

## Biologische Bekämpfung der Lagerfäule am Apfel Ergebnisse aus 2 Jahren Freilandversuchen

W. Leibinger, K. Mendgen<sup>1</sup>

### 1. Einleitung

Die Lagerfäule der Äpfel wird durch die Pilze *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena*, *Nectria galligena* sowie verschiedene *Gloeosporium*-arten hervorgerufen (Kennel 1986). Die Bekämpfung erfolgt vor der Ernte durch Abschlußbehandlungen mit Fungiziden. Nach dem Inkrafttreten des Pflanzenschutzgesetzes von 1986 wurde die Anzahl der zugelassenen Pflanzenschutzmittel deutlich reduziert (Meinert 1992). Die verbliebenen Mittel sind nicht immer in der Lage, einen ausreichenden Schutz der Früchte zu gewährleisten (Kennel 1986). Empfohlen wird heute der Einsatz von Benzimidazolen und Dichlofluaniden, wobei insbesondere gegen den Wirkstoff Benzimidazol bereits Resistenzen einiger wichtiger Schaderreger nachgewiesen werden konnten (Eckert 1990, Kelman 1989, Spotts und Cervantes 1986).

Eine mögliche Alternative zu synthetischen Fungiziden stellt die biologische Bekämpfung mit Antagonisten dar (Mendgen et al. 1992). Laborversuche haben gezeigt, daß nützliche Mikroorganismen in der Lage sind, die Faulstellenentwicklung künstlich verwundeter Äpfel vollständig zu unterdrücken (Falconi und Mendgen 1994, Janisiewicz et al. 1994, Schiewe und Mendgen 1992). Allerdings lassen sich diese Ergebnisse nur bedingt in die Praxis übertragen, da klimatische Bedingungen, Nährstoffangebot und die Mikroflora der Phyllosphäre die Populationsentwicklung der Mikroorganismen beeinflussen können (Dik et al. 1992). Bei der Behandlung einer Apfelanlage mit antagonistisch wirksamen Isolaten konnten wir zeigen, daß eine biologische Bekämpfung von Lagerfäulen auch im Freiland eine vielversprechende Alternative zum Einsatz synthetischer Fungizide darstellt.

### 2. Material und Methoden

2.1 Selektion der Antagonisten. 1990-1993 wurden aus seit Jahren unbehandelten Apfelanlagen der Bodenseeregion Mikroorganismen isoliert und gereinigt und deren antagonistische Wirkung gegenüber Fäulniserregern bestimmt. Als Testmethode *in vivo* diente die Reduktion des Faulstellendurchmessers künstlich verwundeter und inokulierter Äpfel. Hochwirksame Einzelisolate wurden in Mischungen zusammengefaßt, wodurch eine Steigerung der Wirkung gegenüber den Einzelisolaten erzielt werden konnte.

<sup>1</sup> Wolfgang Leibinger und Prof. Dr. Kurt Mendgen, Lehrstuhl für Phytopathologie, Universität Konstanz, Universitätsstr. 10  
D-78462 Konstanz

2.2 Versuchsvarianten. Konzipiert wurde ein Feldversuch mit 5 verschiedenen Versuchsvarianten. Eingesetzt wurden die drei besten Isolatmischungen aus den Vorversuchen sowie eine Fungizid- und eine Wasserkontrolle (Tab. 1).

Kontrollen		Antagonistenmischungen		
1	2	3	4*	5
Wasser	Fungizid (Euparen 0.15%)	<i>Aureobasidium pullulans</i> rote Hefe	<i>Epicoccum purpurascens</i> <i>Acremonium strictum</i> <i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Bacillus subtilis</i>

Tab 1: Übersicht über die Versuchsvarianten. Die Mischung der Versuchsvariante 4\* wurde 1994 durch eine formulierte Mischung der Variante 3 ersetzt.

