myco-Sin war mit durchschnittlich 61% Befallsreduktion wirksamer als von anderen Versuchsanstellern beschrieben (Durchschnitt 38% (Kunz und Haug 2006)).

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 seither pro Jahr mehrere Freilandversuche zur Berostung durchgeführt. Die durch Kupfer oder BlossomProtect hervorgerufene Mehrberostung ist sowohl von der Sorte als auch von der Behandlungshäufigkeit abhängig. Drei oder vier Behandlungen mit BlossomProtect erhöhten an der Sorte Santana über drei Jahre die Berostung signifikant, während eine oder zwei Behandlungen keine signifikante Mehrberostung verursachte. BlossomProtect sollte außer mit Netzschwefel nicht mit anderen Präparaten wie Kupfer oder Vacciplant gemischt werden, da dadurch das Berostungsrisiko steigt. Auf den bersotungsempfindlichen Sorten sollte die Anzahl der Behandlungen mit BlossomProtect 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. Deshalb wurde der alternierende Einsatz von Hefepräparaten und Schwefelpräparaten 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. Selbst der Einsatz einer Tankmischung aus Netzschwefel und BlossomProtect ist möglich.

Auf berostungsempfindlichen Sorten (Golden Delicious, Jonagold, Elstar, Santana, Sansa) sollte der Einsatz von BlossomProtect auf zwei Behandlungen pro Jahr reduziert werden. Der Einsatz nach Feuerbrandprognose am Tag vor erfüllten Infektionsbedingungen wird empfohlen. Wenn aufgrund der Witterung mehr Behandlungen 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 nur geringfügig weniger wirksam als der alleinige Einsatz von BlossomProtect. Die im Projekt entwickelten Strategien werden in der Praxis bereits umgesetzt.

7 Danksagung

Vielen Dank für die gute Zusammenarbeit an alle die dieses Forschungsprojekt unterstützt oder aktiv an den Versuchen mitgearbeitet haben. Insbesondere den Familien Blank (Fildenmoos), Haug (Lindau), Haug (Wasserburg) sowie der Mainau GmbH (Konstanz), Karin Bald, Christina Schuster (JKI Darmstadt), Ralf Vögele, Malin Hinze, Luise Olbrecht, Sonja Weisshaupt, Maren Sickinger, Isabelle Eisele, Annette Schmid, Martina Matschinsky, David Flügel, Otmar Ficht, Heinz Vahlenkamp, Mark van Kleunen (Universität Konstanz).

8 Literatur

Abbott, W. S. (1925). "A method of computing the effectiveness of an insecticide." Journal of Economic Entomology **18**: 265-267.

Baumgart, J., Ed. (1999). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Hamburg, B. Behr`s Verlag.

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.

Fried, A. (2002). "Feuerbrandbekämpfungsversuch 2002." Obstbau **27**(11): 551-555.

Fried, A. (2006). Freilandversuche zur Bekämpfung des Feuerbrands (Erwinia amylovora) 2005 und 2006. 55. Deutsche Pflanzenschutztagung in Göttingen 25.-28. September 2006. BBA. Göttingen, Parey Buchverlag. **400:** 402-403.

Fried, A. (2007). "Feuerbrand: Bekämpfungsversuch und Verträglichkeitsprüfung der Feuerbrand-Präparate 2006." Obstbau **32**(4): 204-208.

Fried, A. (2008). "Feuerbrand-Bekämpfungsversuch und Verträglichkeitsprüfung von Feuerbrandpräparaten 2007." Obstbau **33**(2): 72-75.

Fried, A. (2009). "Feuerbrand-Bekämpfungsversuch 2008." Obstbau **34**(1): 13-17.

Fried, A. (2010). "Feuerbrand-Bekämpfungsversuch 2009." Obstbau **35**(2): 75-79.

Fried, A., E. Lange, W. Jelkmann, E. Moltmann und A. Seibold (2004). "Ist eine Alternative zu Plantomycin in Sicht?" Obstbau **29**(3): 161-164.

Harzer, U. (2002). "Feuerbrand-Bekämpfungsversuch 2002." Obstbau **27**(11): 555-557.

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

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

Hinze, M., P. Haug, A. Schmitt, K. Bald, M. V. Eitzen-Ritter und S. Kunz (2010). Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau. 57. Deutsche Pflanzenschutztagung in Berlin 6.-9.September 2010. JKI. Berlin, Parey Buchverlag. **428:** 446-447.

Kunz, S. (2006). Fire blight control in organic fruit growing - systematic investigation of the mode of action of potential control agents. Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. W. Zeller und C. Ullrich. Berlin, Arno Brynda. **408:** 249-253.

Kunz, S. und P. Haug (2006). Development of a strategy for fire blight control in organic fruit growing. 12th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. FÖKO e.V. Weinsberg, FÖKO e.V.**:** 145-150.

Kunz, S., P. Haug und A. Schmitt (2009). "Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau." Obstbau **34**: 173-175.

Kunz, S., K. Mendgen, P. Haug und A. Schmitt (2009). Entwicklung von Strategien zur Feuerbrandbekämpfung im ökologischen Obstbau, Organic E-Prints.

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

Kunz, S., A. Schmitt und P. Haug (2010). Fire blight control strategies in organic fruit growing. 14th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. FÖKO e.V. Weinsberg, FÖKO e.V.**:** 118-125.

Kunz, S., A. Schmitt und P. Haug (2011). "Development of strategies for fire blight control in organic fruit growing." Acta Horticulturae **896**: 431-436.

Kunz, S., A. Schmitt und P. Haug (2012). "Development of strategies for fire blight control in organic fruit growing." IOBC/wprs Bulletin **in press**.

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

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

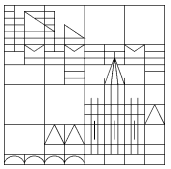
Pusey, P. L. (1997). "Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight." Phytopathology **87**: 1096-1102.

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*. Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. W. Zeller und C. Ullrich. Berlin, Arno Brynda. **408:** 228-232.

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



Renner, U. (2001). "Gibt es Alternativen in der Feuerbrand-Bekämpfung." Obstbau **26**(10): 518-526.

Rühmer, T. (2007). "Mischbarkeit von Blossom Protect fb mit Fungiziden." Obstbau **32**(4): 2.

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

Scheer, C. (2009). "Feuerbrandsituation im Bodenseeraum und Ergebnisse der Feuerbrandversuche des KOB 2008." Obstbau **34**(3): 168-172.

Scheer, C. und G. Bantleon (2009). "Feuerbrandsituation und Feuerbrandfreilandversuche am Bodensee." Obstbau **34**(12): 626-629.

Scheer, C., M. Trautmann und D. Hagl (2005). "Das Hefepräparat Blossom Protect fb - Die Alternative zur Bekämpfung des Feuerbrandes?" Obstbau **30**(3): 122-127.

Scheer, C., M. Trautmann und D. Hagl (2007). "Ergebnisse der Feuerbrandversuche 2005 und 2006." Obstbau **32**(4): 199-202.

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

Voegele, R. T., S. Kunz, L. Olbrecht, M. Hinze, S. Weißhaupt, A. Schmid, M. Ernst, M. Joos, M. Matschinsky und K. Mendgen (2010). Monitoring *E. amylovora* using real time PCR. 14th International Conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. FÖKO e.V. Weinsberg, FÖKO e.V.**:** 110-117.

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