

Schlussbericht

zum Vorhaben

„Bekämpfung des Feuerbranderreger
(*Erwinia amylovora*) im Obstbau mittels
Xylemapplikation ohne Antibiotika“
(Az: 24886)

gefördert von der

Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU)

Andreas Düker

Heiko Kipp

Alexander Rosisko

Roland Kubiak

Förderkennzeichen: 24886

Laufzeit des Vorhabens: 21.11.2007 – 31.10.2010

Bewilligungsempfänger: RLP AgroScience
Institut für Agrarökologie (IfA)
Breitenweg 71
67435 Neustadt an der Weinstraße

Kooperationspartner: Technische Universität Kaiserslautern
Fachbereich Maschinenbau und
Verfahrenstechnik
Lehrstuhl für Strömungsmaschinen
und Strömungsmechanik
Gottlieb-Daimler-Straße
67663 Kaiserslautern

Trifolio-M GmbH
Dr.-Hans-Wilhelmi-Weg 1
35633 Lahnau

Autoren: Andreas Düker
Heiko Kipp
Alexander Rosisko
Roland Kubiak

Zusammenfassung und Ausblick

Ziel des Projekts war die Entwicklung eines Stamminjektionsverfahrens zur Bekämpfung von primärem Feuerbrandbefall an Kernobstblüten als Alternative für den Streptomycin-Einsatz im Ertragsobstbau.

Diese Zielsetzung bedurfte zunächst der Entwicklung eines geeigneten Injektionsgeräts. Neben einem ausreichenden Volumen stellten sich die Ansprüche einer zeitnahen Aufnahme der zu applizierenden Substanz und einer möglichst geringen Schädigung des Holzes durch das Injektionsgerät und – verfahren. Für den schnellen Applikationsprozess in wenigen Arbeitsschritten (einfache Handhabung, Ergonomie) wurde ein entsprechendes Injektionsgerät erstellt und erprobt.

Tastexperimente an urbanen Bäumen bestätigten die Praxistauglichkeit des neu entwickelten Injektionsgeräts. Aufgrund des großen Volumens des Flüssigkeitsbehälters sowie der Repetierfähigkeit des Druckzylinders sind Stamminjektionen mit diesem Gerät nicht nur an kleineren Plantagenbäumen, sondern auch an großen urbanen Bäumen möglich. Dadurch ergibt sich eine Vielzahl erweiterter Einsatzmöglichkeiten. Die Untersuchung von Stammscheiben gefälltter Versuchsbäume ergab, dass die einzigen Verwundungen am Stamm durch die, für den Injektionsvorgang benötigter Bohrlöcher resultierten. Diese waren jedoch bereits nach einiger Zeit nekrotisiert und vom restlichen Xylem abgeschottet. Es wurden keine Anzeichen für potentielle Sekundärinfektionen beobachtet.

Weiterhin bedurfte es des Auffindens einer geeigneten Alternative zu Streptomycin. Diese Alternative musste dabei eine ähnlich hohe Wirksamkeit gegen primären Feuerbrandbefall an Kernobstblüten wie Streptomycin erzielen.

Als eine solche Alternative konnte in den Untersuchungen Prohexadion-Ca, der aktive Wirkstoff von Regalis® ermittelt werden.

Die Untersuchungen zur Rückstandssituation in Früchten mittels Injektion von Prohexadion-Ca behandelte Bäume erbrachten außerdem den Nachweis, dass die ermittelten Werte deutlich unter dem vorgegebenen Richtwert der EU liegen. Somit wäre der Einsatz von Prohexadion-Ca mittels Stamminjektion unter dem Gesichtspunkt der Produktionsrückstände im Endprodukt unter praxisgerechten Bedingungen problemlos möglich.

Allerdings wurden an den mit Prohexadion-Ca behandelten Bäumen Triebstauchungen beobachtet, welche aufgrund einer bioregulatorischen Wirkung von Prohexadion-Ca auf das Längenwachstum resultieren und letztendlich zu einem mengenmäßigen Ernteverlust führten. Eine Schwächung dieser unerwünschten Wirkung könnte durch einen wesentlich früher gelegten Applikationszeitpunkt im Herbst, Winter oderzeitigem Frühjahr vor dem Austrieb der Blätter erzielt werden. Diesbezüglich böte sich aufgrund der Relevanz zur praktischen Umsetzung des erarbeiteten Verfahrens die Durchführung eines Folgeprojekts zur Klärung der offenen Fragen an.

Somit konnten die Ziele bezüglich der Entwicklung eines geeigneten Injektionsgeräts und dem Auffinden einer geeigneten Alternative für den Streptomycin-Einsatz in Form von Prohexadion-Ca erfolgreich umgesetzt werden. Lediglich der unerwünschte Einfluss von Prohexadion-Ca auf das Spross-Längenwachstum unterbindet noch die praktische Umsetzung des dargestellten Projekts.

Inhaltsverzeichnis

1	Aufgabenstellung.....	6
2	Planung und Ablauf des Vorhabens.....	7
3	Erzielte Ergebnisse.....	8
3.1	Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen den Feuerbranderreger	8
3.1.1	Injektor zur Durchführung der Untersuchungen	8
3.1.2	Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen Feuerbrandbefall an Birnentrieben.....	9
3.1.3	Untersuchungen zum Auffinden einer geeigneten Prohexadion-Ca- Menge für die Stamminjektion gegen Feuerbrandbefall an Birnentrieben.	13
3.1.4	Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten.....	17
3.1.5	Freilanduntersuchungen zur Wirkung von stamminjiziertem Prohexadion-Ca gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten.....	20
3.1.6	Freilanduntersuchungen zur Modifizierung der Prohexadion-Ca- Menge für die Stamminjektion gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten ...	24
3.2	Untersuchungen zur Rückstandsituation in Früchten mittels Stamminjektion von Prohexadion-Ca behandelter Apfeläume.....	29
3.3	Technische Entwicklung eines Injektionsgeräts für den gewebeschonenden Einsatz an Obstgehölzen	35
3.3.1	Entwicklung eines gewebeschonenden Injektors	35
3.3.2	Entwicklung einer mobilen Versorgungseinheit	39
3.3.3	Praktische Anwendung des Injektionsgeräts	44
4	Umsetzung der Ziele	52
5	Literatur	57

1 Aufgabenstellung

Feuerbrand ist eine Krankheit, die im Kernobstbau zu großen Ausfällen führen kann. Von ca. 30.000 ha Kernobstanlagen (Niederstammanlagen) in Deutschland sind zurzeit ca. 13.500 ha Apfel- und Birnenanlagen, größtenteils in Baden-Württemberg, von dieser Problematik betroffen. Für die Bekämpfung des Bakteriums *Erwinia amylovora*, dem Erreger des Feuerbrandes war bis zum März 2004 das Antibiotikum Streptomycin (Handelsname Plantomycin®) in Deutschland zugelassen. Allerdings ist die Anwendung von Antibiotika im Pflanzenschutz heftig umstritten, da unerwünschte Auswirkungen auf die Umwelt sowie Wirkungsverluste durch Resistenzbildung zu befürchten sind. Deshalb sind Spritzanwendungen von Streptomycin mittlerweile nur noch nach § 11 Abs. 2 Satz 1 Nr. 2 PflSchG bei „Gefahr im Verzuge“ erlaubt.

Ziel des Projekts war deshalb die Entwicklung einer Methode zur Bekämpfung des Feuerbranderreger (*Erwinia amylovora*) im Obstbau

- ohne den Einsatz von Antibiotika (entsprechend der Strategie der Europäischen Gemeinschaft zur Bekämpfung der Resistenz gegen antimikrobielle Mittel).
- unter Verwendung eines umweltneutralen Applikationssystems, welches geeignete Substanzen direkt in das Xylem der Bäume injiziert.

2 Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt bestand aus zwei Anforderungen, welche durch Kombination die Bekämpfung des Feuerbranderregers (*Erwinia amylovora*) im Obstbau ohne den Einsatz von Antibiotika ermöglichen sollten.

Zum Einen sollten geeignete Substanzen ermittelt werden, die sich aufgrund ihres Aufnahme-, Transport- und Wirkverhaltens besonders für den Einsatz mittels Stamminjektion und zur Bekämpfung von Feuerbrandinfektionen eignen, und sich nicht in den Früchten behandelter Bäume anreichern würden.

Zum Anderen bedurfte es der Konstruktion von praxisorientierten Prototypen, welche eine sichere, umweltneutrale, gewebeschonende, ergonomische und von Infrastruktur unabhängige Stamminjektion an Solitär- und Plantagenbäumen ermöglichen.

Entsprechend der ersten Anforderung wurden geeignet erscheinende Substanzen mit systemischen und Resistenzinduzierenden Eigenschaften bezüglich ihrer Wirkung mittels Stamminjektion gegen Feuerbrandbefall als Alternativen zu Plantomycin® im Gewächshaus und Freiland getestet.

Des Weiteren wurden Früchte behandelter Obstbäume einer entsprechenden Analytik unterzogen, um reale Daten der tatsächlichen Rückstandssituation zu generieren.

Bezüglich der zweiten Anforderung wurde ein Prototyp zur Stamminjektion an Solitär- und Plantagenbäumen konstruiert und praktisch erprobt. Des Weiteren erfolgte bezüglich dieser Konstruktion eine deutsche (10 2009 033 777.6) und eine europäische (10 007 347.7) Patentanmeldung.

3 Erzielte Ergebnisse

3.1 Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen den Feuerbranderreger

3.1.1 Injektor zur Durchführung der Untersuchungen

Der ChemJet®-Bauminjektor (Abb. 1) entspricht dem Prinzip einer, mit Rückstellspiralfeder versehenen Spritze. Die als Bohrschraube gestaltete Spritzenspitze gewährleistet einen festen Sitz am zuvor angebohrten Stamm oder Trieb.



Abb. 1: ChemJet®- Bauminjektor im Einsatz.

Die Befüllung des Injektors erfolgt ähnlich wie bei einer Applikationsspritze. Durch Eintauchen der Spritzenspitze in die gewünschte Flüssigkeit und gleichzeitigem Zurückziehen des Kolbens gegen die Kraft der Spiralfeder wird die Flüssigkeit in die Kammer des Injektors aufgezogen. Das Aufnahmevermögen beträgt maximal 20 ml. Durch eine Drehung des Kolbens im Uhrzeigersinn kann dieser in eine entsprechende Vorrichtung eingerastet werden. Das befüllte Gerät wird anschließend in ein zuvor in den Stamm gebohrtes Loch eingedreht. Nach Lösen der Arretierung durch Zurückdrehen des Kolbens gegen den Uhrzeigersinn ermöglicht der, von der zusammengepressten Spiralfeder erzeugte Druck die Aufnahme der zuvor in den Injektor aufgezogenen Flüssigkeit in die Leitbahnen des Xylems.

3.1.2 Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen Feuerbrandbefall an Birnentrieben

3.1.2.1 Material und Methode

Die Untersuchungen erfolgten im ersten Projektjahr (2008) an 2 Jahre alten, in 10-Liter-Containern gepflanzten Birnbäumen der Sorte Conference. Die Bäume wurden in einem 50 m langen Folientunnel (Abb. 4), dessen Belüftung durch ein integriertes Ventilatoren-Register erfolgte, kultiviert. Die Stamminjektion mit dem Produkt Bion® (2 mg bzw. 4 mg) sowie den Wirkstoffen Fosetyl-Al (100 mg bzw. 400 mg) und Prohexadion-Ca (30 mg bzw. 50 mg) erfolgte mit dem ChemJet® (Abb. 1), 8-12 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, unter randomisierten Bedingungen, an jeweils acht Bäumen. Acht weitere Birnbäume, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Für einen Vergleich mit der üblicherweise praktizierten Blattapplikation von Streptomycin wurden außerdem acht weitere Bäume, sechs Stunden vor der

Inokulation mit *Erwinia amylovora*, mittels Rückenspritze, mit Plantomycin® (1,6 g/l) behandelt. Die Inokulation mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze an jeweils zwei Birnbäumen pro Versuchs- oder Kontrollansatz. Hierzu wurde die gesamte Blattmasse ausreichend mit Inokulat benetzt. Die inokulierten Bäume wurden anschließend eingetütet und 12 Stunden bei 100 % RF inkubiert. In Anlehnung an die EPPO Richtlinie PP 1/166(3) war geplant, dass der, durch die künstlich inokulierten Bäume erzeugte Befallsdruck die restlichen Versuchs- und Kontrollbäume realitätsnah infizieren würde. Da sich dieser Plan jedoch nicht umsetzen ließ und sich der Befall mit *Erwinia amylovora* auch nach mehreren Wochen weiterhin nur an den Triebspitzen der künstlich inokulierten Birnbäume nachweisen ließ (Abb. 2), wurden lediglich diese zur Bonitur herangezogen.



Abb. 2: Befall mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen von Conference.

Hierzu wurde, eine Woche nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* die Gesamtzahl der Triebspitzen und die Anzahl der befallenen Triebspitzen pro Baum ausgezählt, und daraus der jeweilige prozentuale Befall pro Baum ermittelt. Die Werte der einzelnen Wiederholungen wurden anschließend gemittelt.

3.1.2.2 Ergebnisse und Diskussion

Der bezüglich Kontrolle und Versuchsansätzen ermittelte prozentuale Befall durch *Erwinia amylovora* an Triebspitzen zweijähriger Birnbäume ist in Abb. 3 dargestellt.

Den höchsten prozentualen Befall durch *Erwinia amylovora* wies die Kontrolle (46,4 %) auf. Dieser Wert unterscheidet sich, auch unter Einbezug der Fehlerindikation deutlich von den Werten der anderen Ansätze. Somit erzielten alle Versuchsvarianten eine Reduktion des Befalls.

Der prozentuale Befall durch *Erwinia amylovora* an Triebspitzen der Birnbäume, denen 2 mg bzw. 4 mg Bion® injiziert wurden betrug 34,5 % bzw. 25,5 %. Bei der Injektion von Bion® ließ sich somit eine gewisse Tendenz erkennen, dass der Befall durch *Erwinia amylovora* mit steigender Substanzmenge verringert wurde. Allerdings war die Injektionsmenge für Bion® aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit seines aktiven Wirkstoffs Acibenzolar-S-Methyl (7,7 mg/l bei 25°C und pH 7,5) stark begrenzt, weshalb sich eine nochmalige Erhöhung der Injektionsmenge und somit eine weitere Verringerung des Befalls nicht realisieren ließ.

Mittels Stamminjektion von 100 mg bzw. 400 mg Fosetyl-Al pro Versuchsbaum wurde der Befall mit *Erwinia amylovora* auf 20,9 % bzw. 21,2 % verringert. Somit konnte in diesem Fall keine weitere Verringerung des Befalls durch Erhöhen der Injektionsmenge erzielt werden. Außerdem erzeugte die Stamminjektion von Fosetyl-Al bereits mit Mengen von 100 mg pro Baum

Schäden an den Blättern, in Form von Verfärbungen und teilweisem Austrocknen der Blattspitzen und -ränder. Aus diesem Grund wurde die Injektion von Fosetyl-Al nicht weiter verfolgt.

