

+++ JKI in detail +++ JKI in detail +++ JKI in detail +++ JKI in detail



tail +++ JKI im Detail +++ JKI im Detail +++ JKI im Detail +++ JKI im Detail

Institut für
Biologischen Pflanzenschutz

Institute for
Biological Control

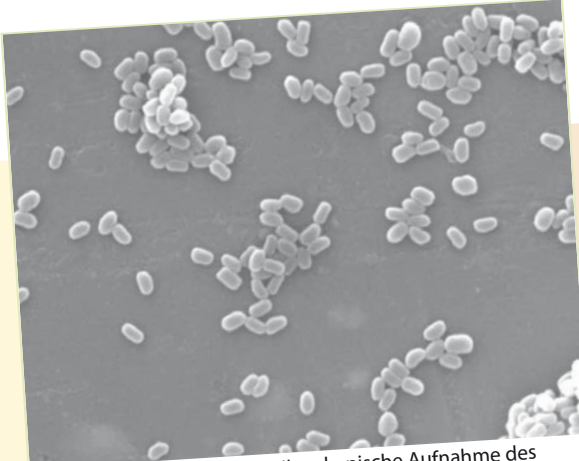


Abb. 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des *Cydia pomonella* Granulovirus I12 (CpGV-I12). Dieses Isolat bricht die Resistenz von Apfelwicklerpopulationen, die gegen CpGV-M resistent sind.

Fig. 1: Scanning electron micrograph of a *Cydia pomonella* granulovirus I12 (CpGV-I12). This isolate overcomes resistance of *C. pomonella* populations resistant to CpGV-M.

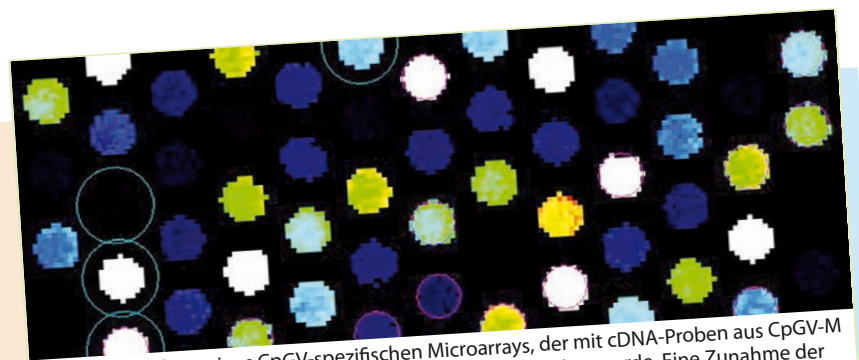


Abb. 2: Aufnahme eines CpGV-spezifischen Microarrays, der mit cDNA-Proben aus CpGV-M infizierten Apfelwicklerlarven (96 h nach Infektion) hybridisiert wurde. Eine Zunahme der Helligkeit zeigt eine Zunahme der Transkription viraler Gene in der Larve an. Somit kann der Infektionsverlauf untersucht werden.

Fig. 2: Image of a CpGV-specific microarray that was hybridized with cDNA samples of codling moth larvae infected with CpGV-M for 96 hours. An increase of brightness indicates an increase of gene transcription. This helps to investigate the infection process of CpGV.

Arbeiten für einen umweltfreundlichen Pflanzenschutz

Das **Institut für Biologischen Pflanzenschutz** in Darmstadt ist das einzige Fachinstitut in Deutschland, in dem das gesamte Spektrum des biologischen und biotechnologischen Pflanzenschutzes bearbeitet wird. Damit nimmt es eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung und Bewertung von Pflanzenschutzverfahren ein, die auf der Nutzung natürlicher Gegenspieler von Pflanzenkrankheiten und Schädlingen (insbesondere Schadinsekten und Milben) basieren. Als Antagonisten kommen natürlich vorkommende Mikroorganismen, Viren, Insekten, Milben und Nematoden in Betracht. Ein weiterer Arbeitsschwerpunkt des Instituts ist die Entwicklung und Evaluierung von Naturstoffen zur Bekämpfung von Schaderregern, sowie die Erforschung von Pflanzenstärkungsmitteln, welche die natürlichen Abwehrkräfte der Pflanzen stärken.

