

Biologische Bekämpfung des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*) mit bakteriellen Antagonisten

Birgit Wolf und W. Zeller

Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Institut für Pflanzenschutz im Obstbau,
69221 Dossenheim

Der Feuerbrand des Kernobstes und verschiedener Zier- und Wildgehölze aus der Familie der Rosaceen, hervorgerufen von dem Bakterium *Erwinia amylovora*, gehört zu den gefährlichsten Bakterienkrankheiten im Obstbau. Nachdem in diesem Jahr die Bakteriose in Südwestdeutschland vor allem im Apfelanbau in äußerst starkem Maße aufgetreten ist, stellt sich zunehmend die Frage nach einer ausreichenden Bekämpfung. Da bisher in der Bundesrepublik keine Bakterizide gegen den Erreger zur Verfügung stehen, wurde in der nachfolgenden Arbeit versucht, mit dem Einsatz bakterieller Gegenspieler ein biologisches Bekämpfungsverfahren auf der Basis eines Antagonismus zu entwickeln.

MATERIAL und METHODEN:

In den Untersuchungen wurden 81 Bakterienisolate, die von Blüten und von der Phyllosphäre von gesunden und kranken Wirtspflanzen sowie von Bodenproben stammten, einem Screening auf ihre antagonistische Aktivität hin unterzogen. Zunächst erfolgte die Testung in vitro, später im Biotest und anschließend im Freilandversuch.

1. Screening im Agar- Diffusions- Verfahren:

Im Agar- Diffusionsverfahren wurden die Bakterienisolate zunächst auf ihre bakterizide Wirkung untersucht. Als Nährboden diente ein nach Miller and Schroth modifiziertes Medium (Brulez and Zeller 1981). Auf den erkalteten Agar wurde die Erregersuspension in einer Konzentration von $4,4 \cdot 10^6$ Zellen/ml gebracht. Anschließend wurden die zu testenden Bakteriensuspensionen in einer Konzentration von 10^7 - 10^8 Zellen/ml in ausgestanzte Löcher von 9 mm Durchmesser pipettiert. Die Auswertung der antagonistischen Aktivität erfolgte nach 2- tägigem Bebrüten an Hand der Hemmhofausbildung.

Es muß bedacht werden, daß das Agar-Diffusionsverfahren nur bedingt für ein entsprechendes Verhalten der Bakterienisolate an Pflanzen repräsentativ ist. Daher wurden die Bakterien mit guter Hemmwirkung anschließend im Biotest untersucht.

2. Biotest an unreifen Birnenfrüchten:

Der Biotest beruht darauf, daß virulente Stämme des Feuerbranderreger auf unreifen Früchten eine charakteristische Exsudatbildung zeigen.

Dazu wurden unreife Birnenfrüchte in Scheiben geschnitten und zur oberflächlichen Kontamination in eine Bakteriensuspension des Antagonisten von 10^7 - 10^8 Zellen/ml getaucht. Nach einer Inkubationszeit von einer halben Stunde wurde die Erregersuspension von $4,4 \cdot 10^6$ Zellen/ml aufgebracht und die Birnenscheiben in einer Feuchtkammer inkubiert.

Die Auswertung der Hemmwirkung erfolgte nach 2-tägigem Bebrüten an Hand typischer Exsudatbildung (Zeller 1986).

3. Freilandversuch:

Für den Freilandversuch wurden 8 jährige Sträucher von *Cotoneaster salicifolius floccosus* verwendet, eine Wirtspflanze, die eine besonders hohe Anzahl von Blütenständen aufweist. Die Bekämpfungsmaßnahmen fanden während der Vollblüte im Juni 1993 statt. Um eine sichere Symptomentwicklung zu erzielen, wurden die Pflanzen mit dem hoch virulenten Stamm *Erwinia amylovora* 7/74 inokuliert. Die Bakteriendichte lag bei $4,4 \cdot 10^7$ Zellen/ml. Die Inokulation erfolgte 3 Stunden *nach* der Behandlung der Ziersträucher mit der Antagonistensuspension von 10^7 - 10^8 Zellen/ml, die in die Blüte bis zur Tropfnässe gesprüht wurde.

Es folgten 3 Auswertungen im Abstand von jeweils 2 Wochen. Der Befall wurde an Hand der prozentualen Anzahl kranker Blütenstände ermittelt.