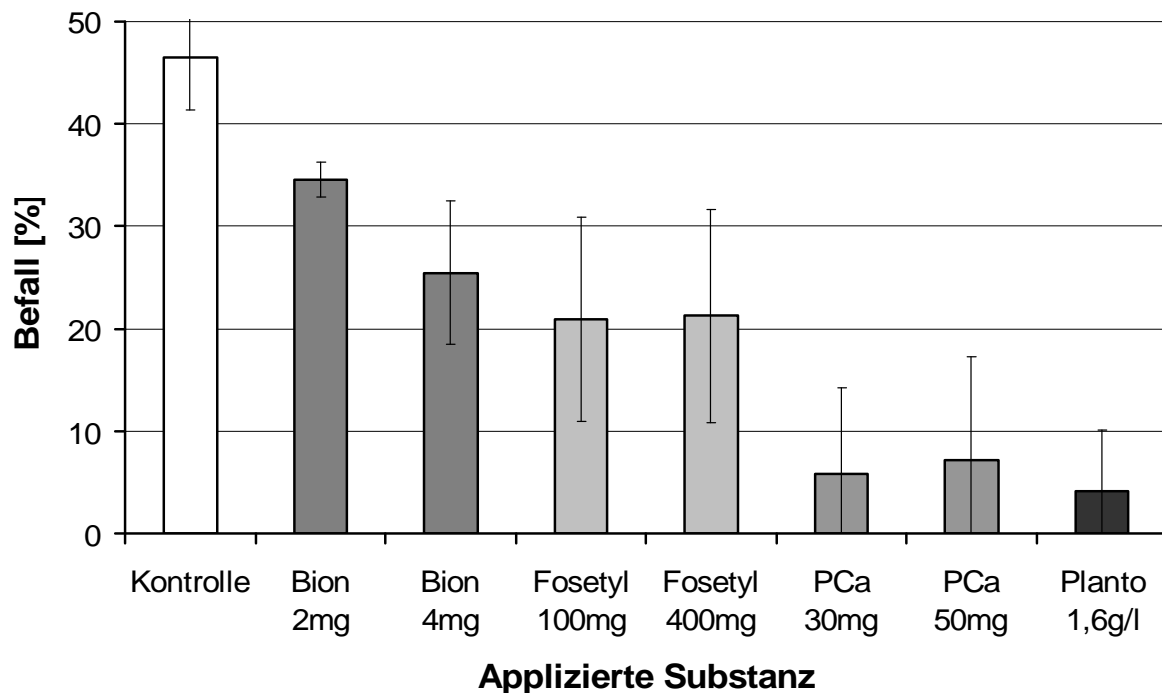


Abb. 3: Prozentualer Befall mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen von zweijährigen Birnbäumen der Sorte Conference. Die Injektionen von Bion® (Bion), Fosetyl-Al (Fosetyl), Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, 8-12 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 6 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht. Die Inokulation der Blätter mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze. Anschließend erfolgte durch Eintüten eine 12-stündige Inkubation der Bäume bei 100% RF. Eine Woche nach der Inokulation erfolgte die Befallsaufnahme. Die Werte resultieren aus 2 Wiederholungen.

Am effektivsten wurde der Befall mit *Erwinia amylovora* durch die Stamminjektion von 30 mg bzw. 50 mg Prohexadion-Ca pro Versuchsbaum reduziert. Der prozentuale Befall betrug dann lediglich 5,9 % bzw. 7,1 % und

entsprach dabei, unter Einbezug der Fehlerindikation dem Wert von gespritztem Plantomycin® (4,2 %).

Somit resultierte lediglich stamminjiziertes Prohexadion-Ca als geeignete Alternative zu blattappliziertem Plantomycin®. Offen blieb zunächst die Frage nach der geeigneten Prohexadion-Ca-Menge für die Stamminjektion.

3.1.3 Untersuchungen zum Auffinden einer geeigneten Prohexadion-Ca-Menge für die Stamminjektion gegen Feuerbrandbefall an Birnentrieben

3.1.3.1 Material und Methode

Zum Auffinden einer geeigneten Prohexadion-Ca-Menge für die Stamminjektion wurden im ersten Projektjahr (2008) erneut Experimente an 2 Jahre alten, in 10-Liter-Containern gepflanzten Birnbäumen der Sorte Conference durchgeführt. Die Kultur der Bäume erfolgte wiederum in einem 50 m langen Folientunnel. Die Stamminjektion mit Prohexadion-Ca (10 mg bzw. 30 mg bzw. 50 mg bzw. 70 mg bzw. 90 mg) erfolgte mit dem ChemJet® (Abb. 1), 13 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, unter randomisierten Bedingungen, an jeweils zehn Bäumen (Abb. 4). Zehn weitere Birnbäume, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Für einen Vergleich mit der üblicherweise praktizierten Blattapplikation von Streptomycin wurden außerdem zehn weitere Bäume, sechs Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, mittels Rückenspritze, mit Plantomycin® (1,6 g/l) behandelt. Die Inokulation mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze an allen Versuchs- und Kontrollbäumen.

Hierzu wurde die gesamte Blattmasse ausreichend mit Inokulat benetzt. Anschließend wurden die inokulierten Bäume eingetütet und 12 Stunden bei 100 % RF inkubiert.



Abb. 4: Stamminjektion mit dem ChemJet® an zweijährigen Birnbäumen.

Im Anschluss an die Inokulation erfolgten die Bonituren dreimal im 14tägigen Rhythmus. Hierzu wurde die Gesamtzahl der Triebspitzen und die Anzahl der befallenen Triebspitzen pro Baum ausgezählt, und daraus der jeweilige prozentuale Befall pro Baum ermittelt. Die Werte der einzelnen Wiederholungen wurden gemittelt. Abschließend wurden die Daten statistisch aufgearbeitet (Tuckey Test, $P < 0,050$).

3.1.3.2 Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse zum Auffinden einer geeigneten Prohexadion-Ca-Menge für die Stamminjektion sind in Abb. 5 dargestellt.

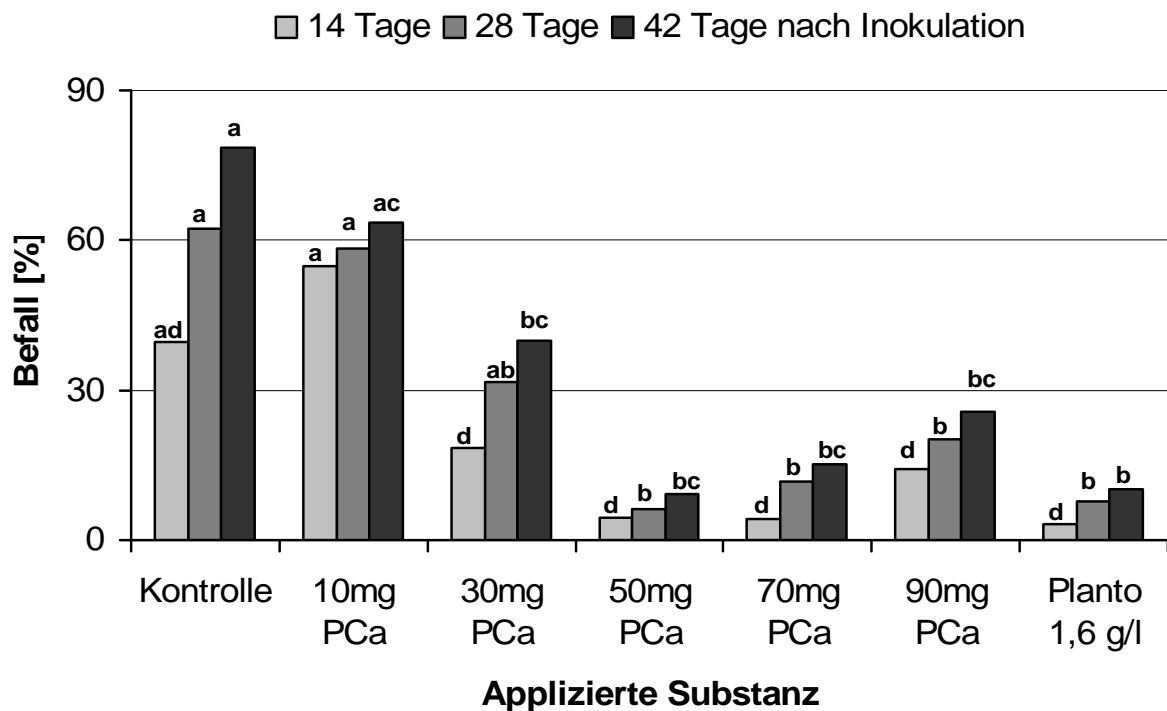


Abb. 5: Prozentualer Befall mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen von zweijährigen Birnbäumen der Sorte Conference.

Die Injektionen von Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, 13 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 6 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht.

Die Inokulation der Blätter mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze. Anschließend erfolgte durch Eintüten eine 12-stündige Inkubation der Bäume bei 100% RF.

Die Befallsaufnahme erfolgte in 14-tägigen Abständen, beginnend 14 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora*.

Die Werte resultieren aus 10 Wiederholungen.

Die Injektion von 10 mg Prohexadion-Ca pro Birnbaum erbrachte im Vergleich zur Kontrolle keine Reduktion des Befalls mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen.

Bereits mit 30 mg Prohexadion-Ca ließ sich der Befall um ca. 50 % reduzieren.

Die Bäume, denen 50 mg Prohexadion-Ca injiziert wurden, wiesen während des bonitierten Zeitraums einen sehr geringen Befall mit *Erwinia amylovora* auf, der lediglich einem Zehntel des Befalls der Kontrollen entsprach.

Die weitere Erhöhung der Prohexadion-Ca-Menge auf 70 mg pro Baum bzw. 90 mg pro Baum erbrachte keine weitere Reduktion des Befalls mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen. Unter Einbezug der Statistik entsprachen diese Werte denen, welche bereits mit 50 mg Prohexadion-Ca erzielt wurden.

Die Blattapplikation von Plantomycin® reduzierte den Befall mit *Erwinia amylovora* an Triebspitzen ebenfalls sehr gut. Die mit Plantomycin® erzielte Befallsreduktion entsprach dabei den Werten die mittels Stamminjektion von Prohexadion-Ca ab einer Menge von 50 mg pro Baum resultierten.

Somit sollten besonders Prohexadion-Ca-Mengen, die deutlich über 30 mg betragen, zur Bekämpfung von *Erwinia amylovora* an Trieben zweijähriger Obstbäumen geeignet sein.

3.1.4 Untersuchungen zur Wirkung stamminjizierter Substanzen gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten

3.1.4.1 Material und Methode

Die Untersuchungen wurden im zweiten Projektjahr (2009) an 2 Jahre alten, in 10-Liter-Containern gepflanzten Apfelbäumen der Sorte Klarapfel durchgeführt. Die Kultur der Bäume erfolgte im Gewächshaus bei $23^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ und $40\% \pm 10\%$ RF. Die Stamminjektion mit den Produkten Farika® (0,5 %) und Folanx® (1 %) sowie dem Wirkstoff Prohexadion-Ca (40 mg) erfolgte mit dem ChemJet® (Abb. 1), 8 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, unter randomisierten Bedingungen, an jeweils acht Bäumen. Die eingesetzten Konzentrationen von Farika® und Folanx® wurden von der Herstellerfirma Lanxess vorgegeben und waren auf 0,5 % und 1 % begrenzt, da höher konzentrierte Lösungen, die über das Xylem appliziert werden, Blütenschäden verursachen (pers. Mitteil. Saalfeld, Lanxess). Acht weitere Apfelbäume, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Für einen Vergleich mit der üblicherweise praktizierten Blattapplikation von Streptomycin wurden außerdem acht weitere Bäume, vier Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, mittels Rückenspritze, mit Plantomycin® (1,6 g/l) behandelt. Die Inokulation mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^6 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze an allen Versuchs- und Kontrollbäumen. Hierzu wurden alle Blüten und Knospen ausreichend mit Inokulat benetzt. Anschließend wurden die inokulierten Bäume eingetütet und 12 Stunden bei 100 % RF inkubiert. Die Bonitur erfolgte eine Woche nach der Inokulation. Hierzu wurde die Gesamtzahl der Blütenbüschel und die Anzahl der befallenen Blütenbüschel (Abb. 6) pro Baum ausgezählt, und daraus der jeweilige prozentuale Befall pro Baum ermittelt. Die Werte der einzelnen Wiederholungen wurden gemittelt.

Abschließend wurden die Daten statistisch aufgearbeitet (Tuckey Test, $P < 0,050$).



Abb. 6: Befall mit *Erwinia amylovora* an Blütenbüschel von Klarapfel.

3.1.4.2 Ergebnisse und Diskussion

Der bezüglich Kontrolle und Versuchsansätzen ermittelte prozentuale Befall durch *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln zweijähriger Apfelbäume ist in Abb. 7 dargestellt.

Den höchsten Befall wiesen die Kontrolle (24,5 %) und der Versuchsansatz mit 0,5 % Farika® (24,6 %) auf. Somit erzielte die Stamminjektion von Farika® keine Wirkung zur Bekämpfung des Feuerbranderreger an Blütenbüscheln.

Mittels Injektion von 1 % Folanx® wurde der prozentuale Befall von *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln zumindest auf 20,5 % verringert.

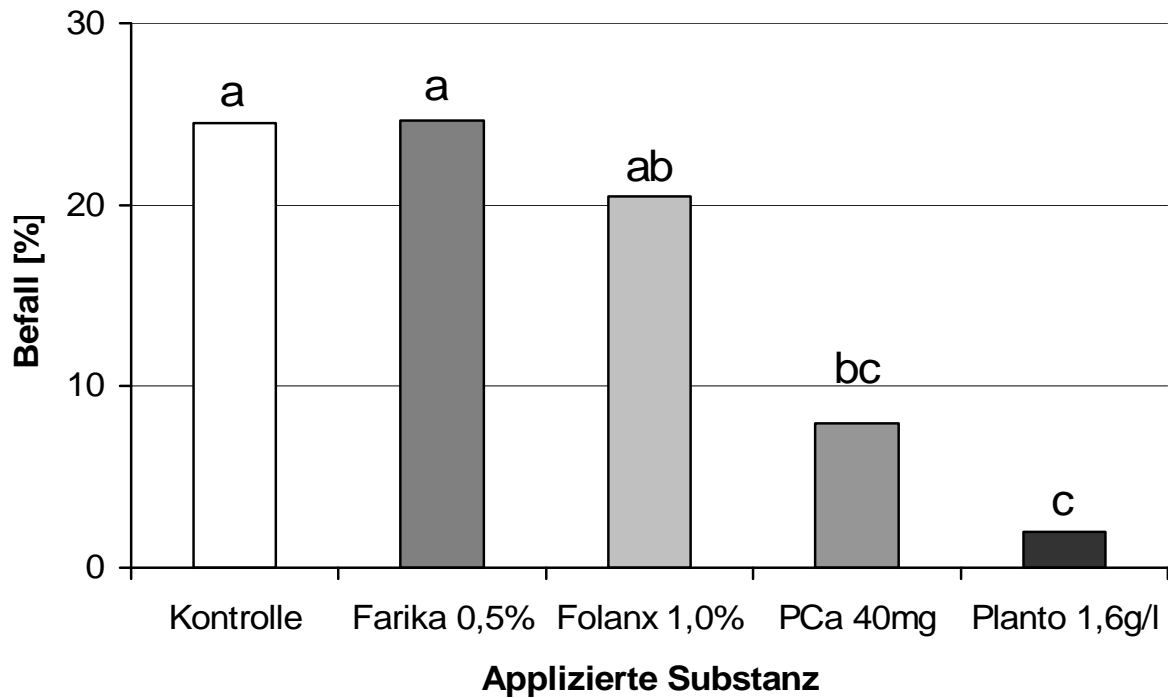


Abb. 7: Prozentualer Befall mit *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln von zweijährigen Apfelbäumen der Sorte Klarapfel. Die Injektionen von Farika (0,5 %), Folanx (1 %), Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, 8 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 4 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht. Die Inokulation der Blütenbüschel mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^6 Zellen/ml) wurde mittels Handspritze durchgeführt. Anschließend erfolgte durch Eintüten eine 12-stündige Inkubation der Bäume bei 100% RF. Die Befallsaufnahme erfolgte 7 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Die Werte resultieren aus 8 Wiederholungen.

