

„Entwicklung eines biotechnologischen Pflanzenschutzmittels zur Bekämpfung von Oomyceten“ (Biotechoomy)

„Development of a biotechnological plant protection agent for the control of oomycetes“ (Biotechoomy)

Projektlaufzeit

01.03.2013 bis 28.02.2016

Projektkoordinator, Institution

Dr. Stefan Kunz
Bio-Protect GmbH, Konstanz

Einzelvorhaben

Kurzfassung

Ziel

Das Ziel dieses Forschungsvorhabens ist die Erarbeitung der Grundlagen zur Entwicklung eines biotechnologischen Fungizids auf Basis von antagonistischen Mikroorganismen, das gegen Erreger aus der Gruppe der Oomyceten eingesetzt werden kann. Erster Zielorganismus ist dabei *Phytophthora infestans*, der Erreger der Braunfäule an Tomate und der Kraut- und Knollenfäule an Kartoffel. Weitere Zielorganismen sind falsche Mehltausalpilze an Weinreben und in diversen Gemüsekulturen. Ein wirksames biologisches Präparat zum Einsatz gegen Oomyceten wird sowohl zur Kupferreduktion in diesen Kulturen beitragen als auch den Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel reduzieren und damit zur Schonung der natürlichen Ressourcen (Boden und Wasserhaushalt) und zur Verbesserung der Arbeitsbedingungen der in der Landwirtschaft mit dem Pflanzenschutz beschäftigten Personen beitragen.

Realisierung

Im Rahmen des Projektes sollen vorhandene Bakterien- und Hefestämme mit bekannter antagonistischer Wirkung zu einem praxistauglichen Produkt weiterentwickelt werden. Nach der Artbestimmung der Isolate und Literaturstudien wurden acht Mikroorganismen (sechs Bakterienstämme und zwei Hefestämme) für die weitere Bearbeitung im Projekt ausgewählt. Dabei wurde sowohl die Wirksamkeit in vivo als auch die Datenlage zur Toxizität und Pathogenität berücksichtigt. Die Stämme werden nun auf wirtschaftliche Produzierbarkeit (Fermentation, *Downstream processing*) geprüft und geeignete Formulierungen werden entwickelt.

Die einzelnen Produktionsschritte (Medienzusammensetzung, Fermentationsverfahren, *down-stream processing*) werden mit einem Biotest auf Wirkungsverstärkung bzw. Wirkungsverlust überprüft. Der Biotest wird mit *Phytophthora infestans* Sporangien an Tomatenblattscheiben durchgeführt. Zusätzlich zu den vorgesehenen Blattscheibentests wurden Sporangienkeimungstests auf Objektträgern (in vitro) etabliert.

Durch die Bearbeitung von acht unterschiedlichen Mikroorganismen soll herausgefunden werden, ob es allgemeine wirksamkeitsfördernde Prozessfaktoren gibt, oder ob diese stammspezifisch sind. Ausgewählte Testpräparate werden in Gewächshaus- und Freilandversuchen auf Ihre Wirksamkeit gegen Kraut- und Knollenfäule an Kartoffel und falschen Mehltau der Weinrebe und Gurke geprüft.

Ergebnisse

Für die ausgewählten acht Mikroorganismenstämme wurden die Wachstumsbedingungen optimiert. Temperaturoptima und Medienoptimierung wurde in Schüttelkolbenversuchen durchgeführt. Zunächst wurden diverse Medien getestet, die standardmäßig in der Mikrobiologie verwendet werden. Einzelne Kohlenstoff- und Stickstoffquellen wurden dann gezielt substituiert. Nur drei der acht Stämme wachsen in einem Medium ohne organische Stickstoffverbindungen, welches kostengünstig wäre. Auch bei diesen drei Stämmen verbessert die Zugabe von organischen Stickstoffverbindungen das Wachstum deutlich, so dass die Medienoptimierung mit komplexen Medien mit organischen Stickstoffquellen fortgesetzt wird.

Weiterführende Versuche zur Formulierung und Wirksamkeit wurden bisher mit den Bakterienstämmen CFR39 und NA101 sowie den Hefestamm 2H13 durchgeführt. Dafür wurden Fermentationsprotokolle und Aufarbeitungsstrategien entwickelt.

Zur Verbesserung der Lagerstabilität und zur Optimierung der Ausbringung wurden verschiedene Formulierungshilfstoffe überprüft. Dabei konnte eine Formulierungshilfe identifiziert werden (BP-Formulierungshilfe), die für das Bakterium CFR39 die Lagerstabilität in Flüssigformulierung deutlich erhöht und auch die Wirksamkeit verbessert. Beim Hefestamm 2H13 verbessert sich die Lagerstabilität durch die BP-Formulierungshilfe nicht. Für den Hefestamm erwies sich die Gefriertrocknung als geeignete Methode zur Generierung lagerstabile Testpräparate für die Biotests bzw. Freilandversuche.

Zwei Testpräparate mit dem Bakterienstamm CFR39 und die dazugehörige Leerformulierung („BP-Formulierungshilfe“) wurden auf Wirksamkeit gegen *Plasmopara viticola* an Topfreben im Vergleich zu Kocide Opti (Kupfer) in jeweils drei Konzentrationen getestet. Das formulierte Bakterium reduzierte die Befallshäufigkeit in der höchsten Konzentration signifikant um 62 % und war damit wirksamer als die Leerformulierung (WG 39 %) oder das Kupferpräparat Kocide Opti in der geringeren Konzentration (WG 57 %). Nur die hohe Kupferkonzentration erzielte eine bessere Wirkung. Damit wurde mit dieser ersten Testformulierung ein vielversprechendes Ergebnis erzielt. In 2014 werden mit Testpräparaten auf Basis von CFR39, NA101 oder 2H13 im Freiland gegen *Phytophthora infestans* an Kartoffeln und in Gewächshausversuchen gegen falsche Mehltaupilze an Gurke und

Weinrebe geprüft. In Zukunft sollen auch Kombinationen aus Mikroorganismen und Kupfer getestet werden, um die Möglichkeit von Kombinationsstrategien zur Kupferreduktion zu prüfen.

(Geplante) Verwertung

Gelingt es einen geeigneten Wirkorganismus zu identifizieren und die Datenbasis für das Produktionsverfahren zu generieren sind nach Ablauf des Projektes weitere Entwicklungsschritte bis zum Verkauf des biotechnologischen Fungizids notwendig. Mit einer Markteinführung ist frühestens 5 Jahre nach Projektende zu rechnen.

Trotzdem können bei einem Einsatz in mehreren Zielkulturen dann Umsätze erzielt werden, die eine solche Investition rechtfertigen und zu einer Refinanzierung der Investitionskosten sowohl für die entwickelnde Firma Bio-Protect GmbH als auch für potenzielle Lizenznehmer führen werden. Nach dem Geschäftsmodell der Bio-Protect GmbH wird das Präparat an einen Produzenten oder Vermarkter in Lizenz gegeben, der Zulassung, Produktion und Vermarktung übernimmt.