Baculoviren – hoch selektiv und sehr effizient

Baculoviren sind insektenspezifische Viren, die nur wenige Insektenarten befallen und daher als äußerst selektive biologische Bekämpfungsmittel von Schadlepidopteren eingesetzt werden können. Das *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV) (Abb. 1) ist spezifisch für den Apfelwickler und ein besonders wichtiges biologisches Bekämpfungsmittel im organischen und integrierten Apfelanbau. Nach der Entdeckung CpGV-resistenter Apfelwicklerpopulationen und neuer CpGV-Isolate mit resistenzbrechender Wirkung erforschen die Wissenschaftler die molekularen Mechanismen der Baculovirus-Wirt-Interaktion am Beispiel des CpGV. Hierzu dienen molekulare Methoden einschließlich qualitativer und quantitativer PCR, Genom- und Transkriptom-Sequenzierungen.

Durch die Genomsequenzierung verschiedener CpGV-Isolate ist es in den vergangenen Jahren gelungen, einen vertieften Einblick in die genetische Diversität dieses Virus und die möglichen Virulenz bestimmenden Faktoren zu gewinnen. Um ein verbessertes Verständnis der Virus-Wirt-Interaktion zu erhalten und damit die Anwendung von CpGV-Isolaten zu optimieren, analysieren wir mit einem neu entwickelten CpGV-Microarray (Abb. 2) die gewebespezifische Genexpression verschiedener CpGV-Isolate in unterschiedlich anfälligen Apfelwickler-Stämmen. Diese molekularen Analysen werden dann in Relation zur biologischen Aktivität der Viren, die in klassischen Bioassays ermittelt wird, gesetzt. Hierdurch wird es zukünftig möglich sein, bestimmte Isolate noch gezielter für spezifische Anwendungsfelder auszuwählen.

Working for an environmentally friendly plant protection

The **Institute for Biological Control** in Darmstadt is the only research institute in Germany where the full spectrum of disciplines in biological control is covered. Therefore, it plays a key role in the development and evaluation of plant protection methods based on the use of natural antagonists of plant diseases and pests (especially damaging insects and mites). We consider naturally occurring micro-organisms, viruses, insects, mites, and nematodes as antagonists. Another main focus of the Institute is the development and evaluation of natural products to combat plant pests, as well as the exploration of plant strengtheners that enhance the natural defense mechanisms of plants.

Baculoviruses – highly specific and very efficient

Baculoviruses are insect pathogenic viruses, which have a narrow host range and are used as highly selective biocontrol agents of Lepidopteran pests. The *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) (Fig. 1) infects the Codling Moth and is a particularly important biological control agent in organic and integrated pome fruit production. After the discovery of codling moth populations resistant to CpGV products and the identification of new CpGV isolates overcoming the observed resistance, we investigate the molecular mechanism of the baculovirus-host interaction. For this, molecular methods including qualitative and quantitative PCR, genome and transcriptome sequencing and microarray techniques are applied.

Genome sequencing of different CpGV isolates has provided an in depth insight into the genetic diversity and improved our understanding of the factors involved in virus virulence. To gain a better understanding of the virus host interaction and thereby optimize the field application of CpGV isolates, we analyze tissue specific gene expression patterns of several CpGV isolates in differently susceptible codling moth strains by using a newly developed CpGV microarray (Fig. 2). These molecular data will be correlated with the biological activity of the viruses, which are obtained by classic bioassays. By this strategy it will be possible to identify specific CpGV isolates for specific applications.

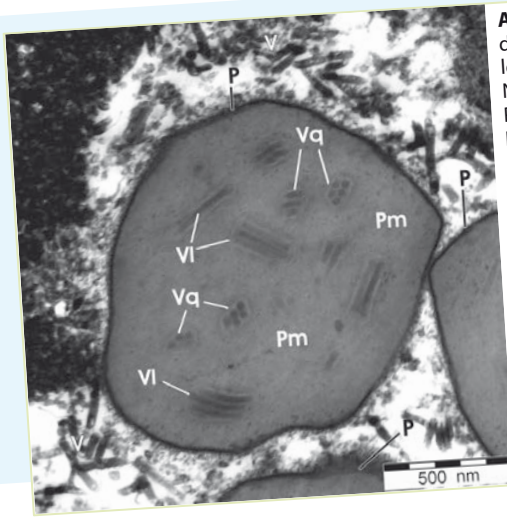


Abb. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Ultradünnschnitts von larvalem Fettkörper des Buchsbaumzünslers, *Cydalima perspectalis*, der mit dem *Anagrapha falcifera* Nukleopolyhedrovirus infiziert ist
 P = Polyeder, Pm = Polyhedrinmatrix, VI = Virionen im Längsschnitt, Vq = Virionen im Querschnitt, V = noch nicht in Polyeder eingeschlossene, freie Virionen