Bedeutend stärker wurde der Feuerbrandbefall durch die Stamminjektion von 40 mg Prohexadion-Ca pro Versuchsbaum reduziert. Der prozentuale Befall betrug dann lediglich 7,9 % und lag somit nur geringfügig über dem Wert von blattappliziertem Plantomycin® (2,0 %).

Stamminjiziertes Prohexadion-Ca resultierte somit erneut als einzig sinnvolle Alternative zu Plantomycin®. Es stellte sich nun die Frage, ob stamminjiziertes Prohexadion-Ca seine im Gewächshaus ermittelte Wirkung auch gegen primären Feuerbrandbefall an Blüten im Freiland entfalten könnte.

3.1.5 Freilanduntersuchungen zur Wirkung von stamminjiziertem Prohexadion-Ca gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten

3.1.5.1 Material und Methode

Die Untersuchungen erfolgten im zweiten Projektjahr (2009) an 3 Jahre alten, ein Jahr zuvor in der Freilandanlage „Krautgarten“ des Dienstleistungszentrums Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz ausgepflanzten Apfelbäumen der Sorte Gala Must. Die Stamminjektion mit Prohexadion-Ca (40 mg) erfolgte am 06.04.2009 mit dem ChemJet® (Abb. 1), 14 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, unter randomisierten Bedingungen, an 60 Bäumen (Abb. 8). Sechzig weitere Apfelbäume, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Für einen Vergleich mit der üblicherweise praktizierten Blattapplikation von Streptomycin wurden am 20.04.2009 außerdem 60 weitere Bäume, vier Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, mittels Rückenspritze, mit Plantomycin® (1,6 g/l) behandelt. Die Inokulation mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze an jeweils acht Apfelbäumen pro Versuchs- oder Kontrollansatz. Hierzu wurden die Blütenbüschel ausreichend mit Inokulat benetzt. Die inokulierten Bäume wurden anschließend eingetütet und 12 Stunden bei 100 % RF inkubiert. In Anlehnung an die EPPO Richtlinie PP 1/166(3) war geplant, dass der, durch die künstlich inokulierten Bäume erzeugte Befallsdruck die restlichen Versuchs- und Kontrollbäume realitätsnah infizieren würde. Da sich dieser Plan jedoch

auch nicht im Freiland umsetzen ließ und sich der Befall mit *Erwinia amylovora* auch nach mehreren Wochen nur an den Triebspitzen der künstlich inokulierten Apfelbäume nachweisen ließ, wurden lediglich diese zur Bonitur herangezogen.



Abb. 8: Stamminjektion mit dem ChemJet® an dreijährigen Apfelbäumen.

Hierzu wurden, am 04.05.2009, am 11.05.2009 und am 18.05.2009, also zwei Wochen, drei Wochen und vier Wochen nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* die Gesamtzahl der Blütenbüschel und die Anzahl der befallenen Blütenbüschel pro Baum ausgezählt, und daraus der jeweilige prozentuale Befall pro Baum ermittelt. Die Werte der einzelnen Wiederholungen wurden gemittelt. Abschließend wurden die Daten statistisch aufgearbeitet (Tuckey Test, $P < 0,050$).

3.1.5.2 Ergebnisse und Diskussion

Der bezüglich Kontrolle und Versuchsansätzen ermittelte prozentuale Befall durch *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln dreijähriger Apfelplantagenbäume ist in Abb. 9 dargestellt.

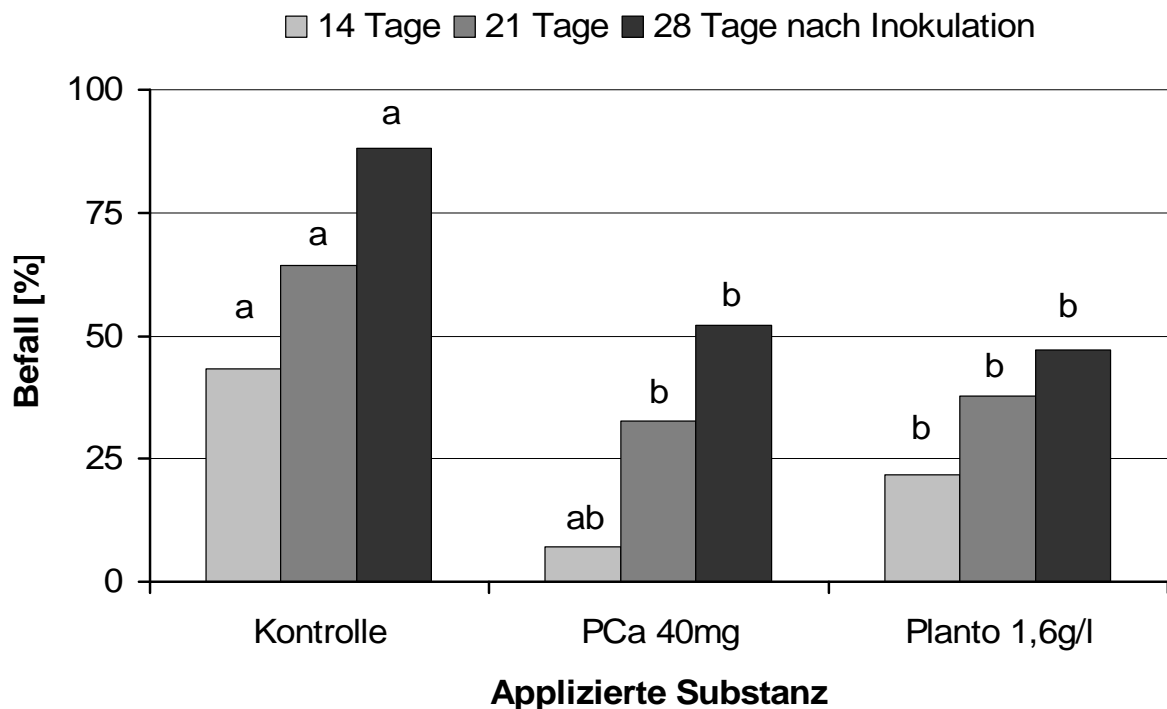


Abb. 9: Prozentualer Befall mit *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln von dreijährigen Apfelbäumen der Sorte Gala Must. Die Injektionen von Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, 14 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 4 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht. Die Inokulation der Blütenbüschel mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) wurde mittels Handspritze durchgeführt. Anschließend erfolgte durch Eintüten eine 12-stündige Inkubation der Bäume bei 100% RF. Die Befallsaufnahme erfolgte 14, 21 und 28 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Die Werte resultieren aus 8 Wiederholungen.

Die höchsten prozentualen Befallswerte wies die Kontrolle auf. So betrug der prozentuale Befall, welcher 14 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* ermittelt wurde bereits 43,2 %, und stieg in den beiden darauffolgenden Wochen bis auf 88,1 % an.

Die Befallswerte der Bäume, welche mit 40 mg Prohexadion-Ca behandelt wurden lagen deutlich unter den Werten der Kontrollen, wenngleich sie sich, 14 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* noch nicht einwandfrei statistisch voneinander unterschieden. In der darauffolgenden Woche unterschieden sich die Werte der mit Prohexadion-Ca behandelten Bäume (32,6 %) jedoch signifikant von den Werten der Kontrolle, welche nun bereits den doppelten Befall aufwies (64,2 %). Am Ende der Untersuchungen, 4 Wochen nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* betrug der Befall der mit Prohexadion-Ca behandelten Bäume 52,2 %.

Die Befallswerte der Bäume, welche mit Plantomycin® behandelt wurden entsprachen größtenteils den Werten der an Bäume, welche mit Prohexadion-Ca behandelt wurden, und unterschieden sich, 21 Tage nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora* nicht mehr signifikant voneinander.

Somit konnte in diesen praxisbezogenen Freilanduntersuchungen gezeigt werden, dass stamminjiziertes Prohexadion-Ca bezüglich seiner Wirkung gegen primären Feuerbrandbefall an Apfelbaumblüten eine reelle Alternative zu blattappliziertem Plantomycin® darstellt. Allerdings wurden an den mit Prohexadion-Ca behandelten Bäumen starke Triebstauchungen (Abb. 10) beobachtet, welche aufgrund der bioregulatorischen Wirkung von Prohexadion-Ca (Rademacher 2004, Spinelli et al. 2005) resultieren dürften. Für die weiteren Untersuchungen stellte sich somit die Frage, ob eine Reduktion der injizierten Prohexadion-Ca-Menge die unerwünschten Triebstauchungen verringern könnte ohne dass die erzielte Wirkung gegen Feuerbrandbefall beeinträchtigt würde.



Abb. 10: Trieb eines Kontrollbaumes (links) und eines mittels Injektion von Prohexadion-Ca behandelten Baumes (rechts).

3.1.6 Freilanduntersuchungen zur Modifizierung der Prohexadion-Ca-Menge für die Stamminjektion gegen Feuerbrandbefall an Apfelblüten

3.1.6.1 Material und Methode

Die Untersuchungen erfolgten im dritten Projektjahr (2010) an 4 Jahre alten, zwei Jahre zuvor ausgepflanzten Apfelbäumen der Sorte Gala Must. Die Stamminjektion mit Prohexadion-Ca (10 mg, 20 mg, 30 mg bzw. 40 mg) erfolgte am 25.03.2010 mit dem ChemJet® (Abb. 1), einen Monat vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, unter randomisierten Bedingungen, an jeweils 24 Bäumen. Vierundzwanzig weitere Apfelbäume, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Für einen Vergleich mit der üblicherweise praktizierten Blattapplikation von Streptomycin wurden am 26.04.2010 außerdem 24 weitere Bäume, drei Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*, mittels Rückenspritze, mit Plantomycin® (1,6 g/l) behandelt. Die Inokulation mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^6 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze an allen Versuchs- und Kontrollbäumen. Hierzu

wurden sämtliche Blütenbüschel ausreichend mit Inokulat benetzt. Der im Vergleich zu 2009 (10^7 Zellen/ml) um eine Zehnerpotenz geringere künstlich angelegte Befall (10^6 Zellen/ml) resultierte aus der Notwendigkeit, alle 144 Versuchs- und Kontrollbäume ausreichend mit Inokulat zu benetzen, ohne dabei die Vorgaben zur Genehmigung durch die ADD Trier bezüglich der maximalen *Erwinia amylovora* – Ausbringmengen zu überschreiten. Die Bonitur erfolgte am 25.05.2010, einen Monat nach der Inokulation. Hierzu wurden die Gesamtzahl der Blütenbüschel und die Anzahl der befallenen Blütenbüschel pro Baum ausgezählt, und daraus der jeweilige prozentuale Befall pro Baum ermittelt. Die Werte der einzelnen Wiederholungen wurden gemittelt. Abschließend wurden die Daten statistisch aufgearbeitet (Tuckey Test, $P < 0,050$).

3.1.6.2 Ergebnisse und Diskussion

Der bezüglich Kontrolle und Versuchsansätzen ermittelte prozentuale Befall durch *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln vierjähriger Apfelplantagenbäume ist in Abb. 11 dargestellt.

Den höchsten Befall wies die Kontrolle (21,6 %) auf.

Mittels Injektion von 10 mg, 20 mg, 30 mg bzw. 40mg Prohexadion-Ca wurde der prozentuale Befall von *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln auf 8,0 %, 6,8 %, 4,1 % bzw. 6,9 % verringert, wobei sich diese Werte nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Der Befall an den Bäumen, welche mit Plantomycin® behandelt wurden, betrug 5,2 % und unterschied sich nicht signifikant von den Werten der mit Prohexadion-Ca behandelten Bäume.

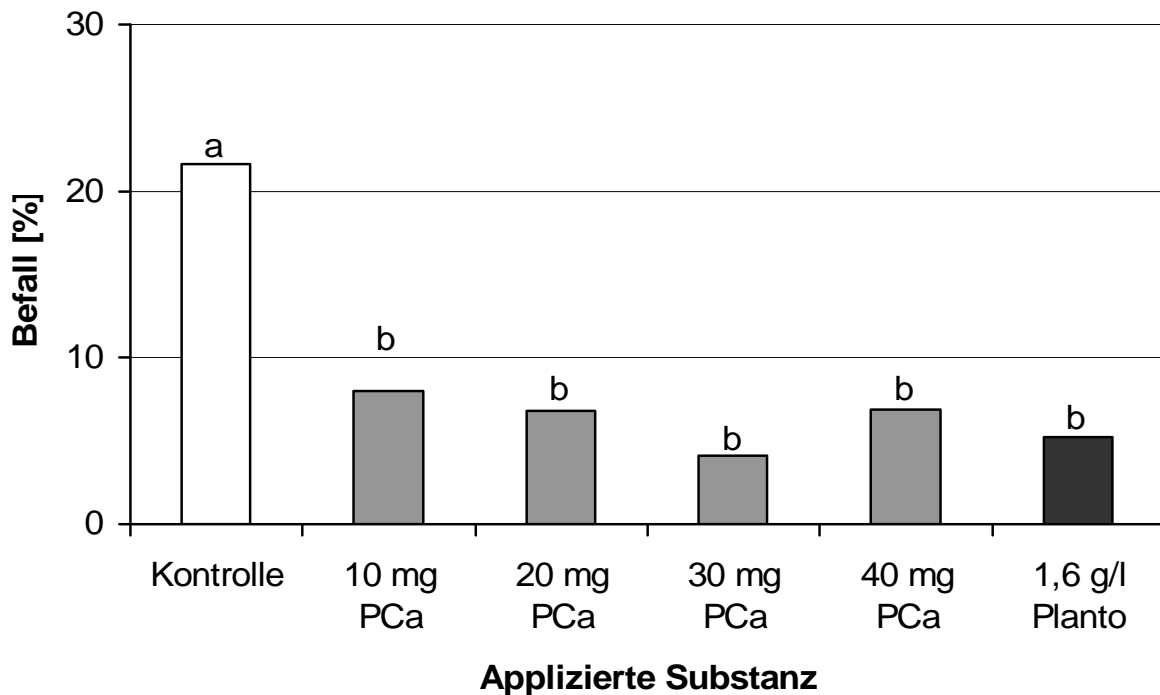


Abb. 11: Prozentualer Befall mit *Erwinia amylovora* an Blütenbüscheln von vierjährigen Apfelbäumen der Sorte Gala Must. Die Injektionen von Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, ein Monat vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 3 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht. Die Inokulation der Blütenbüschel mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^6 Zellen/ml) wurde mittels Handspritze durchgeführt. Die Befallsaufnahme erfolgte einen Monat nach der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Die Werte resultieren aus 24 Wiederholungen.

Es konnte gezeigt werden, dass bereits 10 mg stamminjiziertes Prohexadion-Ca eine reelle Alternative zur Blattspritzung mit Plantomycin® darstellt, um die Ausbreitung primären Feuerbrandbefalls (10^6 Zellen/ml) an Blütenbüscheln von vierjährigen Obstbäumen im Freiland zu unterbinden.

Dennoch erbrachte die Erniedrigung der Injektionsmenge von 40 mg Prohexadion-Ca auf bis zu 10 mg Prohexadion-Ca keine Verringerung der, durch die bioregulatorische Wirkung von Prohexadion-Ca verursachten Triebstauchungen (Abb. 10). Das verringerte Spross-Längenwachstum hatte außerdem zur Folge, dass die Früchte unter beengten Bedingungen heranwuchsen (Abb. 12), was weiterhin zu einem mengenmäßigen Ernteverlust führte (3.2).



Abb. 12: Fruchttragender, gestauchter Trieb eines mittels Stamminjektion von 10 mg Prohexadion-Ca behandelten Apfelbaumes.

Entsprechend dieser Ergebnisse stellte sich die Frage, ob es eine Möglichkeit gäbe, den unerwünschten Einfluss von Prohexadion-Ca auf das Spross-Längenwachstum zu verringern und gleichzeitig die bereits mehrfach nachgewiesene Wirkung zur Bekämpfung von primären Feuerbrandbefall an Blüten zu stärken?