2.3 Anzucht und Applikation. Die Anzucht von *E. purpurascens* und *A. strictum* erfolgte auf Festmedien. Alle anderen Isolate wurden in Flüssigmedien vermehrt und durch Zentrifugation geerntet. Die Konzentrationen der Mikroorganismen wurde auf  $10^7$  Konidien/ml bzw.  $10^8$  Bakterien/ml eingestellt. Die Applikation erfolgte mit Hilfe von Motorrückenspritzen in einer Vorerntebehandlung (Tabelle 1). Die Versuchsvarianten wurden durch Folien abgedeckt, um Fehler durch Abdrift zu vermeiden.

2.4 Versuchsanlage. Bei der Versuchsanlage handelt es sich um eine konventionell geführte Apfelanlage in Meckenbeuren (Oberschwaben) der Sorte Golden Delicious. Die Versuchspartelle wurde als randomisierte Blockanlage konzipiert und jeweils bis Ende Juni gemäß den Richtlinien integrierter Produktion behandelt. Pro Versuchsvariante standen 20 Bäume zu Verfügung.

2.5 Überprüfung der Etablierung. Zur Überprüfung der Etablierung der Antagonisten auf der Apfeloberfläche wurden zu verschiedenen Zeitpunkten vor und nach der Applikation der Antagonisten Äpfel entnommen, abgewaschen und die Waschsuspension in verschiedenen Konzentrationen auf geeigneten Nährmedien ausplattiert. Über die Anzahl der CFU (Colonie Forming Units) wurde die Besiedlungsdichte bestimmt.

2.6 Auswertung der Fäulnisreduktion. Nach der Ernte wurden die Äpfel in einem Kühlhaus bei 4 °C eingelagert. Äpfel die Fäulnissymptome zeigten wurden aus dem Lager entnommen. An Hand morphologischer Merkmale erfolgte eine Bestimmung der Pathogene. Erfaßt wurde die Pathogenverteilung, die Anzahl fauler Äpfel sowie die Anzahl der Faulstellen in den verschiedenen Versuchsvarianten.

2.7 Zeitplan der Versuche: Die Ausbringung der Antagonistenmischungen sowie der Kontrollen erfolgte 1993 am 31. August und am 14. und 28. September. 1994 wurde am 23. August und am 6. und 20. September behandelt. Die Ernte erfolgte in beiden Jahren jeweils in der ersten Oktoberwoche. Auswertungstermine des ersten Versuchs waren der 1. Februar und der 1. März 1994 sowie der 23. Februar und der 30. März 1995.

### 3. Ergebnisse

3.1 Etablierung. Für alle Antagonisten konnte im Verlauf der Freilandversuche ein deutlicher Anstieg der Populationsdichte im Feld festgestellt werden. Insbesondere das Isolat der rote Hefe sowie die Isolate von *A. pullulans* zeigten eine sehr gute Etablierung. *Bacillus subtilis*, *A. strictum* und *E. purpurascens* wiesen im allgemeinen geringere Besiedlungsdichten als die Hefen auf. Im Lager ging die Konzentration der Mikroorganismen auf der Apfeloberfläche zurück. Die Populationsdichte blieb auf den behandelten Äpfeln gegenüber der Wasser- und Fungizidkontrolle aber immer signifikant erhöht. Abb. 1 beschreibt exemplarisch die Populationsentwicklung für die roten Hefen in den beiden Versuchsjahren vor der Einlagerung.