Fig. 3: Electron micrograph of an ultrathin larval fat body section of the Box Tree Moth, *Cydalima perspectalis*, displaying infection by the *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus (AnfaNPV)

P = Polyhedra, Pm = Polyhedrinmatrix, VI = Virions in longitudinal section, Vq = Virions in cross section, V = free virus rods, not yet occluded in polyhedra

Von besonderer Bedeutung für die Praxis war die Entdeckung und Charakterisierung resistenzbrechender CpGV-Isolate, die im Rahmen des EU-Projektes *SustainCpGV* gemacht wurden. Einige dieser Isolate haben mittlerweile eine Zulassung und stehen somit den Obstbauern zur Verfügung. Diese neuen CpGV-Isolate sind ein wichtiger Baustein der erfolgreichen biologischen Bekämpfung des Apfelwicklers.

Zur optimierten Bekämpfung von Eulenraupen der Gattung *Agrotis* spp. mit Baculoviren untersucht das Institut die Interaktion zwischen verschiedenen *Agrotis*-spezifischen Baculoviren und entwickelt PCR-basierte Detektionsmethoden. Da *Agrotis*-Arten schwer mit chemischen Insektiziden zu bekämpfen sind, bieten biologische Mittel auf der Basis von Baculoviren eine vielversprechende Alternative.

Biologische Bekämpfung des Buchsbaumzünslers *Cydalima perspectalis*

Der ursprünglich aus Asien stammende Buchsbaumzünsler, *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae), bedroht seit einigen Jahren zunehmend Buchsbaumbestände in Europa. Die passive Verbreitung befälliger Buchspflanzen durch den Großhandel, aber auch der Falterflug führten zur raschen Ausbreitung dieses neuen Schädling. Möglichkeiten der biologischen Bekämpfung von *C. perspectalis* sowie dessen Biologie wurden im Rahmen einer Master- und einer Diplomarbeit intensiv untersucht.

Die Empfindlichkeit von neonaten Larven wurde gegenüber zwei Isolaten von *Anagrapha falcifera* Nukleopolyhedrovirus (AnfaNPV) in Labor-Biotests geprüft. Hierfür musste zunächst ein Biotestverfahren etabliert werden, da mit diesem Schädling bisher keine Untersuchungen durchgeführt worden sind und somit Erfahrungswerte fehlten. Die perorale Infektion durch die beiden AnfaNPV-Isolate führte innerhalb weniger Tage zum Absterben der Schädlinglarven. Infektion und Pathogenese wurden in licht- und elektronenmikroskopischen Studien untersucht und bestätigt (Abb. 3). Es zeigten sich AnfaNPV-Infektionen in Fettkörper-, Tracheenmatrix- und Epidermis-Zellen. Damit steht ein potentieller viraler Antagonist zur Verfügung, dessen Eignung in Freilandversuchen weiter geprüft werden muss.

Laborversuche mit insektenpathogenen Nematoden zeigten insbesondere mit der Art *Steinernema carpocapsae* Absterberaten bis zu 100 %. Befallen wurden sowohl Junglarven als auch Altlarven, nicht aber Puppen des Buchsbaumzünslers. Nach Sprüh-

Great importance for the practical use of CpGV had the EU project *SustainCpGV*, when resistance overcoming CpGV isolates were discovered and characterized using biological and molecular methods. Some of these isolates have been registered and are now available for apple growers. These new CpGV isolates are an important corner stone for a successful biological control of Codling Moth.

Cutworms (*Agrotis* spp.) are important agricultural soil dwelling pests. To optimize the control of cutworms, we investigate the interaction between different *Agrotis*-specific baculoviruses and develop molecular detection and quantification methods based on PCR. Because the larvae of *Agrotis* spp. are difficult to control by chemical insecticides, biological control agents based on baculoviruses provide a promising perspective for their control.