Prohexadion-Ca unterbindet zum Einen bestimmte Schritte in der Gibberellin-Biosynthese, wodurch sich der Gehalt an wachstumsaktiven Gibberellinen verringert und somit bei behandelten Pflanzen zu einem reduzierten Spross-Längenwachstum führt (Rademacher 2000). Zum Anderen hemmt Prohexadion-Ca aber auch ein Enzym des Flavanoidstoffwechsels, wodurch letztendlich 3-Deoxyflavane entstehen, welche den behandelten Obstbäumen eine stärkere Widerstandskraft gegen das Feuerbrandbakterium verleihen (Rademacher 2004, Spinelli et al. 2005). Somit werden grundsätzlich beide Effekte durch die Injektion von Prohexadion-Ca erzeugt.

Mit Vertretern der BASF wurde diskutiert, dass eine Schwächung der bioregulatorischen Wirkung auf das Längenwachstum vielleicht durch einen Applikationszeitpunkt im Herbst, Winter oder im zeitigen Frühjahr vor dem Austrieb der Blätter erzielt werden könnte. Da Pflanzen in unseren Breiten bereits im späten Herbst das allgemeine Wachstum einstellen, könnte angenommen werden, dass die Injektion von Prohexadion-Ca zu diesem oder einem späteren Zeitpunkt im Winter, keine bioregulatorischen Effekte bezüglich des Längenwachstums erzeugen. Unter der Voraussetzung, dass die Pflanze zu diesem Zeitpunkt jedoch bereits Resistenz gegen Feuerbrand erwerben und bis ins nächste Jahr erhalten könnte, ließe sich der gewünschte Effekt möglicherweise, unter der Voraussetzung dass Prohexadion-Ca über Winter in der Pflanze metabolisiert würde, von der unerwünschten bioregulatorischen Wirkung auf das Längenwachstum „entkoppeln“.

Aufgrund der Relevanz positiver Ergebnisse zur vorliegenden Hypothese für die Praxistauglichkeit des in diesem Projekt erarbeiteten Verfahrens würde sich die Durchführung eines Folgeprojekts zur Klärung der offenen Fragen anbieten.

3.2 Untersuchungen zur Rückstandssituation in Früchten mittels Stamminjektion von Prohexadion-Ca behandelter Apfeläume

Um einen Einsatz von stamminjiziertem Prohexadion-Ca in der Praxis zu ermöglichen muss zunächst sichergestellt werden, dass neben einer guten Wirksamkeit die Rückstände in den Früchten der behandelten Bäume unterhalb des gesetzlich vorgeschriebenen Grenzwerts liegen. Dieser beträgt zurzeit EU-weit 0,05 mg/kg.

Die Methode zur Ermittlung der Rückstandssituation von Prohexadion-Ca in Äpfeln wurde von der BASF (vertraulich) zur Verfügung gestellt und im ersten Projektjahr (2008) am Institut für Agrarökologie der RLP AgroScience etabliert. Die Methode besteht aus drei Arbeitsschritten, nämlich der Extraktion der Äpfel, einer anschließenden Aufreinigung des Extrakts und letztendlich der Gehaltsbestimmung mit LC-MS/MS.

Die eigentlichen Untersuchungen erfolgten dann im zweiten (2009) und dritten (2010) Projektjahr mit Früchten der Kontrollen (zur Bestimmung der Apfelmatrix) und mit Früchten der mit Prohexadion-Ca behandelten Bäume (zur Bestimmung der Rückstandssituation) aus 3.1.5 und 3.1.6.

Vor den eigentlichen Rückstandsuntersuchungen wurden zunächst die Früchte aller Versuchs- und Kontrollansätze geerntet, ausgezählt und vermessen.

Im zweiten Projektjahr (2009) wurden zunächst alle Früchte der bonitierten Versuchs- und Kontrollansätze (3.1.5) geerntet, per Hand ausgezählt, vermessen und gewogen. Die Ergebnisse bezüglich Gesamtzahl Äpfel, mittlerer Apfelumfang und mittleres Apfelgewicht pro Versuchs- bzw. Kontrollansatz sind in Abb. 13 dargestellt.

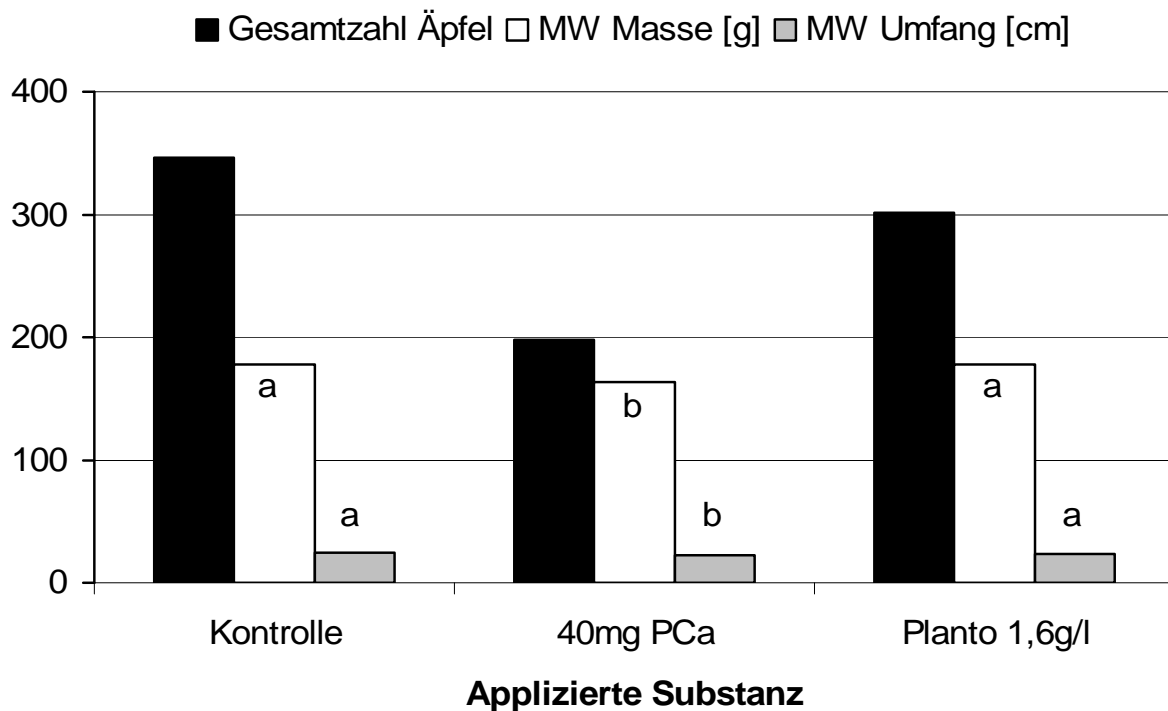


Abb. 13: Gesamtzahl, Mittelwert der Masse und Mittelwert des Umfangs von Äpfeln dreier Versuchs- bzw. Kontrollansätze an dreijährigen, mit *Erwinia amylovora* inokulierten Apfelbäumen der Sorte Gala Must. Die Injektionen von Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, 14 Tage vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 4 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht. Die Inokulation der Blütenbüschel mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^7 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze. Die Früchte stammen von jeweils 8 Bäumen pro Versuchs- bzw. Kontrollansatz.

Der Ansatz mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca (40mg) erbrachte die geringste Gesamtzahl an Äpfeln. Ebenso resultierte eine geringere durchschnittliche Masse und ein geringerer durchschnittliche Umfang der Äpfel im Vergleich zu den beiden anderen Ansätzen (Kontrolle und Plantomycyn). Diese Sachverhalte weisen erneut auf die unerwünschte, bezüglich des Längenwachstums bioregulatorische Wirkung von Prohexadion-Ca hin (3.1.5.2). Deshalb resultiert in künftigen Untersuchungen die Notwendigkeit nach einer möglichen „Entkopplung“ dieses unerwünschten Effekts von der mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca erzielten Resistenz gegen primären Feuerbrandbefall an Apfelblüten (3.1.6.2).

Von den geernteten Äpfeln des Ansatzes mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca (40 mg) wurden im zweiten Projektjahr (2009) 31 Proben aufgearbeitet und mittels LC-MS/MS vermessen. Die Ergebnisse bzgl. der gemittelten Rückstandssituation im Vergleich zum EU-Richtwert sind in Abb. 14 dargestellt.

Aus Abb. 14 geht hervor, dass der ermittelte Prohexadion-Ca-Rückstand (0,001 mg/kg) in den Früchten der mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca (40mg) behandelten Versuchsbäume bei Weitem unter dem EU-Richtwert (0,05 mg/kg) liegt. Der Einsatz von Prohexadion-Ca mittels Stamminjektion wäre also unter dem Gesichtspunkt der Produktionsrückstände im Endprodukt unter praxisgerechten Freilandbedingungen problemlos möglich.

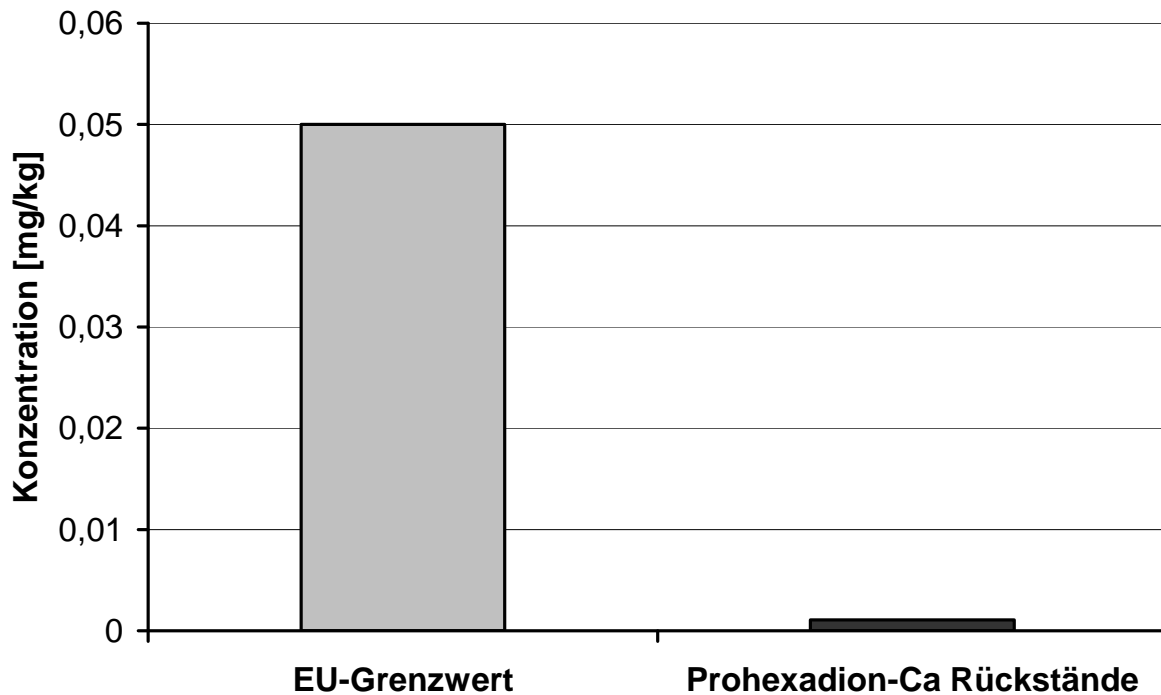


Abb. 14: Mittlere Rückstandskonzentration (31 Proben) von Prohexadion-Ca in Äpfeln von dreijährigen, mit Stamminjektion von Prohexadion-Ca (40 mg) behandelter Apfelbäume der Sorte Gala Must im Vergleich zum EU-Richtwert.

Im Herbst des dritten Projektjahrs (2010) wurden erneut die Früchte der bonitierten Versuchs- und Kontrollansätze (3.1.6) geerntet. Aufgrund der im Vergleich zum Vorjahr unerwartet hohen Erntemengen und instabiler Wetterbedingungen war es jedoch nicht möglich, die Äpfel aller Versuchs- und Kontrollansätze in einem adäquaten Zeitraum zu ernten. So konnten die Früchte der stamminjizierten Ansätze mit 10 bzw. 20 mg Prohexadion-Ca nicht mehr zu einem vernünftigen Zeitpunkt eingebracht werden. Um ein Verfälschen von Ergebnissen auszuschließen fanden diese beiden Versuchsreihen keine weitere Berücksichtigung.

Die Ergebnisse bezüglich der Einteilung der geernteten Äpfel in Handelsklassen sind in Abb. 15 dargestellt.

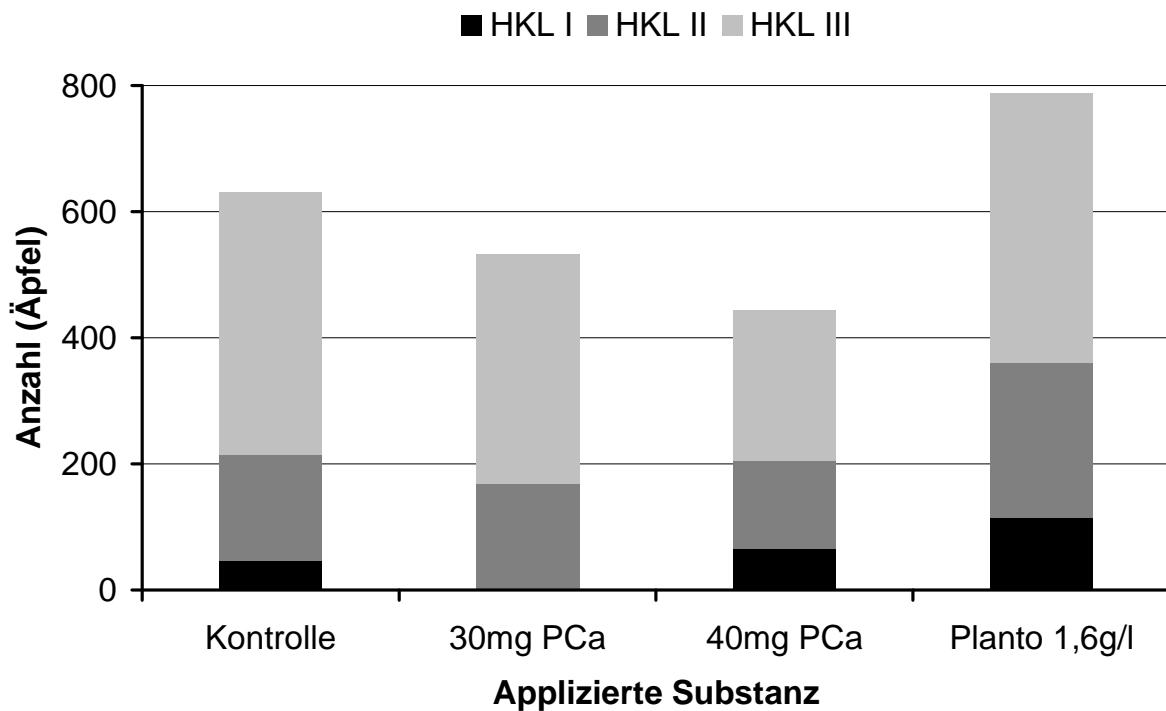


Abb. 15: In Handelsklassen (HKL 1, HKL 2, HKL 3) zugeordnete Anzahl von Äpfeln dreier Versuchsansätze und eines Kontrollansatzes an vierjährigen, mit *Erwinia amylovora* inokulierten Apfelbäumen der Sorte Gala Must.