Ergebnisse und Diskussion:

Im Plattendiffusionstest und im Biotest zeigte eine große Anzahl von Antagonisten einen positiven Effekt gegen den Feuerbranderreger. Auch im Freilandversuch konnte mit den ausgewählten Bakterienisolaten eine hemmende Wirkung auf *Erwinia amylovora* erzielt werden. Dabei konnte durch die Applikation des Isolates *Erwinia herbicola* 21.8.89 ein Wirkungsgrad von 70,0% erreicht werden. Das als Standard eingesetzte Streptomycin ergab im Vergleich dazu einen Wirkungsgrad von 73,2%. Das Isolat *Erwinia herbicola* 21.8.89 zeigte durchgängig in allen Testverfahren gute Ergebnisse. Allerdings konnte keine eindeutige Korrelation der Aktivität der anderen getesteten Bakterienisolate zwischen dem Plattendiffusionstest, dem Biotest und dem Freilandversuch abgeleitet werden. Das Isolat *Bacillus licheniformis* beispielsweise zeigte eine große Hemmaktivität im Agar-Diffusionstest und im Biotest, schnitt aber im Freiland nur mit einem mittleren Wirkungsgrad von 57,7% ab.

Zusammenfassend läßt sich nach den einjährigen Versuchen zur biologischen Bekämpfung feststellen, daß einige Bakterienisolate über eine gute bakterizide Wirkung verfügen und teilweise eine sehr deutliche Reduktion des Feuerbrandbefalls erreichen könnten. Weitere Bekämpfungsversuche an Ziergehölzen und an Kernobst müssen zeigen, ob ihre Effektivität noch gesteigert werden kann, z.B. durch eine Verbesserung der Ausbringungsform oder durch mehrfache Applikation der antagonistischen Isolate.

Literatur:

Brulez, W. and Zeller, W., (1981). Seasonal changes of epiphytic *Erwinia amylovora* on ornamentals in relation to weather conditions and the course of infection.

Acta Hort. 117: 37-43

Zeller, W., (1986): Untersuchungen zur Desinfektion des Feuerbranderregers (*Erwinia amylovora*) an Veredlungsreisern und Birnengewebe. Gesunde Pflanzen 36, 23-28

1. Wirkung antagonistischer Bakterienisolate im Agar- Diffusions- Verfahren und im Biotest

Behandlung mit Isolat	Bakterien-spp.	Hemmhof Ø auf MSM-Medium (mm)	Wirkungsgrad im Biotest (%)
21.8.89	Erwinia herbicola	20,5	80,0
160	Pseudomonas spp.	17,6	100
jw2	Pseudomonas fluorescens	17,5	100
V1	Bacillus licheniformis	24,0	100
B3	Bacillus subtilis BD 170	17,9	66,8

2. Wirkung antagonistischer Bakterienisolate nach künstlicher Blüteninfektion an *Cotoneaster salicifolius floccosus* im Freilandversuch

Inokulation: 2.6.1993

Bonitur: 28.6.1993

Behandlung mit Isolat	Bakterien-spp.	Blüten-stände gesamt	Blüten-stände infiziert	Befall (%)	Wirkungs-grad (%)
21.8.89	Erwinia herbicola	567	112	19,7	70,0
160	Pseudomonas spp.	656	209	31,8	51,5
jw2	Pseudomonas fluorescens	563	244	43,3	34,1
V1	Bacillus licheniformis	642	179	27,8	57,7
B3	Bacillus subtilis BD 170	580	121	20,8	68,3
infizierte Kontrolle		730	480	65,8	-
Streptomycin		620	109	17,6	73,2

BIOLOGICAL CONTROL OF FIRE BLIGHT
(ERWINIA AMYLOVORA) BY ANTAGONISTIC BACTERIA

Birgit Wolf und W. Zeller

Federal Research Centre of Agriculture and Forestry,
Institute of Plant Protection in Fruit Crops,
Schwabenheimer Str.101, 69221 Dossenheim

Summary:

First studies on biocontrol of fire blight (*Erwinia amylovora*) were undertaken with antagonistic bacteria under in vitro and field conditions.

Among 81 bacterial isolates from leaves and flowers of different fire blight host plants 30 strains showed antagonistic activity against the pathogen when tested in a screening with agar-diffusion- test and in a biotest on immature pear fruits.

In a field test with the highly susceptible ornamental *Cotoneaster salicifolius floccosus* prophylactic sprayments were carried out with different antagonists of the genus *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Bacillus* against blossom blight and inoculated with *Erwinia amylovora* 3 hours later. With a strain of *Erwinia herbicola* the highest control of 70 % in comparison to Streptomycin with 73 % could be obtained. *Erwinia herbicola* was effective in all tests whereas other isolates showed no correlation under in vitro and field conditions.

In general some active isolates with very good bactericidal effects for the biological control of fire blight could be found, so that these studies will be continued.