Biological control of the Box Tree Moth, *Cydalima perspectalis*

In recent years, the Box Tree Moth, *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae), originally native of Asia, has become a rapidly increasing threat to boxwood stocks in Europe. Passive dissemination of infested plants by the wholesale and active moth flight has greatly favoured the rapid spread of this pest. The biology and the feasibility of biological control of *C. perspectalis* have been extensively examined in the frame of a master and a diploma thesis.

In laboratory bioassays, the susceptibility of neonate larvae to two isolates of *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus (AnfaNPV) was tested. New laboratory bioassay techniques were developed, as available test methods could not be applied for this new pest. Orally administered occlusion bodies of both isolates of AnfaNPV caused larval mortality within a few days. Infection and pathogenesis of *C. perspectalis* larvae by AnfaNPV were investigated and confirmed by light and electron microscope studies (Fig. 3). Infections by AnfaNPV were found in fat body, tracheal matrix and epidermal cells. AnfaNPV appears to be a highly infectious viral antagonist. Its feasibility for the control of Box Tree Moth needs to be further evaluated in field tests.

Insect pathogenic nematodes, particularly *Steinernema carpocapsae*, infected young and old larvae, but no pupae of the Box Tree Moth in laboratory experiments. To investigate the susceptibility of *C. perspectalis* larvae to nematodes under



Abb. 4: Puppen von *Cydia molesta*, infiziert mit *Metarhizium anisopliae* (links) und *Isaria fumosorosea* (rechts)
Fig. 4: Pupae of *Cydia molesta* infected with *Metarhizium anisopliae* (left) und *Isaria fumosorosea* (right)

applikation der Nematoden auf Buchspflanzen, auf denen sich die Raupen in Fraßgespinsten aufhielten, starben ebenfalls 95 % der Tiere ab. Die Nematoden waren bis zu 16 Stunden nach der Applikation im Freiland noch gut wirksam. Ihre Anwendbarkeit unter Praxisbedingungen wurde in einem öffentlichen Schaugarten bei Seligenstadt (Hessen) erprobt. Weiterführende Untersuchungen sind geplant, um die biologische Bekämpfung des Buchsbaumzünslers zu optimieren.

Isaria fumosorosea als pilzlicher Gegenspieler ausgewählter Wickler-Arten und Entwicklung von Produktionsverfahren verschiedener Mikroorganismen

Wickler-Arten (Lepidoptera: Tortricidae) sind gefürchtete Schadinsekten im Obst- und Weinbau. Neben dem Apfel-, Trauben- und Pflirsichwickler, *Cydia molesta*, ist im ökologischen Anbau besonders der Pflaumenwickler, *Cydia funebrana*, ein schwer zu bekämpfender Schädling. Im Rahmen eines vom BÖLN finanzierten Forschungsprojektes erarbeitet das Institut Strategien zur biologischen Bekämpfung des Pflaumenwicklers. Insektenpathogene Pilze zeigten sich als aussichtsreiche Gegenspieler, wobei die Arten *Metarhizium anisopliae* und *Isaria fumosorosea* in Laborversuchen besonders wirksam gegen alle vier getesteten Wicklerarten waren. Wurden künstliche Verstecke wie Wellpappe oder Rindenmulch mit den Pilzen behandelt, ließen sich auch verpuppende Larven erfolgreich infizieren (Abb. 4, links mit *M. anisopliae*, rechts mit *I. fumosorosea* befallene Kokons).

Hinsichtlich der Produzier- und Formulierbarkeit sowie Persistenz schnitt *I. fumosorosea* besser ab als *M. anisopliae*. Im Gegensatz zu *I. fumosorosea* ließ sich *M. anisopliae* nur im Feststoff-Fermenter produzieren. In Flüssigkultur konnte nur eine sehr geringe Sporenbildung beobachtet werden. Weitere Untersuchungen sollen klären, ob für die Sporenbildung von *M. anisopliae* in Submerskultur relevante Gene identifiziert werden können, so dass die Sporenbildung gezielt optimiert werden kann. In Freilandversuchen muss geprüft werden, ob gerade eine Anwendung von *I. fumosorosea* den Wicklerbefall im Bestand nachhaltig reduzieren kann.