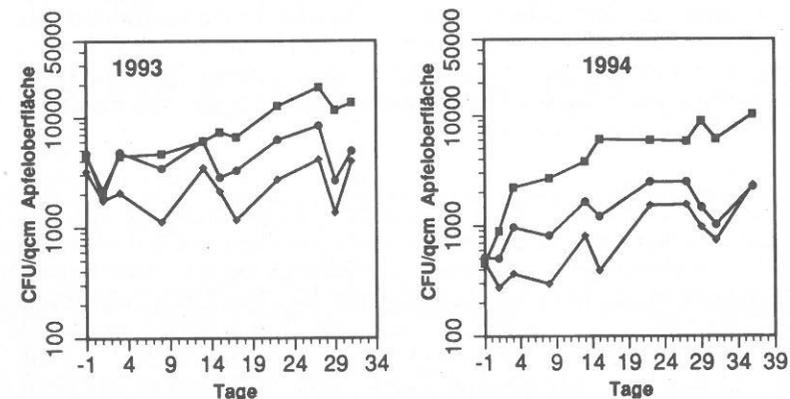


Abb. 1: Darstellung des Populationsverlaufs roter Hefen auf der Apfeloberfläche vor der Einlagerung. Bedeutung der Symbole: Wasserkontrolle (●), Fungizidbehandlung (◆), Antagonistenmischung 3 (■).

3.2 Wirkung der Antagonisten. Durch alle Antagonistenmischungen konnte eine deutliche Reduktion der Faulstellenbildung erreicht werden (Abb. 2). Der Wirkungsgrad der besten Mischung liegt eng bei dem der Fungizidbehandlung und konnte statistisch nicht von diesem unterschieden werden. Diese Aussage trifft sowohl für die Anzahl der Äpfel mit Fäulnissymptomen zu, als auch für die Gesamtzahl der Faulstellen.

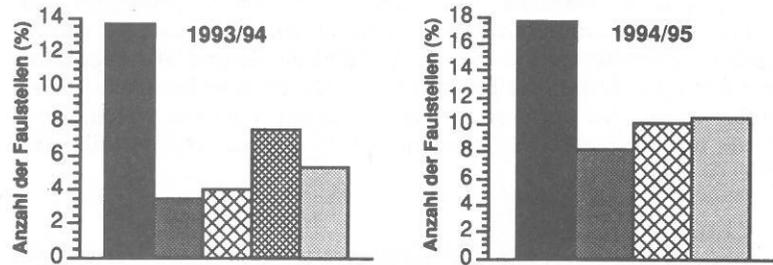


Abb. 2. Prozentuale Anzahl der Faulstellen in der Wasserkontrolle (■), der Fungizidbehandlung (■) sowie den Antagonistenmischungen 3 (▣), 4 (▣) und 5 (▣).

Die Ergebnisse von 1993 konnten 1994 wiederholt werden. Der Unterschied zwischen der Wasserkontrolle und den restlichen Versuchsvarianten fiel geringer aus, aber wiederum ist der Wirkungsgrad von Fungizid und den Mischungen annähernd identisch (Abb. 2). Durch die Formulierung der Antagonistenmischung 3 wurde kein verbessertes Ergebnis erzielt.

In beiden Versuchsjahren wurden die *Gloeosporium*-Fäulen als Hauptverursacher der Schadsymptome identifiziert. Als weitere Pathogene traten häufig *Penicillium expansum*, *Monilinia fructigena*, *Botrytis cinerea* und *Nectria galligena* auf. Selten wurden *Alternaria spp.* und *Fusarium spp.* als Schaderreger bestimmt.

#### 4. Diskussion

In unbehandelten Apfelanlagen kommen Mikroorganismen vor, die Lagerfäuleerreger der Äpfel wirksam bekämpfen (Schiewe und Mendgen 1992). In Mischungen eingesetzt, erzielten sie häufig eine noch bessere Wirkung als die Einzelisolate (Leibinger und Mendgen 1993, Falconi und Mendgen 1994). Um zu klären ob diese nützlichen Mikroorganismen in Apfelanlagen etabliert werden können und welche Wirkung sie auf die Entwicklung von Lagerfäulen haben, wurden in einer integriert bewirtschafteten Anlage antagonistische Pilze, Hefen und Bakterien ausgebracht. Die Behandlungen erfolgten in der Vorerntesaison, da viele Fäulniserreger die Äpfel bereits im Feld über Lentizellen oder Wunden infizieren (Kennel 1984, Kennel 1986). Die nützlichen Mikroorganismen konnten auf der Apfeloberfläche schon im Feld, aber auch nach der Einlagerung in einem konventionellen Kühllager in konstant hohen Konzentrationen nachgewiesen werden. Durch eine Formulierung der Mikroorganismen mit Glycerin und Maltose konnte die Populationsdichte noch weiter erhöht werden. Da durch diese Zusatzstoffe aber auch negative Effekte bezüglich der Zahl der Faulstellen zu beobachten waren, sollte deren Einsatz noch weiter geprüft werden. (Janisiewicz 1994).