Die Injektionen von Prohexadion-Ca (PCa) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem ChemJet®, ein Monat vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora*. Plantomycin® (Planto) wurde 3 Stunden vor der Inokulation mit *Erwinia amylovora* mittels Rückenspritze ausgebracht.

Die Inokulation der Blütenbüschel mit *Erwinia amylovora* – Suspension (10^6 Zellen/ml) erfolgte mittels Handspritze.

Die Früchte stammen von jeweils 24 Bäumen pro Versuchs- bzw. Kontrollansatz.

Der Versuchsansatz mit Plantomycin ermöglichte mengenmäßig in allen Handelsklassen die höchste Erntemenge. Die Ansätze mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca wiesen vor allem auf die Gesamtzahl bezogen die geringsten Erntemengen auf. Dieser Sachverhalt weist erneut auf die unerwünschte, bezüglich des Längenwachstums bioregulatorische Wirkung von Prohexadion-Ca und die Notwendigkeit bezüglich einer „Entkopplung“ dieses Effekts von der

mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca erzielten Resistenz gegen primären Feuerbrandbefall an Apfelblüten (3.1.6.2) hin.

Von den geernteten Äpfeln der Versuchsansätze mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca (30 mg, 40 mg) wurden im dritten Projektjahr (2010) je 16 Proben aufgearbeitet und mittels LC-MS/MS vermessen. Die Ergebnisse bzgl. der gemittelten Rückstandssituation der einzelnen Ansätze im Vergleich zum EU-Richtwert sind in Abb. 16 dargestellt.

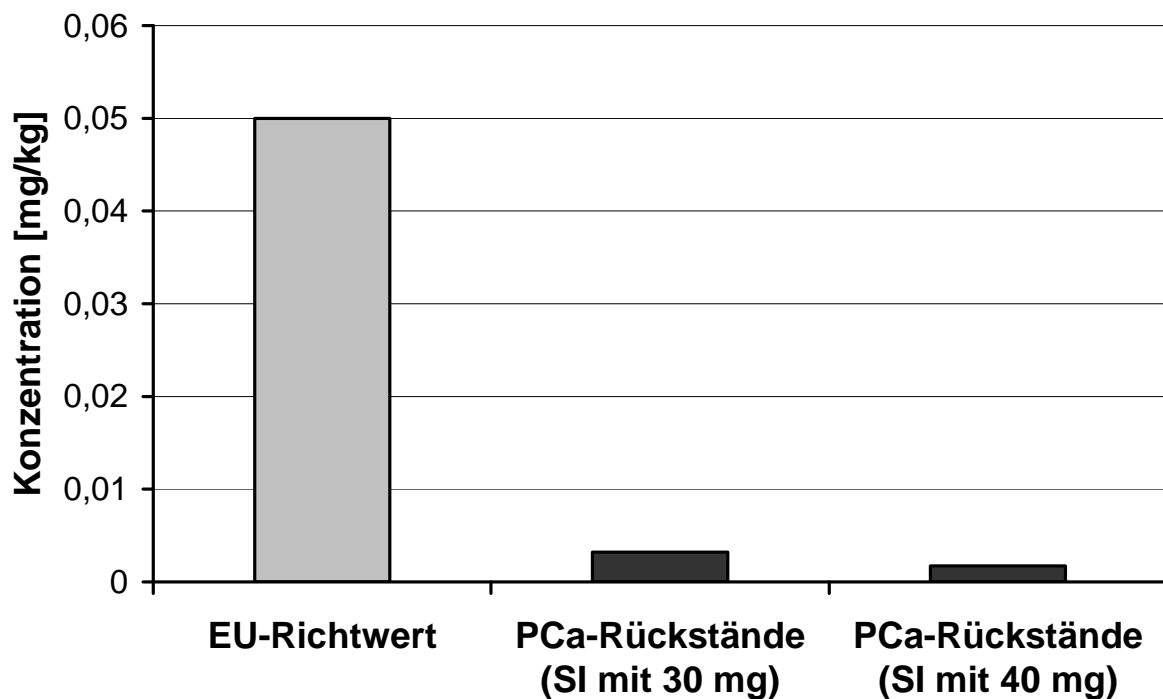


Abb. 16: Mittlere Rückstandskonzentration (16 Proben) von Prohexadion-Ca (PCa) in Äpfeln von vierjährigen, mit Stamminjektion (SI) von 30mg Prohexadion-Ca bzw. 40 mg Prohexadion-Ca behandelte Apfelbäume der Sorte Gala Must im Vergleich zum EU-Richtwert.

Aus Abb. 16 geht hervor, dass der jeweils ermittelte Prohexadion-Ca-Rückstand (0,0032 mg/kg bzw. 0,0017 mg/kg) in den Früchten der mit stamminjiziertem Prohexadion-Ca (30 mg bzw. 40 mg) behandelten Versuchsbäume bei Weitem unter dem EU-Richtwert (0,05 mg/kg) liegt.

Es konnte somit erneut gezeigt werden, dass der Einsatz von Prohexadion-Ca mittels Stamminjektion unter dem Gesichtspunkt der Produktionsrückstände im Endprodukt unter praxisgerechten Bedingungen im Freiland problemlos möglich wäre.

3.3 Technische Entwicklung eines Injektionsgeräts für den gewebeschonenden Einsatz an Obstgehölzen

3.3.1 Entwicklung eines gewebeschonenden Injektors

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde ein seriennaher Injektor entwickelt, welcher vornehmlich aus einem Standardteil (Winkelverbindungselement) und einer Edelstahlkanüle besteht. Dabei wurde für die prototypische Erprobung des Verfahrens die seitens der Technischen Universität Kaiserslautern entwickelte Kanülengeometrie zunächst beibehalten. Der einfache Aufbau der Injektoreinheit ermöglicht einen sehr schnellen Wechsel der Kanülen während des Betriebes.

Weiterhin zeichnet sich die entsprechende Kanülengeometrie durch ihre konische Kontur aus, wodurch die beim Einpressvorgang notwendigen Steifigkeiten erreicht werden können. Die seitliche Kanülenöffnung beugt einer Verstopfung der Kanüle durch Pflanzenmaterial vor. Einer starken Wundausprägung an den Einstichstellen wird durch den kleinstmöglich herstellbaren Kanüldurchmessern zwischen 1,5 mm bis maximal 3 mm gehemmt.

Eine langsam ansteigende konische Kanülenkontur verhindert weiterhin eine mögliche Rissbildung / Holzspaltung während der Applikation (Abb. 17). Die Einbringung der Kanülen in den Stamm erfolgt dabei mittels mechanischer Einpressung (Hammer, einfache Rohrзangen oder entsprechend geeignete Werkzeuge) und kann bereits als bedienerfreundlich gewertet werden.

Anhand experimenteller Eindringversuche und praktischen Voruntersuchungen an Obstbäumen konnte gezeigt werden, dass ein maximaler Kanüledurchmesser von 2,5 mm verwendet werden kann, bei einer Kanülenlänge von 20 mm ohne weitere Rissbildung am Baumstamm. Für den Versuch wurde eine stetig ansteigende Einpresskraft im Gegensatz zu den real auftretenden Stoßimpulsen verwendet. Die dabei auftretenden Einpresskräfte von über 588 N führen durch die erhöhte Kanülensteifigkeit zu keinem Bauteilversagen. Dieses Ergebnis wurde ebenfalls in der praktischen Anwendung durch Einschlagen der Kanülen bestätigt.

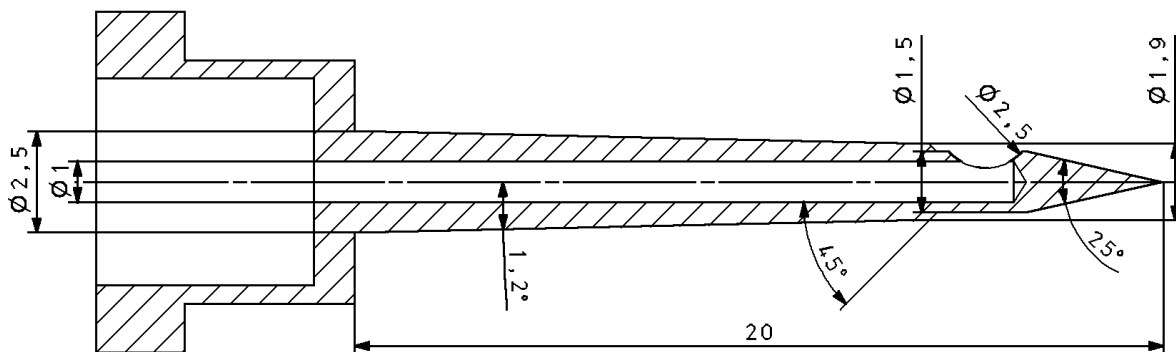


Abb. 17: Abmessungen der verwendeten Edelstahlkanülen.

Die zusätzliche Abdichtung der Kanüle mittels des neuen Absatzes führte dabei in der praktischen Anwendung bei den maximalen Fluidrücken zu keiner Leckage. Eine begleitend durchgeführte numerische Festigkeitsüberprüfung bestätigte dabei die experimentellen Befunde.

So befindet sich die kritischste Stelle der Kanüle an der seitlichen Öffnung, welche jedoch weit unterhalb der Festigkeitsgrenze des Werkstoffes liegt und somit als unkritisch zu bewerten ist (Abb. 18).

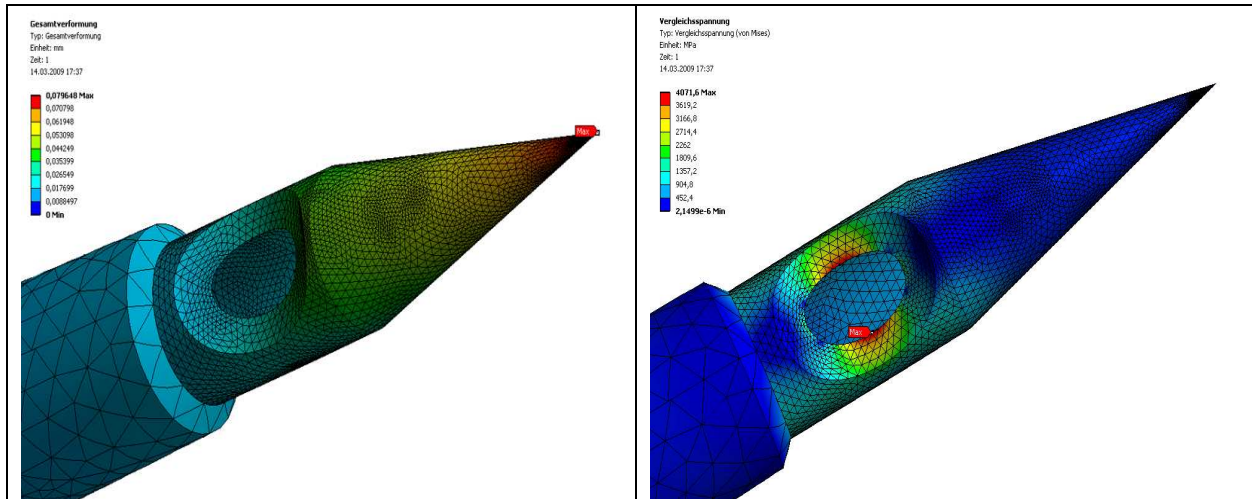


Abb. 18: Gesamtverformung der Kanüle und Vergleichsspannung an der kritischen Stelle bei $F=588\text{ N}$.

Die Untersuchungen bezüglich Kunststoffausführung der Kanüengeometrie haben gezeigt, dass mit dem zur Verfügung stehenden Kunststoff POM (Polyoxymethylen) keine ausreichende Festigkeit bei gleichzeitiger Forderung der minimalen Kanüengeometrie zur Vorbeugung von Stammverletzungen realisiert werden kann. Aus diesem Grund ist eine Edelstahlausführung auch in der späteren Serienproduktion vorzuziehen.

Bei der Verwendung der Kanüengeometrie können kleinstmögliche Verletzungen am Baumstamm erreicht werden. Ebenfalls hat sich herausgestellt, dass durch die direkte Einpressung der Kanülen in das Holz im Gegensatz zu anderen gängigen Verfahren eine schnellere Wundheilung garantiert werden kann. Die Holzstruktur wird beim Einpressen lediglich verdrängt und ermöglicht somit nach der Applikation schnellere Wundverschlüsse. Nach 3 Monaten konnte erkannt werden, dass die Verletzungen vollständig verschlossen waren.

Mit Hinblick auf die Applikationsdauer in der Grob­anwendung wirkt jedoch die Verwendung der speziellen Kan­ulengeometrie bei Baumst­ämme einer schnellen Impfung entgegen. Gerade die ver­hältnismäßig kleine Austritts­öffnung entspricht dabei einem zusätzlichen Strömungswiderstand. In einem durchgeführten Vergleich bezüglich der Applikationsdauer wurde die benötigte Zeit zum Applizieren einer identischen Impfdosis von $Q=0,8$ L unter Verwendung einer Standard-Veterinärkan­üle mit Stammvorbohrung und dem direkten Einpressen der angepassten Kan­ülen verglichen. Dabei hat sich herausgestellt, dass die Applikationsdauer bei Verwendung von Standard-Kan­ülen um mehr als 20 min beschleunigt ist. Aus diesem Grund ist ein Kompromiss zwischen Applikationsdauer und systembedingter Verletzungen neu zu beurteilen. Als Konsequenz für das Applikationsverfahren ist daher eine weitere Kan­ülenoptimierung anzustreben, was jedoch im Rahmen dieses Forschungsvorhaben nicht erreicht werden konnte.

Durch die Verwendung einer standardisierten Kan­ülenverschraubung im Injektor können je nach Bedarf verschiedene Kan­ülenlängen verwendet werden, was die Anwendungsvielfalt bei verschiedenen Baumgattungen in Abhängigkeit der Borkendicke und Stammdurchmesser erhöht. Im Hinblick auf eine kostengünstige Realisierung des Injektorsystems der Kan­ülenaufnehmer wurde die Kan­ulengeometrie für eine Verwendung durch standardisierte Winkel-Verschraubungen von pneumatischen Leitungssystemen angepasst (Abb. 19). Hierdurch ergeben sich für den Kan­ülenaufnehmer realisierbare Kosten von 2,00 €. Durch die Verwendung standardisierter Veterinär-Kan­ülen (Acufirm®, Preis pro Kan­üle 19,00 €) ergeben sich realistische Kosten pro Injektoreinheit von bis zu 21,00 €.

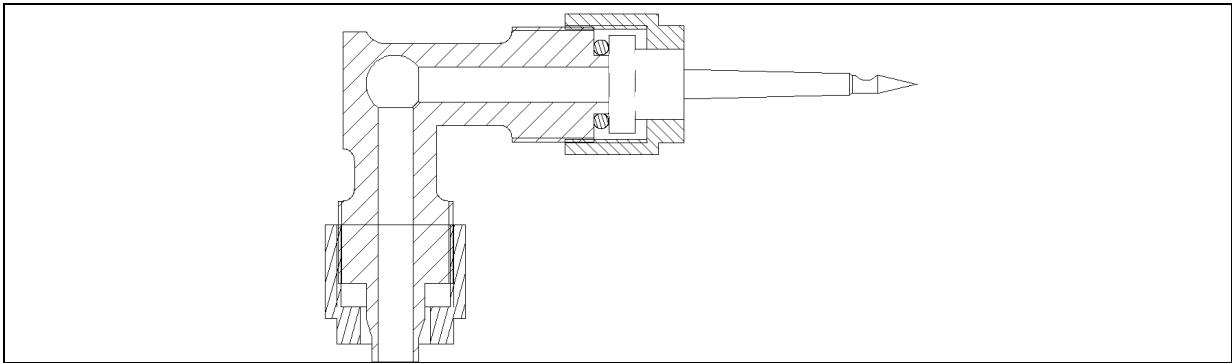


Abb. 19: Schnittdarstellung der Injektoreinheit unter Verwendung standardisierter Winkel-Verschraubungen. Zur Erhöhung der Dichtigkeit können zusätzlich O-Ringe zwischen den Baugruppen verwendet werden.