Da die Anwendbarkeit von Mikroorganismen maßgeblich von ihrer Produzier- und Formulierbarkeit abhängt, werden für weitere mikrobielle Antagonisten der Gattungen *Pseudomonas*, *Trichoderma* und *Beauveria* geeignete Verfahren zur Produktion, Formulierung und Applikation erarbeitet. Auch wird die Wirkung des vegetativen insektiziden Proteins (VIP) von *Bacillus thuringiensis* (B.t.) auf Larven der Wintersaateule *Agrotis segetum* un-

more natural conditions, field experiments on box trees were carried out. The application of *S. carpocapsae* with a pressure sprayer caused a mortality of 95 % of the larvae, despite the presence of protective feeding webs in the foliage. After the application in the field, treated branches were sampled at several time intervals and fed subsequently to *C. perspectalis* larvae. Even after 16 hours of field exposure on the box tree foliage, the nematodes caused an insect mortality of 95 %. The applicability under field conditions was tested in a public ornamental garden at Seligenstadt (Hesse). Further studies are planned to optimize the biological control of this insect.

Isaria fumosorosea as fungal pathogen of selected Tortricidae and development of production processes of different microorganisms

Moth caterpillars (Lepidoptera: Tortricidae) are severe pests in fruit growing and viticulture. In addition to the Codling Moth, Vine Moth and Oriental Fruit Moth, the control of Plum Fruit Moth (*C. funebrana*) in organic fruit production is very difficult. Within a national research project, we investigate the potential of entomopathogenic fungi incorporated in artificial hideouts for control of this pest insect. Corrugated cardboard and bark mulch were used as hideouts. When different entomopathogenic fungi were compared, *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* were the most promising candidates for the four tested insect species (Fig. 4: pupating larvae infested with *M. anisopliae* (left) or *I. fumosorosea* (right)).

In further experiments, these two fungi were compared in terms of production, formulation and persistence under semi-field conditions. The results indicated that *I. fumosorosea* can easily be produced in liquid culture and these spores showed a good persistence in the field. In contrast to *I. fumosorosea*, *M. anisopliae* cannot be produced in liquid culture because the selected strain does not develop high amounts of submerged spores. For a better understanding of the process of submerged spore formation by *M. anisopliae* further experiments are set up to identify genes involved in the spore formation. Field trials will be carried out to prove whether an application of *I. fumosorosea* can reduce damage caused by *C. funebrana* or other Tortricidae.

The implementation of antagonistic microorganisms is significantly influenced by their suitability for mass produc-



Abb. 5: Weizenflugbrand
Fig. 5: Loose smut of wheat



Abb. 6: Mycel des Flugbrand-
erregers in Ährenanlage und
Blattprimordien

Fig. 6: Mycelium of the loose
smut fungus in the apical me-
ristem and in leaf primordia

tersucht. Die Wintersaateule ist ein verbreiteter Schädling an Gemüsepflanzen in Europa, Asien und Afrika. Das VIP3A-Protein, das während der vegetativen Wachstumsphase von verschiedenen *B.t.*-Isolaten gebildet wird, rief hohe Mortalitätsraten von bis zu 98 % der behandelten Larven hervor. Damit konnte die insektizide Wirkung des VIP3A-Proteins nachgewiesen werden.

Nachweis der Flugbranderreger *Ustilago nuda* und *U. tritici* in der Pflanze als Hilfsmittel für die Entwicklung biologischer Saatgutbehandlungsverfahren

Seit der Einführung chemischer Saatgutbehandlungsmittel gegen Flugbrände haben diese Krankheiten in der konventionellen Landwirtschaft enorm an Bedeutung verloren (Abb. 5, 6). Im organischen Landbau ist die Situation eine andere, da für ihre Bekämpfung, abgesehen von der aufwändigen Warm- und Heißwasserbeize, bisher keine nicht-chemischen Saatgutbehandlungsverfahren zur Verfügung stehen. Bei Gerste und Weizen befindet sich der Flugbrandpilz im Embryo von Körnern, die äußerlich gesund erscheinen. Der Flugbrandbefall wird erst mit dem Erscheinen der Ähre sichtbar.

Um neue biologische Verfahren entwickeln zu können, werden Methoden benötigt, die es erlauben, möglichst früh zu entscheiden, ob die Pflanzen infiziert sind und Brandähren hervorbringen werden. Das könnte die Entwicklung wirksamer Mittel wesentlich verkürzt.