Alle Isolatmischungen zeigten bei der Bekämpfung von Lagerfäulen eine gute Wirkung. Diese konnte auch bei der Wiederholung des Versuchs bestätigt werden. Die beste Antagonistenmischung zeigte eine vergleichbar gute Wirkung wie das Fungizid. Innerhalb der verschiedenen Mischungen wurden Unterschiede in der Bekämpfung der Fäulen erkennbar. Die Verwendung filamentöser Pilze brachte nur einen mässigen Erfolg. Ihr Einsatz zur biologischen Bekämpfung muß auch wegen der umständlichen Kultivierung auf Festmedien in Frage gestellt werden. Vielversprechend sind auf Grund ihrer Wirkung und der unproblematischen Anzucht in Fermentern insbesondere die Hefen und *A. pullulans*, sowie die Isolate von *B. subtilis*.

#### 5. Abstract

We isolated and characterized antagonistic microorganisms to control postharvest diseases. The antagonists were fermented and applied in effective combinations in an apple orchard. The microorganisms efficiently colonized the apple surface in the field and in cold storage. In two following years, biological control agents inhibited decay to the same extent as fungicide treatments.

#### 6. Literatur

- Dik A. J., Fokkema N. J. und Pelt J. A. 1992 Influence of climatic and nutritional factors on yeast population dynamics in the phyllosphere of wheat. *Microbial ecology* **23**, 41-52
- Ecker J. W. 1990 Impact of fungicide resistance on fruit decay control. In: *Managing Resistance to agrochemicals*. American Chemical Society, Washington, DC
- Falconi C. J. und Mendgen K. 1994 Epiphytic fungi on apple leaves and their value for control of the postharvest pathogens *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* and *Penicillium expansum*. *Journal of Plant Diseases and Protection* **101**, 38-47
- Janisiewicz W. L., Petterson D. L. und Bors R. 1994 Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Disease* **78**, 466-470
- Kelman A. 1989 The importance of research on the control of postharvest diseases of perishable food crops IN: *Management of disease resistance in harvested fruits and vegetables*. *Phytopathology* **79**, 1374
- Kennel W. 1984 Zur Ursache der Lentizellenröte beim Apfel. *J. of Plant Disease and Protection* **91**, 552-555
- Kennel W. 1986 Parasitäre Lagerkrankheiten am Apfel. *Obst und Garten* **3**, 151-152
- Meinert G. und Mittnacht A. 1992, Ulmer Verlag, Stuttgart 1992
- Mendgen K., Schiewe A. und Falconi C. J. 1992 Biologische Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten. *Pflanzenschutz*. Bayer **45**, 5-20
- Leibinger W. und Mendgen K. 1994 Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft **301**, 374
- Schiewe A. und Mendgen K. 1992 Identification of antagonists for biological control of the post-harvest pathogens *Pezizula malicorticis* and *Nectria galligena* on apples. *Phytopathology* **134**, 229-273
- Spotts R. A. und Cervantes L. A. 1986 Populations, Pathogenicity and benomyl resistance of *Botrytis spp.*, *Penicillium spp.* and *Mucor piriformis* in packinghouses. *Plant Disease* **70**, 106-108