3.3.2 Entwicklung einer mobilen Versorgungseinheit

Für den schnellen Applikationsprozess in wenigen Arbeitsschritten (einfache Handhabung, Ergonomie) speziell in größeren Baumanlagen ist ein Konzept für eine mobile Versorgungseinheit für das Injektionsverfahren erstellt und erprobt worden. Dabei ermöglicht das realisierte System eine simultane, kurzzeitige Applikation von mehreren Bäumen (Abb. 20). Zwecks hoher Mobilität und einfacher Handhabung im freien Gelände ist das Gerät robust und leicht, sowie unabhängig von elektrischer Versorgung als ein rein pneumatisches System ausgeführt. Im Hinblick auf den Arbeits- und Umweltschutz wird dabei ein direkter Kontakt mit den Wirkstoffen, sowie Leckagen vermieden. Durch die konstruktive Ausführung der mobilen Versorgungseinheit wird eine schnell und einfach durchführbare Systementlüftung erreicht. Im Sinne einer ergonomisch mobilen Anwendung ist dabei das System auf eine Baugruppengröße im Format einer DIN A 4-großen Grundfläche ausgelegt.

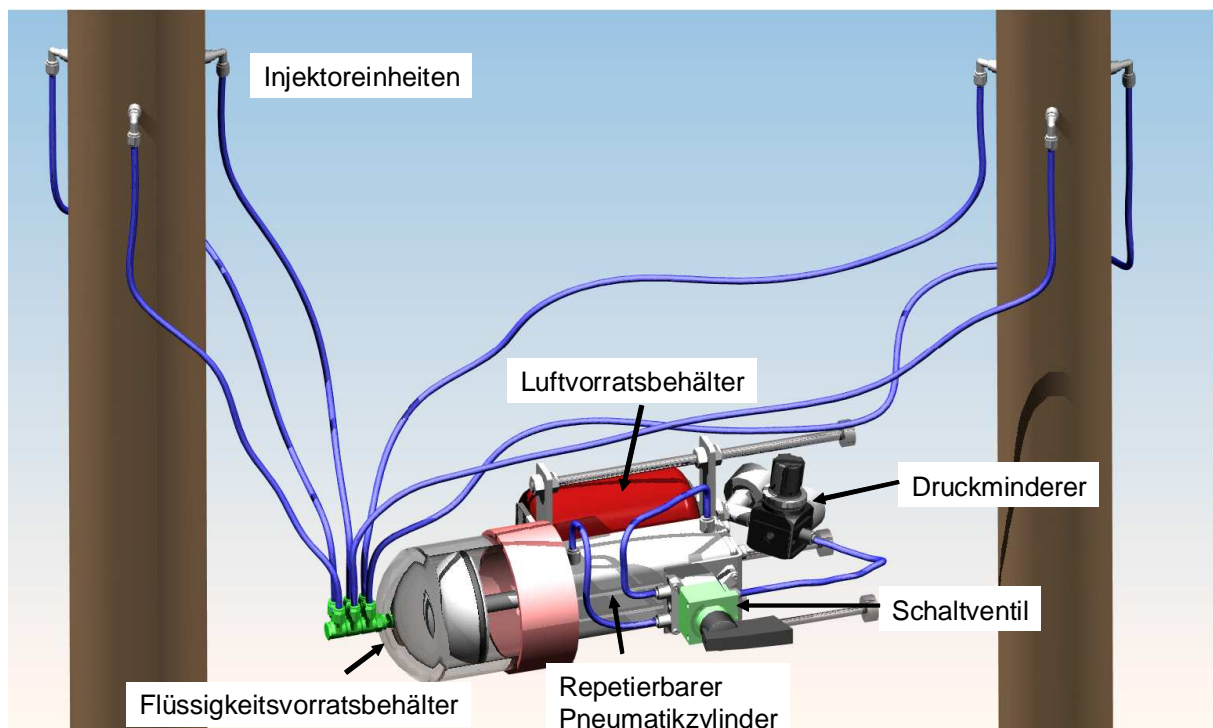


Abb. 20: Baugruppendarstellung der konzeptionellen Versorgungseinheit.

Als Antriebssystem verwendet das Applikationssystem einen repetierbaren Pneumatikzylinder gemäß DIN 21287, der durch die geeignete Auslegung des Luftvorratsbehälters dreimalige Impfvorgänge und mehr ermöglicht. Der notwendige Systemdruck wird dabei durch ein Luftvorratsbehälter mit einem Luftvolumen von $Q=10$ L und einem maximalen Tankdruck von $p=11$ bar gewährleistet. Der Flüssigkeitsvorratsbehälter ist bei dem realisierten Konzept druckfest und vom Arbeitsgas gekapselt ausgeführt, wodurch das Lufteinbringen in die Leitungen während der Flüssigkeitseinpressung ausgeschlossen wird. Der benötigte Applikationsdruck wird dabei durch einen beweglichen Stempel im Flüssigkeitsvorratsbehälter aufgeprägt. Durch einen ausreichend großen Vorratsbehälter aus Plexiglas kann der Anspruch der simultanen Applikation mehrerer Bäume realisiert und der Füllstand im System jederzeit überprüft werden. Die prototypische Versorgungseinheit besitzt dabei ein Flüssigkeitsreservoir von $Q=1$ L und kann auf einen Absolutdruck von $p=3,5$ bar belastet werden. Basierend auf früheren Erkenntnissen wird jedoch ein

absoluter Injektionsdruck von 2 bar angestrebt. Zur Steuerung der Kolbenbewegung und zum Einstellen des Fluiddruckes werden ein pneumatisches 4/3-Wegeventil und ein Druckminderer verwendet. Die Kolbenkraft und der daraus resultierende Fluiddruck sind durch den Druckminderer variabel einstellbar, welche bei unterschiedlichen Fluideigenschaften der Impfsubstanz (Viskosität) die Anwendbarkeit garantiert. Bei der Konstruktion der mobilen Versorgungseinheit wurde weitgehend auf industrielle Normteile zurückgegriffen, wodurch ein Kaufpreis (exklusive Sonderanfertigungen wie Plexiglasbehälter, Druckstempel aus Aluminium und Befestigungselemente) bei 525,00 € liegt. Die größten Kostenpunkte stellen dabei der industrielle Druckzylinder (158,00 €), das Mehrwege-Ventil (86,00 €) und der Pneumatikzylinder (127,00 €) dar.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde daher zusätzlich eine kunststoffgerechte Ausführung mit Ultradur[®] und Luran[®] der wichtigen Baugruppen untersucht und bewertet (Abb. 21 - 24). Hierdurch konnte gezeigt werden, dass alle wichtige Komponenten kunststoffgerecht und kostengünstiger auszuführen sind. Aus diesem Grund kann bei ausreichender Stückzahl von einem Herstellungspreis einer Versorgungseinheit aus Kunststoff unter 300,00 € ausgegangen werden.

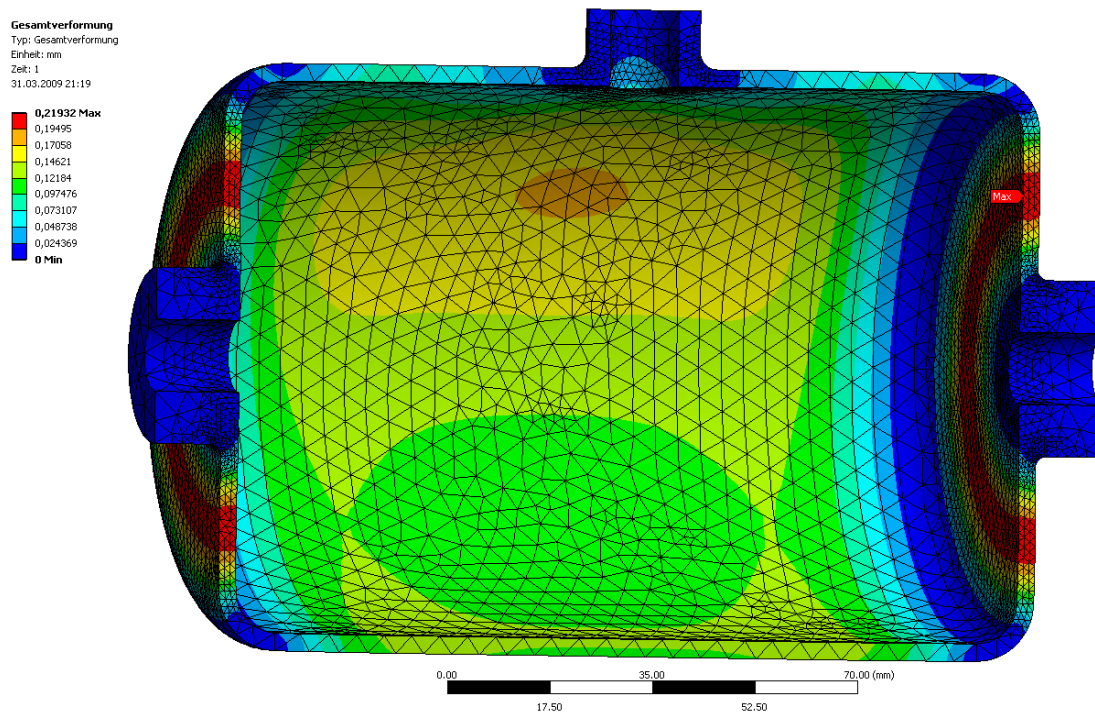


Abb. 21: Gesamtverformung des Drucklufttanks (Ultradur® B 4300 G6).

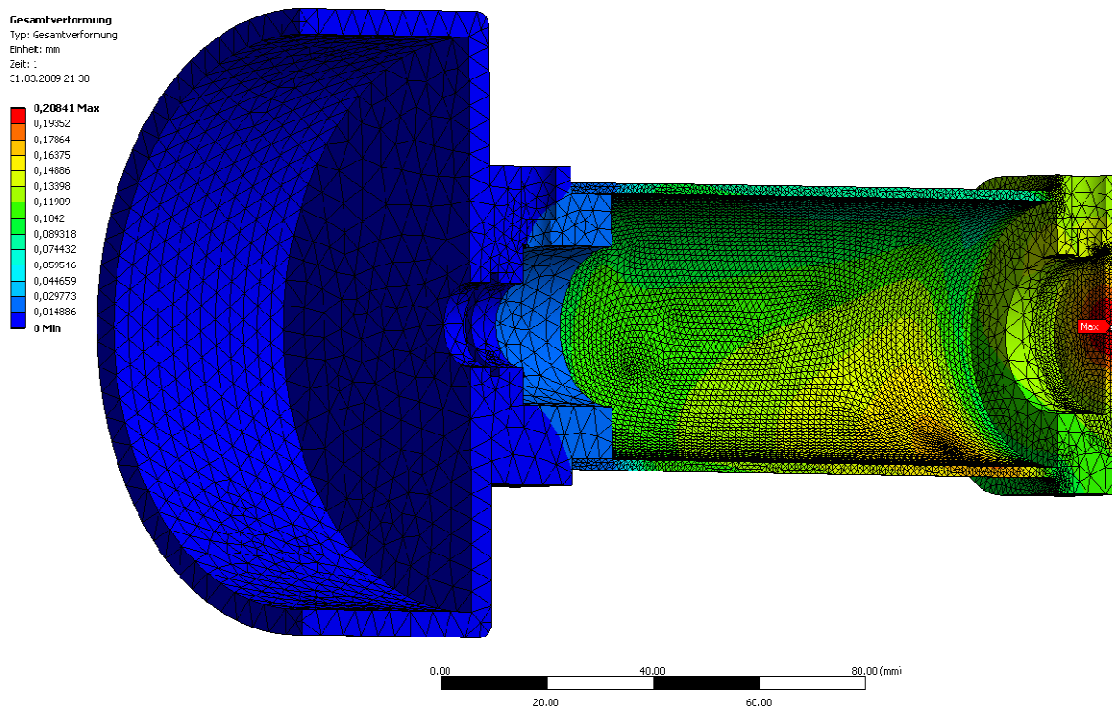


Abb. 22: Gesamtverformung des Pneumatikzylinders (Ultradur® B 4300 G6).

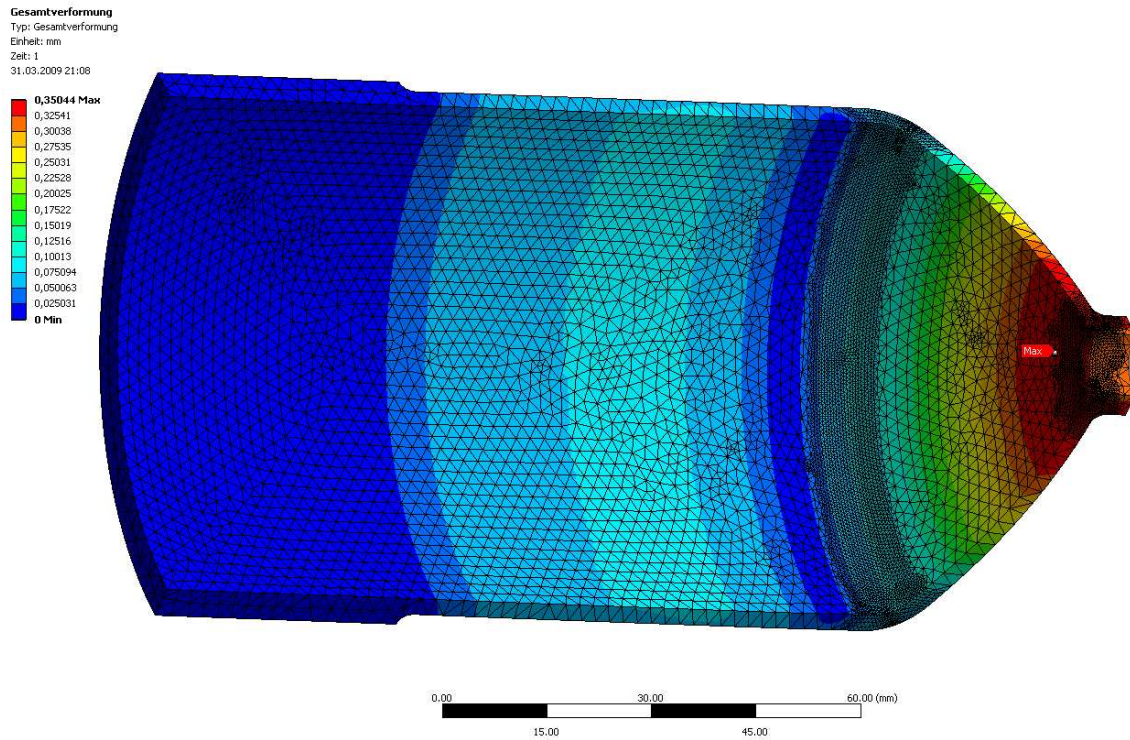


Abb. 23: Gesamtverformung des Flüssigkeitbehälters (Luran® HH-120).