Im Institut wurden drei verschiedene Verfahren untersucht: Fluoreszenzmikroskopie mit dem Farbstoff Blankophor, Quantifizierung mit einem immunologischen Verfahren (ELISA) und Quantifizierung mit Hilfe der real-time PCR. Es wurde hoch befälliges Saatgut verwendet, das durch künstliche Inokulation von Getreidepflanzen zum Zeitpunkt der Blüte hergestellt worden war. Die Körner wurden im Gewächshaus ausgesät und die sich entwickelnden Pflanzen zu verschiedenen Zeitpunkten mit den genannten Verfahren untersucht. Anhand der Fluoreszenzmikroskopie mit dem Farbstoff Blankophor ließ sich das Wachstum des Flugbranderreger in der Pflanze sehr gut verfolgen. Unmittelbar nach Einsetzen der Keimung wanderte der Pilz in das apikale Meristem der Keimpflanze ein. Damit war die Ährenanlage bereits zu einem frühen Zeitpunkt infiziert. Größere Pilzmengen fanden sich in den Halmknoten. Die Ergebnisse der Mikroskopie ließen sich mit einem immunologischen Verfahren (ELISA) und der real-time PCR bestätigen. Anhand der Quantifizierung des Myzels im ersten Halmknoten konnte sicher zwischen gesunden

tion and formulation. Therefore, we are searching for applicable production and formulation strategies for further antagonists of the genera *Pseudomonas*, *Trichoderma* and *Beauveria*. We further investigate the activity of the vegetative insecticidal protein (VIP) from *Bacillus thuringiensis* (*B.t.*) against larvae of the Black Cutworm, *Agrotis segetum*. The Black Cutworm is a pest which is widely prevalent on vegetables in Europe, Asia and Africa. The VIP3A protein, secreted by various *B.t.* isolates during the vegetative stage of growth, has been tested against *A. segetum* larvae. Up to 98 % of treated larvae were killed by VIP3A demonstrating its highly potent insecticidal activity.

Detection of the loose smut pathogens *Ustilago nuda* and *U. tritici* in the plant as a tool for the development of biological seed treatments

Since the introduction of chemical seed treatments with activity against loose smuts, these diseases have lost their relevance in conventional agriculture. In organic farming, however, they are still important (Fig. 5, 6). Apart from thermal treatments with warm or hot water, non-chemical seed treatment methods for loose smut control are currently not available. In the case of barley and wheat the loose smut fungus is located in the embryo of infected kernels that externally appear healthy. The typical disease symptoms do not become obvious before emergence of the spike.

For the development of biological agents for seed treatment methods are needed that allow to decide at an early stage whether a plant is infected and will develop a smutted head. This could substantially accelerate the progress in developing new seed treatments.

Three different methods were studied: fluorescence microscopy with the fluorescent dye Blankophor, quantification with an immunological method (ELISA) and quantification by real-time PCR. The seeds used were highly infected and had been produced by artificial inoculation of florets. The kernels were sown in pots in the greenhouse. At different intervals the growing plantlets were examined using the above mentioned detection methods. The growth of the loose smut pathogen in the plant could be readily followed by fluorescence microscopy. Immediately after the onset of germination, the fungus colonized the apical meristem, which resulted in an early infection of the spike initial. Large amounts of



Abb. 7: Symptome des Falschen Mehltaus an Blättern von Schlangengurken
Fig. 7: Symptoms of the downy mildew on cucumber leaves



Abb. 8: Schlüpfende Zoosporen des Falschen Mehltaus an Gurke (*Pseudoperonospora cubensis*)
Fig. 8: Release of zoospores of downy mildew of cucumber (*Pseudoperonospora cubensis*)

und mit dem Flugbrandpilz befallenen Pflanzen unterschieden werden.

Einsatz von Pflanzenextrakten und Mikroorganismen gegen Falsche Mehltaupilze

Falsche Mehltaupilze sind ein stark limitierender Faktor für den ökologischen Anbau. Oft stehen zu deren Eindämmung keine oder lediglich kupferhaltige Präparate zur Verfügung, während wirksame biologische Alternativen meist fehlen. Zur Regulierung des Falschen Mehltaus an Schlangengurken (*Pseudoperonospora cubensis*) (Abb. 8) im Gewächshaus wurde in einem BÖLN-Projekt (06OE188) die Anwendung der Pflanzenextrakte aus Süßholz (*Glycyrrhiza glabra*) und Salbei (*Salvia officinalis*) (je 3 %) sowie des Bakteriums *Aneurinibacillus migulanus* (1:1 verdünnte Kultur) in semikommerziellen Versuchen zusammen mit dem Institut für Pflanzenschutz in Gartenbau und Forst des JKI geprüft. Bei protektiver Anwendung mit Folgebehandlungen im Abstand von 7 - 10 Tagen führten alle Präparate zu einer effektiven Befallsreduktion mit Wirkungsgraden bis zu 80 %.

In vitro zeigte der Extrakt aus *G. glabra* einen hemmenden Einfluss auf die Entlassung der Zoosporen. Gleichzeitig konnte eine resistenzinduzierende Wirkung in Gurkenpflanzen nachgewiesen werden. Von *A. migulanus* wurden verschiedene Phänotypen isoliert und charakterisiert.

In einem vom BÖLN finanzierten Verbund-Folgeprojekt wird der Süßholzextrakt in Gurke, Tomate und Kartoffel für eine effektive Anwendung im Freiland weiter entwickelt. Das Institut ist im Teilprojekt 09OE101 vor allem an der Vorprüfung Freiland-stabiler Formulierungen und an der weitergehenden Untersuchung der Wirkmechanismen beteiligt.

Pflanzenextrakte und Mikroorganismen werden derzeit in einem vom Institut koordinierten EU-Projekt untersucht. Hier geht es vor allem darum, Strategien zum Ersatz von Kupfer im ökologischen und integrierten Anbau in Europa zu erarbeiten. Dabei werden gemeinsam mit weiteren Partnern u. a. Fragen bezüglich der Formulierung und den Wirkmechanismen bearbeitet und zusammen mit dem Institut für Strategien und Folgenabschätzung des JKI Wirksamkeitsprüfungen durchgeführt. Nähere Informationen zum Projekt sind auf der Projekthomepage (www.co-free.eu) abrufbar.

the fungus were also present in the culm nodes. The results obtained by microscopy were confirmed with an immunological method (ELISA) and by real-time PCR. Quantification of the fungus in the first culm node allowed to differentiate healthy from infected plants.

Plant extracts and microorganisms for control of downy mildew fungi

Downy mildew fungi are an important and limiting factor in organic production. For their control, often none or only copper-containing preparations are available. Effective biological alternatives are mostly missing. For control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers (*Pseudoperonospora cubensis*), plant extracts from *Glycyrrhiza glabra* and *Salvia officinalis* (3 %) and the bacterium *Aneurinibacillus migulanus* (1:1 diluted culture) were tested in semi-commercial trials. Research was carried out together with the Institute for Plant Protection in Horticulture and Forestry of the JKI in the frame of a national project (06OE188) sponsored by the BÖLN programme. All above mentioned agents reduced disease severity in cucumbers effectively when applied protectively and in 7-10 day intervals. The efficacy reached up to 80 %.

In vitro, the extract of *G. glabra* showed a direct effect on the release of zoospores. In parallel, induction of resistance was found in cucumber plants. For *A. migulanus* different phenotypes were identified and characterized.

In order to further develop the extract of *G. glabra* for effective use in open field production of cucumber, tomato and potato, research is currently carried out in a collaborative follow-up project also funded by BÖLN. The Institute is particularly involved in pre-testing of formulations suitable for open-field use and in deepening investigations on the mode of action (project 09OE101).

Plant extracts and microorganisms are furthermore investigated in an EU-project coordinated by the Institute. Strategies for copper-free production in low-input and organic farming systems in Europe are developed. Together with other partner aspects concerning formulation and mode of action of the biological agents are examined. In collaboration with the Institute for Strategies and Technology Assessment of the JKI, efficacy trials are carried out. Further information on the project is available on the project homepage (www.co-free.eu).