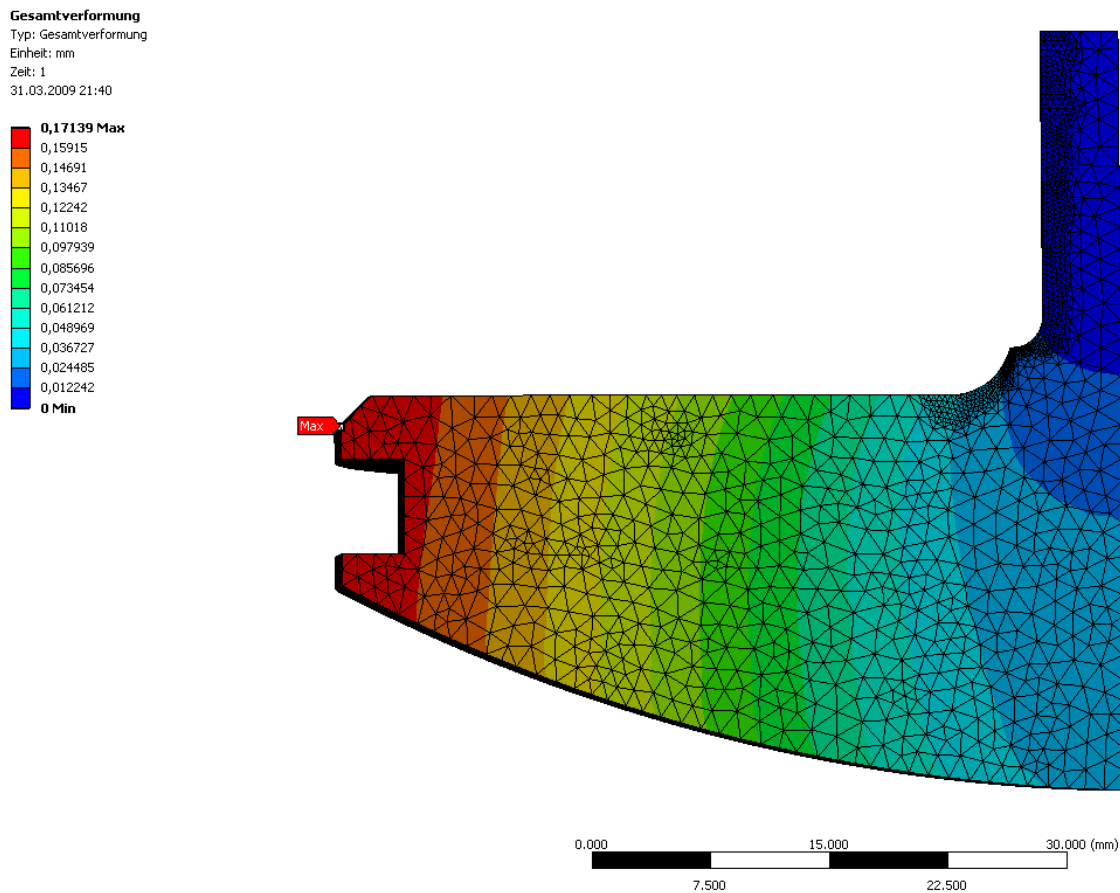


Abb. 24: Gesamtverformung des Flüssigkeitskolbens (Ultradur® B 4300 G6).

3.3.3 Praktische Anwendung des Injektionsgeräts

Aus Mangel einer geeigneten, für die Arbeiten mit *Erwinia amylovora* zugelassenen Obstertragsanlage wurde die Praxistauglichkeit des entwickelten Injektionsgeräts im zweiten (2009) und dritten Projektjahr (2010) an urbanen Platanen und Eichen getestet.

3.3.3.1 Untersuchungen zur Bekämpfung der Platanenetzwanze

Die Untersuchungen erfolgten im zweiten Projektjahr (2009) an 3 urbanen Platanen (*Platanus x hybrida*), welche vom Grünamt Mainz für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt wurden (Abb. 25). Die Bäume hatten einen durchschnittlichen Stammdurchmesser von ca. 45 cm. Die Stamminjektionen mit Confidor® (0,3 g/l) erfolgten mit dem neu entwickelten Injektionsgerät (Abb. 26) am 18.06.2009 mit je 700 ml, am 24.06.2009 mit je 1400ml und am 29.06.2009 mit je 2800 ml Applikationslösung pro Baum. Die Durchführbarkeit solch hoher Applikationsmengen wurde dabei aufgrund des außergewöhnlich hohen Fassungsvermögens und durch die wiederholbare Beladung des Flüssigkeitsbehälters aufgrund der Repetierfähigkeit des Druckzylinders des neu entwickelten Injektionsgeräts gewährleistet. Drei weitere Platanen, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Der bereits mehrjährig an den Bäumen nachgewiesene (Baumkataster) Befallsdruck durch die Platanenetzwanzen (*Corythuca ciliata*) wurde zunächst vor den Stamminjektionen mit Confidor®, am 08.06.2009, später dann nach den Stamminjektionen mit Confidor®, am 03.07.2009, am 23.07.2009 und am 30.07.2009 bonitiert. Hierzu wurden zunächst je 50 Platanenblätter pro Baum aus unterschiedlichen Bereichen der jeweiligen Baumkrone gesammelt. Anschließend erfolgte das Auszählen lebender Individuen der Netzwanze (*Corythuca ciliata*) unter dem Binokular.



Abb. 25: Stamminjektion an einer urbanen Platane.

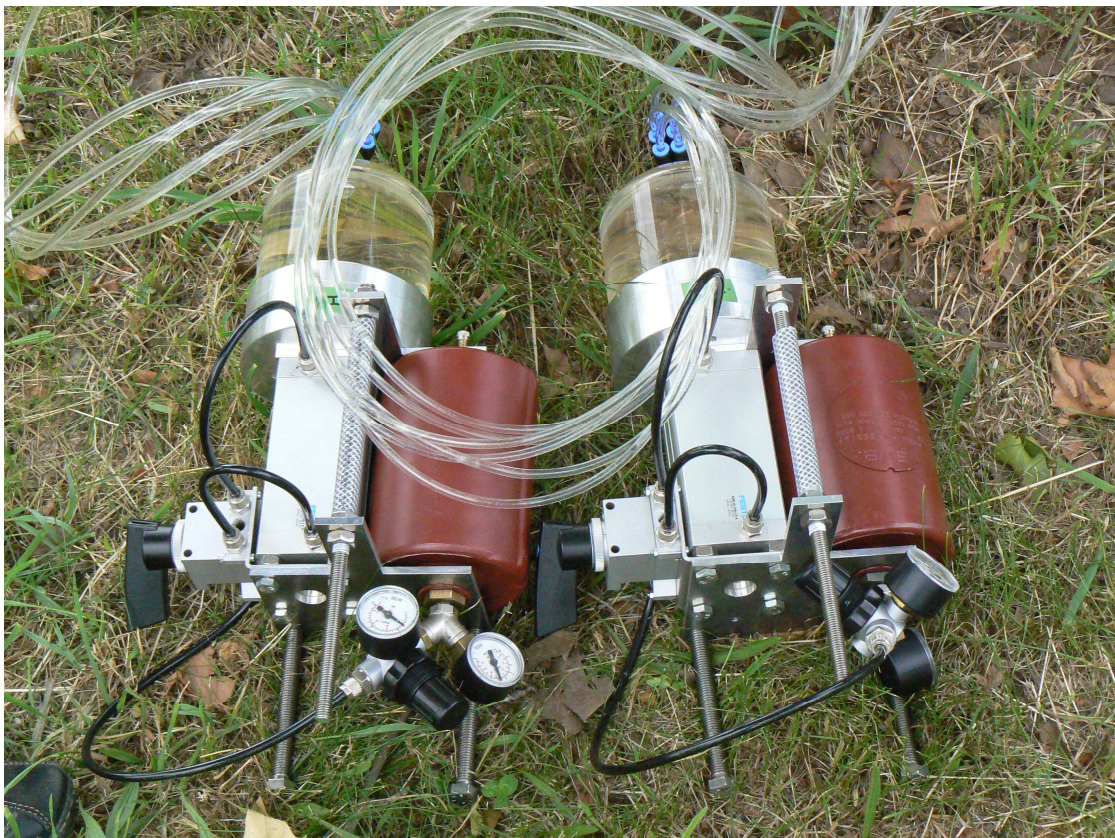


Abb. 26: Zwei Prototypen des neu entwickelten Injektionsgeräts.

Der bezüglich Kontroll- und Versuchsbäume ermittelte absolute Befall durch *Corythuca ciliata* an jeweils 50 Blättern ist in Abb. 27 dargestellt.

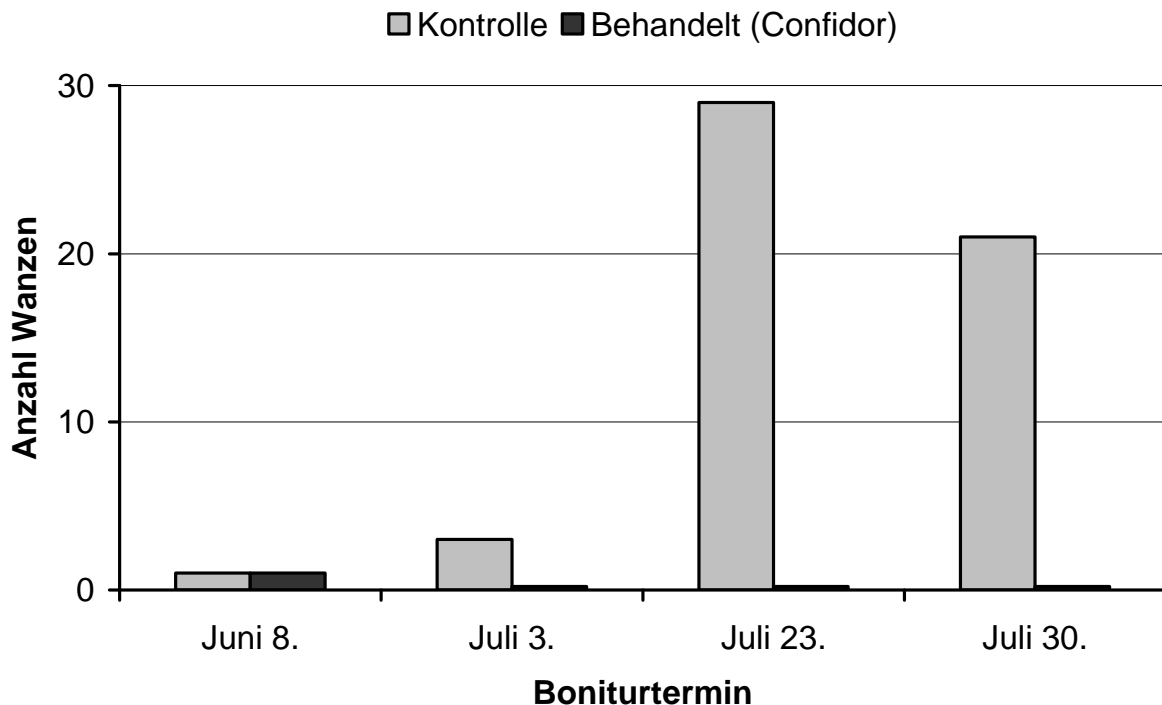


Abb. 27: Mittelwerte des absoluten Befalls von *Corythuca ciliata* an jeweils 50 gesammelten Blättern von urbanen Platanen (*Platanus x hybrida*).

Die Injektionen von Confidor® (0,3 g/l) und Wasser (Kontrolle) erfolgten mit dem neu entwickelten Injektionsgerät am 18.06.2009 mit je 700 ml, am 24.06.2009 mit je 1400ml und am 29.06.2009 mit je 2800 ml Applikationslösung pro Baum.

Die 50 Blätter stammen von jeweils 3 Bäumen pro Versuchs- bzw. Kontrollansatz.

Aufgrund der geringen Wiederholungszahl und starker Schwankungen bezüglich der Einzelwerte des Kontrollansatzes, war die Durchführung einer entsprechenden Statistik in diesem Fall nicht möglich gewesen. Aus diesem Grund sind die Ergebnisse nicht als wissenschaftlich gesichert, eher als Tendenz zu betrachten. Dennoch konnte gezeigt werden, dass ein anfänglich schwacher Befall mit Platanenetzwanzan durch die Behandlung mittels Stamminjektion von

Confidor® über einen längeren Zeitraum erfolgreich bekämpft werden konnte, obgleich der Befall in den Kontrollen um ein Vielfaches zugenommen hatte.

Die Fällung der Versuchsbäume am 20.10.2009 ermöglichte die Gewinnung von Stammscheiben in Höhe der Injektionsstellen (Abb.28 und 29). Dies ermöglichte einen Blick in das Innere der Bäume. Auf diesem Wege konnten Aussagen über mögliche Veränderungen oder Auswirkungen im Xylem getroffen werden, welche durch die Stamminjektion von Confidor® resultierten.

Die ehemaligen Bohrlöcher zur Aufnahme der Kanülen für die Stamminjektion waren nekrotisiert und zur Eintrittsseite hin verschlossen (Abb. 29). Es gab keine Anzeichen, die auf eine Sekundärinfektion hinwiesen. Das restliche Xylem wies keine farblichen Veränderungen auf, die auf eine Unverträglichkeit durch die applizierte Substanz schließen ließ (Abb. 28). Somit hielten sich die Veränderungen im Xylem in den zuvor erwarteten und akzeptablen Grenzen. Das neu entwickelte Injektionsgerät hatte auch diesbezüglich die angestrebten Erwartungen erfüllt.

3.3.3.2 Untersuchungen zur Bekämpfung des Eichenprozessionsspinner

Die Untersuchungen erfolgten im dritten Projektjahr (2010) an 2 Standorten mit jeweils drei urbanen Eichen (*Quercus robur*), welche vom Grünamt Mainz für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt wurden (Abb. 30). Die Bäume hatten einen durchschnittlichen Stammdurchmesser von ca. 25 cm. Die Stamminjektionen mit Confidor® (0,3 g/l) erfolgten mit dem neu entwickelten Injektionsgerät (Abb. 26) am 27.05.2009 mit je 3500 ml Applikationslösung pro Baum.



Abb. 28: Stammscheibe einer behandelten Platane (Gesamtansicht).



Abb. 29: Stammscheibe einer behandelten Platane (Injektionsstelle).



Abb. 30: Stamminjektion an einer urbanen Eiche.

Die extrem hohen Applikationsmengen waren aufgrund der, zu diesem Zeitpunkt bereits stark vorangeschrittenen Entwicklung (L2/L3) der Raupen des Eichenprozessionsspinners (*Thaumetopoea processionae*) nötig. Die Durchführbarkeit solch hoher Applikationsmengen wurde dabei wiederum nur aufgrund des außergewöhnlich hohen Fassungsvermögens und durch die wiederholbare Beladung des Flüssigkeitsbehälters aufgrund der Repetierfähigkeit des Druckzylinders des neu entwickelten Injektionsgeräts gewährleistet. Sechs weitere Eichen, jeweils 3 an einem Standort, denen lediglich Wasser injiziert wurde, dienten als Kontrollen. Der bereits mehrjährig an den Bäumen nachgewiesene (Baumkataster) Befallsdruck (lebende Raupen) durch den Prozessionsspinner (*Thaumetopoea processionae*) sowie der Behandlungserfolg (tote Raupen) wurde am 15.06.2009 vom Grünamt Mainz visuell bestimmt. Die bezüglich Kontroll- und Versuchsbäume ermittelte Befallsituation durch *Thaumetopoea processionae* ist in Tab1 dargestellt.

Tab. 1: Stammscheibe einer behandelten Platane (Injektionsstelle).

Standort	Lebende Raupen	Tote Raupen
A - Behandelt		xx
A - Kontrolle	xx	
B - Behandelt	x	x
B - Kontrolle	xx	

Die Behandlung an Standort A war sehr erfolgreich. Es wurden nur tote Raupen an den Stämmen der Eichen und auf dem Boden unter den Bäumen nachgewiesen. Dagegen waren die Kontrollen weiterhin durch Eichenprozessionsspinnerraupen befallen. An Standort B konnte immerhin ein Teilerfolg erzielt werden. Auf und unter den behandelten Bäumen befand sich eine Vielzahl toter Raupen, obgleich auch lebende Tiere auf den Versuchsbäumen nachgewiesen wurden. Die Kontrollen wiesen dagegen auch

an Standort B starken Befall auf. Tote Raupen wurden an und unter den Kontrollbäumen nicht nachgewiesen.