Abb. 9: Die Brackwespe, *Ascogaster quadridentata*, parasitiert verschiedene Wicklerarten
Fig. 9: The Braconid wasp, *Ascogaster quadridentata*, is an important parasitoid species of several tortricid pests



Abb. 10: Laborversuch zur Eignung verschiedener Gründüngungspflanzen und Wildkräuter (im Uhrzeigersinn: Büschelschön, Buchweizen, Pastinake, Ackersenf) als Nahrungspflanzen für *A. quadridentata*
Fig. 10: Laboratory trial for testing flowering plants (Phacelia, buckwheat, wild parsnip, wild mustard) as food sources for *A. quadridentata*

Nahrungsökologie von Nützlingen

Nützlinge als wichtige populationsregulierende Gegenspieler von Schädlingen an Kulturpflanzen sind oft auch auf pflanzliche Nahrung wie Nektar oder Pollen angewiesen. Am Beispiel der Nahrungsökologie parasitischer Hymenopteren wird derzeit untersucht, wie ihre selektive Förderung im Agrarökosystem durch eine gezielte Gestaltung des Angebotes an Blütenpflanzen möglich ist. Dabei kann der Anbau von Pflanzenarten mit multifunktionalen Eigenschaften (z. B. Gründüngung, Nutzpflanzen für Futter, Ölsaaten, Gewürzpflanzen) für den Landwirt besonders attraktiv sein.

Brackwespen der Gattung *Ascogaster* (Abb. 9) parasitieren verschiedene schädliche Wicklerarten (*Cydia pomonella*, *C. funebrana*, *C. molesta*, *C. nigricana*, *Lobesia botrana* u. a.). Beide Geschlechter der Art *A. quadridentata* steigerten bei Zugang zu Kohlenhydratquellen (Honig, Zuckerlösung, Blütenpflanzen) ihre Lebenserwartung um ein Vielfaches (10 bis 30 Tage) im Vergleich zur Wasserkontrolle (3 Tage).

Von den bisher geprüften nektar- und pollenliefernden Pflanzen (Abb. 10) erwies sich blühender Buchweizen als besonders geeignete Nahrungsquelle. Ob davon auch Schädlinge wie z. B. der Apfelwickler profitieren, ist nach bisherigen Ergebnissen nicht eindeutig. Im Laborversuch waren Lebensdauer und Fertilität des Apfelwicklers bei Zugang zu Buchweizenblüten tendenziell, nicht aber signifikant erhöht. Buchweizen wird bereits im Weinbau zur Begrünung genutzt und hat hervorragende bodenverbessernde Eigenschaften. Zudem ist es möglich, die Samen zur menschlichen Ernährung oder zur Arzneigewinnung zu nutzen. Weitere Untersuchungen sollen klären, ob diese Pflanze selektiv nützlingsfördernde Eigenschaften besitzt und für den Anbau in Dauerkulturen empfohlen werden kann. Die Ergebnisse sollen dem Landwirt konkrete Empfehlungen liefern, wie er durch die Gestaltung der funktionellen Biodiversität in seinen Kulturen die natürliche Schädlingsregulierung fördern kann.

Food ecology of beneficial arthropods

Functional biodiversity on different trophic levels can provide essential pest control in agroecosystems. The efficacy of many beneficials may depend on a diverse environment. Especially plant-derived food (nectar, pollen) from flowering plants could be crucial for the survival and successful reproduction of beneficials. As consequence, naturally occurring key enemies should be supported by providing any necessary resources and by creating ecological infrastructures in the agricultural landscape.

Braconids of the genus *Ascogaster* (Fig. 9) are important egg-larval parasitoids of various tortricid pests (e. g. *Cydia pomonella*, *C. funebrana*, *C. molesta*, *C. nigricana*, *Lobesia botrana*). In a first attempt, the effect of sugar providing resources and nectar providing plants on survival of males and females of the tortricid parasitoid *Ascogaster quadridentata* was estimated in laboratory studies. Plants were selected by their multifunctional qualities (e. g. cover crop, soil fertilization, use for human or animal food). Both sexes of *A. quadridentata* increased their survival considerably by access to different sugar sources (10 to 30 days) in comparison to the untreated water control (3 days).

From the offered plants, however, only buckwheat could successfully feed *A. quadridentata* (Fig. 10). This plant is usually planted due to its soil protecting and weed suppressing properties, especially in viticulture, thus presenting a cover plant with multifunctional qualities. The effect on Codling Moth was less clear-cut. Whereas lifespan was at least increased in males, fecundity seemed to be less affected. Plant testing will continue and results will be used to design first field experiments in this ongoing study.