Diese Tastexperimente bestätigten die Praxistauglichkeit des neu entwickelten Injektionsgeräts. Aufgrund des großen Volumens des Flüssigkeitsbehälters sowie der Repetierfähigkeit des Druckzylinders und der daraus resultierenden Mehrfachbeladung der Versorgungseinheit ohne vorherige Entfernung und Neumontage der Injektoreinheiten sind Stamminjektionen mit diesem Gerät nicht nur an kleineren Solitär- und Plantagenbäumen, sondern auch an großen urbanen und Parkbäumen möglich. Dadurch ergibt sich eine Vielzahl erweiterter Einsatzmöglichkeiten (Abb. 31). Ebenso wäre der Einsatz des neu entwickelten Injektionsgeräts für spezielle Fragestellungen im Forst denkbar.



Abb. 31: Sichere und anwenderfreundliche Behandlung urbaner Bäume.

4 Umsetzung der Ziele

Ziel des Projekts war die Entwicklung eines Verfahrens zur Bekämpfung von primärem Feuerbrandbefall an Kernobstblüten als Alternative für den Streptomycin-Einsatz im Ertragsobstbau.

In der Vergangenheit getestete Verfahren mit alternativen Wirkstoffen beruhten bislang auf Spritz- und Sprühverfahren mit mäßigem Erfolg. Einige dieser Wirkstoffe regten nach Eintritt in das pflanzliche Gewebe über sekundäre Biosynthesewege in den behandelten Pflanzen eine Resistenzbildung gegen *Erwinia amylovora* an (Friedrich 2000, Treutter und Forkmann 2004). Durch Spritzen und Sprühen applizierte Substanzen können teilweise durch die Blätter aufgenommen und in diesen hauptsächlich akropetal verteilt werden. Mittels Stamminjektion können einige Substanzen dagegen direkt in das Xylem appliziert werden, wodurch eine bessere und gleichmäßigere Verteilung in der Pflanze erfolgen kann (Zimmermann 1983), und eine höhere Wirkung erzielt werden könnte. Somit konkretisierte sich die Zielsetzung des Projekts auf die Entwicklung eines Stamminjektionsverfahrens zur Bekämpfung des Feuerbranderreger (*Erwinia amylovora*) ohne den Einsatz von Antibiotika.

Diese Zielsetzung bedurfte zunächst des Auffindens einer geeigneten Alternative zu Streptomycin. Diese Alternative musste dabei eine ähnlich hohe Wirksamkeit gegen primären Feuerbrandbefall an Kernobstblüten wie Streptomycin erzielen, sollte dabei keine unerwünschten Nebenwirkungen aufweisen und durfte nicht durch hohe Rückstandsmengen in den Früchten auffallen. Weiterhin bedurfte es der Entwicklung eines geeigneten Injektionsgeräts für die Umsetzung dieser Ziele im Ertragsobstbau, da bestehende Alternativen für den Praxiseinsatz aufgrund zu geringer Applikationsvolumina (Bspw. ChemJet®) oder zu hohem Aufwand in

Handhabung und Umsetzung (Bspw. Vegetus-System) nicht geeignet erschienen. Neben einem ausreichenden Volumen stellten sich die Ansprüche einer zeitnahen Aufnahme der zu applizierenden Substanz und einer möglichst geringen Schädigung des Holzes durch das Injektionsgerät und –verfahren.

Als geeignete Alternative zu Streptomycin konnte in den Untersuchungen Prohexadion-Ca, der aktive Wirkstoff von Regalis® ermittelt werden (3.1). Regalis® ist bereits zur Bekämpfung sekundärer Infektionen durch Feuerbrand (*Erwinia amylovora*) im Kernobstbau zugelassen. Der Einsatz mittels Spritzen und Sprühen von Regalis® führt bereits zu einer drastischen Abnahme der Anfälligkeit gegenüber sekundärem Feuerbrandbefall nach der Blüte (Rademacher 2004, Spinelli et al. 2005). Dies wird dadurch erzielt, dass der aktive Wirkstoff Prohexadion-Ca ein Enzym des Flavonoidstoffwechsels hemmt, wodurch letztendlich 3-Deoxyflavane entstehen (Schlangen et al. 2002), welche den Obstbäumen eine stärkere Widerstandskraft gegen *Erwinia amylovora* verleihen (Treutter und Forkmann 2004). Allerdings wird mittels Spritzen und Sprühen von Regalis® nach heutigem Kenntnisstand keine zufriedenstellende Wirkung gegen primäre Blüteninfektionen durch *Erwinia amylovora* erzielt (Rademacher 2003). Der Einsatz von Prohexadion-Ca mittels Stamminjektion konnte diese Anforderung nun im Freilandversuch (3.1.5 und 3.1.6) als Alternative zu Streptomycin erfüllen.

Die Untersuchungen zur Rückstandssituation (3.2) in Früchten mittels Injektion von Prohexadion-Ca behandelte Bäume erbrachten außerdem den Nachweis, dass die ermittelten Werte (0,001 mg/kg – 0,003 mg/kg) ein Vielfaches unter dem vorgegebenen Richtwert der EU (0,05 mg/kg) liegen. Somit wäre der Einsatz von Prohexadion-Ca mittels Stamminjektion unter dem Gesichtspunkt der Produktionsrückstände im Endprodukt unter praxisgerechten Bedingungen problemlos möglich.

Allerdings wurden an den mit Prohexadion-Ca behandelten Bäumen starke Triebstauchungen beobachtet (3.1.5). Diese Beobachtungen dürften darauf zurückzuführen sein, dass Prohexadion-Ca auch bestimmte Schritte in der Gibberellin-Biosynthese hemmt, wodurch sich der Gehalt an wachstumsaktiven Gibberellinen verringert und somit zu einem reduzierten Spross-Längenwachstum führt (Rademacher 2000). Das verringerte Spross-Längenwachstum hatte außerdem zur Folge, dass die Früchte unter beengten Bedingungen heran wuchsen (3.1.6), was weiterhin zu einem mengenmäßigen Ernteverlust führte (3.2). Entsprechend dieser Ergebnisse stellte sich die Frage, ob es eine Möglichkeit gäbe, den unerwünschten Einfluss von Prohexadion-Ca auf das Spross-Längenwachstum zu verringern und gleichzeitig die bereits mehrfach nachgewiesene Wirkung zur Bekämpfung von primären Feuerbrandbefall an Blüten zu stärken? Eine Schwächung der bioregulatorischen Wirkung auf das Längenwachstum wäre vielleicht durch einen Applikationszeitpunkt im Herbst, Winter oder im zeitigen Frühjahr vor dem Austrieb der Blätter möglich. Da Pflanzen in unseren Breiten bereits im späten Herbst das allgemeine Wachstum einstellen, könnte angenommen werden, dass die Injektion von Prohexadion-Ca zu diesem oder einem späteren Zeitpunkt im Winter, keine bioregulatorischen Effekte bezüglich des Längenwachstums erzeugen. Unter der Voraussetzung, dass die Pflanze zu diesem Zeitpunkt jedoch bereits Resistenz gegen Feuerbrand erwerben und bis ins nächste Jahr erhalten könnte, ließe sich der gewünschte Effekt möglicherweise, unter der Voraussetzung dass Prohexadion-Ca über Winter in der Pflanze metabolisiert würde, von der unerwünschten bioregulatorischen Wirkung auf das Längenwachstum „entkoppeln“. Aufgrund der Relevanz positiver Ergebnisse zur vorliegenden Hypothese für die praxistaugliche Umsetzung des erarbeiteten Verfahrens böte sich die Durchführung eines Folgeprojekts zur Klärung der offenen Fragen an, zumal Regalis® bereits nach § 18 zur Bekämpfung von

Feuerbrand (*Erwinia amylovora*), unter der Nummer 5254-00 zugelassen ist und dadurch die Anmeldung des Verfahrens mittels Stamminjektion vereinfacht.

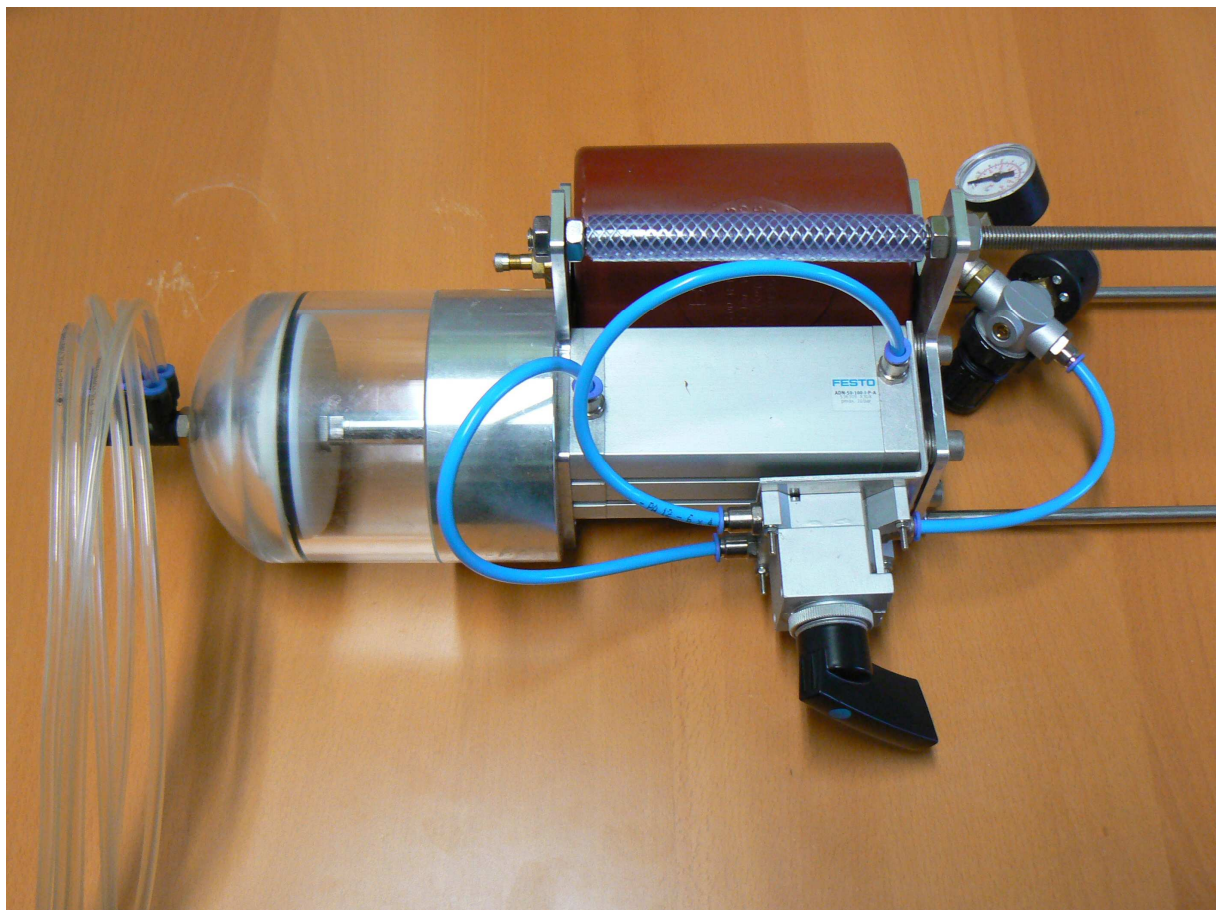
Für den schnellen Applikationsprozess in wenigen Arbeitsschritten (einfache Handhabung, Ergonomie) wurde für das geplante Injektionsverfahren ein entsprechendes Injektionsgerät erstellt und erprobt. Zwecks hoher Mobilität und einfacher Handhabung im freien Gelände wurde das Gerät robust und leicht, sowie unabhängig von elektrischer Versorgung als ein rein pneumatisches System ausgeführt. Im Sinne einer ergonomisch mobilen Anwendung wurde das System außerdem auf eine Baugruppengröße im Format einer DIN A 4-großen Grundfläche ausgelegt.

Tastexperimente, welche aus Mangel geeigneter Apfelertragsanlagen an urbanen Platanen und Eichen durchgeführt wurden, bestätigten die Praxistauglichkeit des neu entwickelten Injektionsgeräts. Aufgrund des großen Volumens des Flüssigkeitsbehälters sowie der Repetierfähigkeit des Druckzylinders und der daraus resultierenden Mehrfachbeladung der Versorgungseinheit ohne vorherige Entfernung und Neumontage der Injektoreinheiten sind Stamminjektionen mit diesem Gerät nicht nur an kleineren Solitär- und Plantagenbäumen, sondern bevorzugt auch an großen urbanen und Parkbäumen möglich. Dadurch ergibt sich eine Vielzahl erweiterter Einsatzmöglichkeiten. Ebenso wäre der Einsatz des neu entwickelten Injektionsgeräts für spezielle Fragestellungen im Forst denkbar.

Die Untersuchung von Stammscheiben gefälltter Versuchsbäume ergab, dass die einzigen Verwundungen am Stamm durch die, für den Injektionsvorgang benötigten Bohrlöcher resultierten. Diese waren jedoch bereits nach einiger Zeit nekrotisiert und vom restlichen Xylem abgeschottet. Es wurden keine Anzeichen für eine potentielle Sekundärinfektion beobachtet. Auch resultierten im Xylem,

außer an den Bohrlöchern keine Verfärbungen, die auf eine Unverträglichkeitsreaktion bezüglich der applizierten Substanz hätten schließen lassen.

Somit konnten die Ziele bezüglich der Entwicklung eines geeigneten Injektionsgeräts und dem Auffinden einer geeigneten Alternative für den Streptomycin-Einsatz in Form von Prohexadion-Ca erfolgreich umgesetzt werden. Lediglich der unerwünschte Einfluss von Prohexadion-Ca auf das Spross-Längenwachstum unterbindet noch die praktische Umsetzung des dargestellten Projekts.



Erfolgreich umgesetzter Stamminjektionsgeräteprototyp

5 Literatur

Friedrich, F. (2000): Stand der alternativen Bekämpfungsverfahren gegen den Feuerbrand. Diplomarbeit an der Universität Hannover.

Rademacher, W. (2000): Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. Annual Review of Plant Physiology and Plant molecular Biology 51, 501-531.

Rademacher, W. (2003): Erkenntnisse und Überlegungen zum Einsatz von Prohexadion-Ca gegen Blüteninfektionen durch Feuerbrand (*Erwinia amylovora*). Arbeitskreis Phytobakteriologie, Tagung 2003.

Rademacher, W. (2004): Prohexadione-Ca induces resistance to fireblight and other diseases. Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin 34, 383 – 388.

Schlangen, K.; Halbwirth, H.; Stich, K.; Fischer, T.C.; Sabatini, E.; Forkman, G. (2002): Biochemische und molekularbiologische Untersuchungen zur induzierten Resistenz gegenüber dem Erreger des Feuerbrand bei Apfel und Birne durch Prohexadion-Ca-Behandlung. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. 390, 194.

Spinelli, F.; Speakman, J.B.; Rademacher, W.; Halbwirth, H.; Stich, K.; Costa, G. (2005): Luteoforol, a flavan 4-ol, is induced in pome fruits by prohexadione-calcium and shows phytoalexin-like properties against *Erwinia amylovora* and other pathogens. European Journal of Plant Pathology, 112, 133 – 142.

Treutter, D.; Forkmann, G. (2004): Medizin für Obstbäume. Bioregulator mit überraschenden Nebenwirkungen. TUM Mitteilungen 2, 03/04.

Zimmermann, M.H. (1983): Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag.