

Institut für  
Erwerbs- und Freizeitgartenbau

## Abschlussbericht

Forschungsprojekt  
„Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im  
erdelosen Anbau im Gewächshaus mit größtmöglicher  
Rückstandsreduktion“



## IMPRESSUM

### Herausgeber

Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau (LWG)

An der Steige 15, 97209 Veitshöchheim

[www.lwg.bayern.de](http://www.lwg.bayern.de), [poststelle@lwg.bayern.de](mailto:poststelle@lwg.bayern.de)

### Redaktion & Gestaltung

Institut für Erwerbs- und Freizeitgartenbau (IEF) und Fachzentrum Analytik (A)

Martin Schulz (IEF 3) und Bettina Barth (A 1)

Tel. 0931 9801-0, Fax 0931 9801-100

[ief@lwg.bayern.de](mailto:ief@lwg.bayern.de)

[FZA@lwg.bayern.de](mailto:FZA@lwg.bayern.de)

Bildnachweis: LWG

1. Auflage

Juli 2019

# Inhaltsverzeichnis

1. Zielsetzung und Hintergrund .....	6
2. Stand der Forschung laut Fachliteratur und Herstellerangaben.....	7
2.1. Einsatz von potentiellen Bioaktivatoren in der gärtnerischen Produktion .....	7
2.2 Biologische Eigenschaften der potentiellen Bioaktivatoren .....	8
3. Gärtnerischer Teil am Gemüsebauversuchsbetrieb Bamberg .....	10
3.1. Versuche in Bamberg 2016 .....	10
3.1.1. Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Tomate.....	10
3.1.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund .....	10
3.1.1.2. Kultur- und Versuchshinweise .....	10
3.1.1.3. Ergebnisse .....	11
3.2. Versuche in Bamberg 2017 .....	13
3.2.1. Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Salatgurke.....	13
3.2.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund .....	13
3.2.1.2. Kultur- und Versuchshinweise .....	13
3.2.1.3. Ergebnisse .....	14
3.2.2. Tastversuch: Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Salatgurke.....	18
3.2.2.1. Versuchsfrage und Hintergrund .....	18
3.2.2.2. Kultur- und Versuchshinweise .....	19
3.2.2.3. Ergebnisse .....	20
3.3. Versuche in Bamberg 2018 .....	21
3.3.1. Vergleich einer Variante mit einer rückstandsreduzierten Pflanzenschutzstrategie mit einer Variante mit praxisüblicher konventioneller Pflanzenschutzstrategie.....	21
3.3.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund .....	21
3.3.1.2. Kultur- und Versuchshinweise .....	22
3.3.1.3. Ergebnisse .....	24
3.3.2. Tastversuch: Verbesserte Nährstoffaufnahme durch den Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen .....	28
3.3.2.1. Versuchsfrage und Hintergrund .....	28
3.3.2.2. Kultur- und Versuchshinweise .....	29
3.3.2.3. Ergebnisse .....	30
3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der gartenbaulichen Versuche in Bamberg .....	34
4. Biologische Untersuchungen am Fachzentrum Analytik Veitshöchheim.....	34
4.1. Material und Methoden.....	35
4.1.1. Probenaufbereitung Bioaktivatoren und Substratproben .....	35

4.1.1.1. Bioaktivatoren.....	35
4.1.1.2. Substrate.....	37
4.1.2. Mikrobiologische Untersuchungen .....	41
4.1.2.1. Bakterien und Pilze.....	41
4.1.2.2. Mykorrhiza.....	43
4.1.3. Isolierung von Phytopathogenen aus infizierten Pflanzen .....	44
4.1.4. Wechselwirkungen der Bakterien und Pilze untereinander und auf Phytopathogene .....	46
4.1.5. Stresstest.....	47
4.1.5.1. Herstellung des Inokulats als Auslöser für biotischen Stress .....	48
4.1.5.2. Inokulat aus infiziertem Pflanzenmaterial.....	49
4.2. Ergebnisse .....	49
4.2.1. Mikrobiologische Untersuchungen .....	49
4.2.1.1. Keimzahlen von Bakterien und Pilze.....	50
4.2.1.2. Gattungen der Bakterien und Pilze .....	56
4.2.1.3. Mykorrhiza.....	60
4.2.2. Isolierung von Phytopathogenen aus infizierten Pflanzen .....	61
4.2.3. Wechselwirkungen der Bakterien und Pilze untereinander und auf Phytopathogene .....	61
4.2.4. Stresstest.....	63
4.2.4.1. Herstellung des Inokulats als Auslöser für biotischen Stress .....	63
4.2.4.2. Inokulat aus infiziertem Pflanzenmaterial.....	64
4.3. Diskussion der Ergebnisse .....	64
5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse (Fazit) .....	66
6. Literaturverzeichnis.....	66
7. Veröffentlichungen und Vorträge.....	70

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BA	Bioaktivator
bzw.	beziehungsweise
CaCO <sub>3</sub>	Calciumcarbonat
CMA	Corn Meal Agar (Waltham MA USA)
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC	Elektrolytische Leitfähigkeit
EtOH	Ethanol (70%)
Fa.	Firma
g	Gramm
Gela	DEV Gelatine Agar (Merck, Darmstadt)
gg.	gegen
GS	Gemüsesaftagar
h	Stunden
HCl	Salzsäure
H <sub>2</sub> O entmin.	entmineralisiertes Wasser
k. A.	keine Angaben
KBE	Koloniebildende Einheiten
KOH	Kaliumhydroxid
M	Monate
MA	Malzextrakt Agar (Merck, Darmstadt)
MAPS	Malzextrakt Agar (Merck, Darmstadt) mit Antibiotika (Penicillin und Streptomycin)
min	Minuten
ml	Milliliter
MO	Mikroorganismen
MS	Möhrenschnitzelagar MW
NaCl	Natriumchlorid
NCBI	National Center for Biotechnology Information (8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA)
PCR	Polymerasekettenreaktion
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
RT	Raumtemperatur
RZ	Rijk Zwaan
SDS	Sodiumdodecylsulfat
sp.	Spezies
spp.	Spezies pluralis
Tab.	Tabelle
TS	Trockensubstanz
u. a.	unter anderem

## 1. Zielsetzung und Hintergrund

In Bayern wird die Unterglas-Gemüseanbaufläche im Bayerischen Agrarbericht 2018 mit 280 ha (StMELF 2019) angegeben. Davon wird mehr als die Hälfte für den Fruchtgemüseanbau genutzt. Unter erdelosen Kulturverfahren versteht man den Anbau von Pflanzen außerhalb des gewachsenen Bodens unter Verwendung von mehr oder weniger sterilen Substraten oder in reiner Nährlösung, welche derzeit als rationellste Methoden für den Anbau von Fruchtgemüse angesehen werden.

Um das hohe Ertragsniveau im erdelosen Anbau zu erreichen, werden standardmäßig rückstandsrelevante Pflanzenschutzmittel eingesetzt. Der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln wird jedoch im gesellschaftlichen Diskurs kritisch gesehen. Die gärtnerische Praxis reagiert darauf zunehmend mit der Integration von biologischen und biotechnischen Maßnahmen gegen Krankheiten und Schädlinge. Der Einsatz von Nützlingen und biologischen Pflanzenschutzmitteln hat sich im kontrolliert-integrierten Fruchtgemüseanbau (weitgehend) etabliert.

Als nächster Schritt im Substratanbau von Fruchtgemüse wird der Einsatz von Mikroorganismen im Wurzelraum sowie deren systematische Förderung angesehen. Bodenpilze bzw. Bakterien sollen die Widerstandskraft der Pflanzen erhöhen und damit die Anfälligkeit gegenüber Schädlingen und Krankheiten verringern.

Im erdelosen Anbau ist die Diversität bodenbürtiger Krankheitserreger minimaler als im gewachsenen Boden. Phytopathogene Pilze gelten als die größte Gefährdungsquelle im erdelosen Anbau. Beispielsweise können Erreger der Gattungen *Pythium* und *Fusarium* zu Totalausfällen führen.

Die Impfung von Substraten mit mikrobiologischen Zusatzstoffen führt zu einer gesteuerten Wiederbelebung des Substrates. Mikroorganismen im Wurzelraum können dabei die Nährstoffumsetzung und deren Transport positiv beeinflussen. Als Mykorrhiza bezeichnet man eine Form der Symbiose von Pilzen und Pflanzen, bei der ein Pilz mit dem Feinwurzelsystem einer Pflanze in Kontakt ist. Der Pilz nimmt durch sein feines Hyphensystem Wasser und Nährstoffe auf und die Pflanze liefert Kohlenstoff.

Weiterhin spielen Mikroorganismen eine entscheidende Rolle im Bereich Gesundheit, Immunität und Resistenzen von Nutzpflanzen. Bakterien und Pilze verbessern die Resistenz von Pflanzen gegenüber biotischen und abiotischen Stressfaktoren. Ihr genauer Einfluss ist jedoch nicht bekannt. Antagonistische Pilze besiedeln den Wurzelraum und erhöhen die Resistenz der Pflanzen gegenüber bodenbürtigen Schadorganismen.

Organische Substrate verbessern die Wirkmöglichkeit der eingebrachten Mikroorganismen. Deshalb soll in diesem Projekt der Einsatz von Mikroorganismen mit organischen Substraten kombiniert und optimiert werden.

Standardmäßig werden derzeit überwiegend mineralische, inerte Substrate wie Steinwolle und Perlit, für das erdelose Anbauverfahren verwendet. Perlitsubstrat kann mehrjährig verwendet werden. Allerdings stellt die Dämpfung für große Betriebe, aufgrund der anfallenden Substratmenge und einer möglichen Gefahr für die Übertragung von bodenbürtigen Krankheiten und Viren durch Dämpfungsfehler, immer wieder ein Problem dar.

In der Praxis besteht zunehmend der Wunsch mineralische Substrate durch organische, nachwachsende Substrate, beispielsweise aus Kokos oder Holzfaser, zu ersetzen.

Organische Substrate sind gekennzeichnet durch Wechselwirkungen mit der Düngelösung. Alle organischen Substrate sind aufgrund ihrer Instabilität in der Lage Nährstoffe freizusetzen bzw. zu binden. Holzfaser und Rindensubstrate sind gekennzeichnet durch ein weites C/N-Verhältnis, welches zu einer verstärkten N-Fixierung führt. Kokossubstrate enthalten erhöhte Kaliummengen. Weiterhin besitzen organische Substrate eine spezielle Mikrobiologie, d.h. sie sind mehr oder weniger von Mikroorganismen (Algen, Bakterien, Pilzen, Protozoen) besiedelt. Die Zusammensetzung der Mikroflora und -fauna eines Substrats ist ein dynamischer Prozess und kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden.

## 2. Stand der Forschung laut Fachliteratur und Herstellerangaben

### 2.1. Einsatz von potentiellen Bioaktivatoren in der gärtnerischen Produktion

Im Fruchtgemüseanbau kommen zunehmend mikrobiologische Bodenhilfsstoffe zum Einsatz. Mikrobiologische Bodenhilfsstoffe werden im Düngegesetz als Stoffe ohne wesentlichen Nährstoffgehalt sowie als Mikroorganismen bezeichnet, die dazu bestimmt sind,

- a) die biologischen, chemischen oder physikalischen Eigenschaften des Bodens zu beeinflussen, um die Wachstumsbedingungen für Nutzpflanzen zu verbessern oder
- b) die symbiotische Bindung von Stickstoff zu fördern.

In der Literatur werden diese Stoffe oftmals auch als Bioaktivatoren bezeichnet und können über die im Produkt enthaltenen Nährstoffe direkt eine Düngewirkung erzielen bzw. die Nährstoffaufnahme verbessern. Weiterhin tragen Bioaktivatoren zur Erhöhung der Frost-, Hitze- oder Trockenstressresistenz bei (Hennes 2017).

Unter anderem kann die Fähigkeit der Substrate zur Unterdrückung von bodenbürtigen Schaderregern gefördert werden. Die Mechanismen der biologischen Kontrolle basieren hier auf Konkurrenz, Antibiose und Hyperparasitismus (Lebensministerium Österreich 2006). Erwiesen ist beispielsweise eine antagonistische Wirkung von Pilzen der Gattung *Trichoderma* gegenüber bodenbürtigen Pflanzenkrankheiten. *Trichoderma* spp. besiedeln abgestorbenes organisches Material und verdrängen aufgrund ihrer hohen Wettbewerbskraft u. a. pilzliche Schaderreger beispielsweise der Gattung *Pythium* als Verursacher der Wurzelfäule bzw. der Schwarzbeinigkeit. Weiterhin führt die Ausbringung von Trichodermapilzen zu einer Verbesserung des Wurzelwachstums und des Blühvermögens der Pflanzen (Kühne 2006). Im Gartenbau ist mittlerweile der Einsatz von Trichodermapilzen gegen bodenbürtige Schaderreger Standard. Allerdings zeigen Versuche, dass deren Einsatz keinen zuverlässigen Schutz bieten (Scharf 2017, Andreas 2017, Hennes 2017). Die genauen Gründe sind noch nicht bekannt.

Für den Pflanzenbau sind Rückstandshöchstgrenzen für Pflanzenschutzmittel festgelegt. Mit Rückstandshöchstgehalten sind maximal zulässige Konzentrationen für Rückstände in Lebensmitteln und Futtermitteln definiert. Die zulässigen Höchstmengen sind in der „Verordnung über Höchstmengen an Rückständen von Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, Düngemitteln und sonstigen Mitteln in oder auf Lebensmitteln (Rück-

stands-Höchstmengenverordnung - RHmV)“ verbindlich festgelegt. Weiterhin ist die Anzahl der Wirkstoffe im Pflanzenbau beschränkt.

Mittlerweile werden standardmäßig Nützlinge im erdelosen Anbau von Fruchtgemüse eingesetzt. Der Einsatz von Nützlingen sollte nach Möglichkeit vor Auftreten des Schädlings präventiv erfolgen. Weiterhin verlangt ein erfolgreicher Nützingseinsatz eine Optimierung des Klimas und der Bewässerungsstrategie im Gewächshaus. Vorbeugender Nützingseinsatz erfordert einen erhöhten finanziellen Aufwand resultierend aus Material und Arbeitszeitaufwand (Raspel 2006).

## 2.2 Biologische Eigenschaften der potentiellen Bioaktivatoren

Damit Pflanzen optimal wachsen können, benötigen sie neben Licht und Wasser auch eine ausreichende Menge an Nährstoffen. Diese können über verschiedene Düngemethoden dem Boden oder Substrat zugegeben werden.

In einem Gramm natürlichen Bodens leben bereits mehrere Millionen Mikroorganismen. In der Rhizosphäre sind es nochmal 1.000 bis 2.000 mal so viele. Unter diesen Mikroorganismen gibt es sowohl pflanzenfördernde, als auch pflanzenschädigende Organismen. Die für die Pflanzen positiven Organismen können über ihren eigenen Stoffwechsel Nährstoffe fixieren und für die Pflanzen besser verfügbar machen. Zudem wirken sie antagonistisch auf phytopathogene Organismen, indem sie mit ihnen um die Nährstoffe konkurrieren oder Sekundärmetabolite ausscheiden, die die schädlichen Organismen in ihrem Wachstum eindämmen (McNear 2013, Hiltner 1904, Hartmann 2008).

Im erdelosen Fruchtgemüseanbau unter Glas werden überwiegend organische und mineralische Substrate verwendet. Diese enthalten wenige bis gar keine bodenbürtigen Mikroorganismen, welche die oben genannten Aufgaben übernehmen können. Durch verschiedene potentiell bioaktive Präparate sollen die Substrate „wiederbelebt“ und die Nährstoffverfügbarkeit durch die pflanzenfördernden Mikroorganismen verbessert werden.

Die im Projekt verwendeten potentiellen Bioaktivatoren (BA) werden von den Herstellern als wachstumsfördernde, antagonistische Mikroorganismen beworben, die in Konkurrenz zu anderen (schädlichen) Mikroorganismen treten und die Robustheit der Pflanzen stärken, sowie das Pflanzenwachstum fördern und die Stresstoleranz erhöhen (Gerlach 2017, Tmix). Die Mikroorganismen machen Nährstoffe besser verfügbar, blockieren Krankheitserreger und stimulieren das Wurzelwachstum (Becker 2016, Bactiva).

Hier kommen unterschiedliche Mikroorganismen zum Einsatz, die bereits in verschiedenen Studien verwendet und beschrieben wurden. Diese haben ganz unterschiedliche pflanzenfördernde biologische Eigenschaften, die sie dafür auszeichnen, im erdelosen Fruchtgemüseanbau eingesetzt zu werden.

Bei *Trichoderma* spp. handelt es sich um filamentöse Pilze, die weltweit verbreitet hauptsächlich im Boden, aber auch in Pflanzen, verfaulenden Pflanzenresten und Holz zu finden sind. Sie zeigen gegenüber phytopathogenen Pilzen eine antagonistische Wirkung. Diese beruht darauf, dass sie gegenüber ihren Antagonisten in Konkurrenz um Nährstoffe und Platz treten. Sie fungieren als Parasiten gegenüber anderen Pilzen.

Viele *Trichoderma* spp. wirken wachstumsfördernd auf Pflanzen, weil sie durch die Bildung von Wachstumshormonen und durch ihre Enzymaktivität hohe Ethylen-Konzentrationen, welche durch verschiedene Stresssituationen hervorgerufen werden, verringern können.

*Trichoderma* spp. produzieren organische Säuren, die den pH-Wert des Bodens absenken und dadurch Phosphat und andere Nährstoffe in Lösung bringen, wodurch diese für die Pflanzen besser verfügbar werden (Brotman 2012, Nevalainen 1998, Schubert 2006). Die Spezies *Trichoderma harzianum* ist in der Zusammensetzung von BA weit verbreitet und kommt auch in allen von uns verwendeten BA vor.

*Bacillus* spp. ist eine Bakteriengattung, die ebenfalls weit verbreitet im Boden vorkommt. Sie besteht aus einer großen Anzahl unterschiedlicher Arten stäbchenförmiger Bakterien (latein: bacillus = Stäbchen), die meist beweglich sind. Sie können lange Ketten bilden und sind vorwiegend grampositiv. Ein besonderes Kennzeichen von *Bacillus* spp. ist, dass sie Endosporen bilden können. Diese können im Ruhestadium lange Zeit überdauern und sind dabei metabolisch inaktiv. Sie besitzen dadurch eine sehr hohe Resistenz gegenüber vielen Umwelteinflüssen. So können sie auch nach vielen Jahren wieder aktive Entwicklungsstadien bilden.

Für den Einsatz von *Bacillus* spp. in BA spricht ihre Fähigkeit, den in Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) gebundenen Stickstoff in molekularen Stickstoff ( $\text{N}_2$ ) umzuwandeln. Einige Vertreter der Gattung agieren auch als Stickstofffixierer. Dadurch ist Stickstoff für Pflanzen leichter verfügbar. Viele Arten der Gattung *Bacillus* sind Antibiotikaproduzenten und können somit die Pflanzen vor Pathogenen schützen (Setlow, 2014, Todar).

*B. amyloliquefaciens* stimuliert das Pflanzenwachstum und produziert Sekundärmetabolite, wie z.B. das natürliche Enzym Barnase, das zu den Ribonukleasen gehört. Ribonukleasen katalysieren die hydrolytische Spaltung von Phosphodiesterbindungen in RNA-Ketten und zerstören diese dadurch. Diese Reaktion dient u.a. dem Recycling im ständigen Prozess der Proteinsynthese und des Proteinabbaus. Das Enzym ist letal für alle Zellen, wenn es nicht zusammen mit seinem Inhibitor Barstar exprimiert wird. *B. amyloliquefaciens* exprimiert diesen Inhibitor, der an das aktive Zentrum der Barnase bindet und schützt sich dadurch vor der Selbstzerstörung. Phytopathogene und auch andere Organismen werden durch die Barnase gehemmt (Hartley 1973, Hartley 1989, Doudna 2002).

Die Streptomyceten sind eine äußerst artenreiche Gattung aus der Klasse der Actinobacteria. Sie sind meist obligat aerob und weltweit vorwiegend im Boden zu finden, wo sie sich zu einem großen Anteil an der Zersetzung organischen Materials beteiligen. Außerdem bilden sie den Geruchsstoff Geosmin, der den Duft frischer Erde ausmacht. Die antibiotischen Eigenschaften der *Streptomyces* spp. wurden bereits in den 1940er Jahren entdeckt (Schatz, 1944). Durch Nährstoffmangel wird die Differenzierung des Luftmycels sowie die Produktion von Antibiotika ausgelöst. Streptomycin hemmt zum Beispiel die Verknüpfung von Aminosäuren (Schlegel 2014, Schrempf 2016, Dingermann 2016).

Die Pseudomonaden gehören in die Familie der Pseudomonadaceae. Es handelt sich ebenso um eine sehr artenreiche Gattung aerober Bakterien, die aufgrund ihrer polaren Begeißelung meist beweglich sind. In dieser Gruppe finden sich wichtige saprophytische Bodenbakterien, die bei der Energiegewinnung auch zur alternativen Nitratatmung fähig sind (Schlegel, 2014).

Der von uns aus einem Präparat isolierte *Pseudomonas brassicacearum* gehört in die *Pseudomonas fluorescens*-Gruppe (Achauak, 2000) und fördert in geringen Konzentrationen ( $<10^6$  Zellen/ml) das Wurzelwachstum der Pflanzen. Wird die Konzentration jedoch zu hoch, kann es zum Absterben von Pflanzenzellen kommen (Belimov, 2007).

Zur weiteren Unterstützung des Wurzelwachstums der Pflanzen und dadurch einer verbesserten Nährstoffversorgung werden in den Präparaten auch Mykorrhizapilze der Gattung *Glomus* eingesetzt. *Glomus* gehört in die Gruppe der Glomeromycota die Endomykorrhizasymbiosen mit den Pflanzen bilden. Hierbei nimmt der Pilz über sein ausgedehntes Bodenmycel Mineralstoffe, Stickstoff, Phosphor und Wasser auf und gibt sie an den Wirt weiter. Der Pilz profitiert im Gegenzug von den Photosyntheseprodukten der Pflanze (Schlegel 2014).

### 3. Gärtnerischer Teil am Gemüsebauversuchsbetrieb Bamberg

#### 3.1. Versuche in Bamberg 2016

##### 3.1.1. Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Tomate

###### 3.1.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund

Die Impfung von Substraten mit mikrobiologischen Zusatzstoffen soll zu einer gesteuerten mikrobiologischen Aktivierung des Substrates führen. Ziel ist die Verdrängung von pathogenen Erregern im Substrat sowie die positive Beeinflussung der Umsetzung und des Transportes von Nährstoffen. Im konventionellen Versuchsbetrieb wurden 2016 drei Versuchsvarianten mit mikrobiologischen Bodenzusatzstoffen in erdeloser Tomatenkultur geprüft. Weiterhin wurden zwei Verfahren der Jungpflanzenanzucht verglichen. Bei zwei Varianten wurden Mikroorganismen-Präparate eingesetzt. In einer dritten Variante wurde mit NatuGro, laut Anbieter ein Gesamtkonzept zur Förderung der biologischen Aktivität im Substrat, geprüft. Die Varianten wurden mit einer unbehandelten Kontrollvariante verglichen. Als Kultur wurde Tomate gewählt.

###### 3.1.1.2. Kultur- und Versuchshinweise

Kultur, Sorte:	Tomate 'Mecano' F1, (zweitriebig)
Substrat:	Kokossubstrat (Forteco Basic; Van der Knaap Group)
Anlagemethodik:	zweifaktorieller Versuch in 4 Wiederholungen (10 Pfl. /Wiederholung)
Aussaat:	18.11.2015
Veredlung:	10.12.2015 ('Maxifort' F1 als Unterlage)
Pflanzung:	21.01. (H7) und 22.01.2016 (H8)
Ernte:	14.04. bis 02.11.2016 (zweimal/Woche)
Pflanzdichte:	1,25 Pflanzen/m <sup>2</sup> (1,60 m × 0,5 m), 2,5 Köpfe/m <sup>2</sup>
Gewächshaus:	Venlo mit Traufhöhe: 5 m, Drahthöhe: 3,80 m (Layersystem)
Klimaeinstellungen	Tag: 20 °C (+ 1 bis 2 °C Lichtsteuerung), Nacht: 18 °C Vornacht: angestrebt waren 15 °C (angestrebte Dauer 2 h nach Sonnenuntergang)
Lüftung:	lichtabhängig 21 bis 25 °C

CO<sub>2</sub>- Düngung: CO<sub>2</sub> Begasung/lichtabhängige Anhebung: 600 ppm/50 ppm;  
max. Sollwert/  
ab Lüftungsstellung: 400/5 %  
bei Freigabe von SA +3:00 h:min. bis 13:00 Uhr.

Düngung und  
Bewässerung: Zeit-, lichtgesteuert, Nährlösung nach Haifast-Düngesprogramm,  
tägliche Dränkontrolle: angestrebter EC im Drän 4 bis 5, pH zwischen 5 bis 6

Tab. 1: Anwendungsschema der mikrobiologischen Bodenhilfsstoffe

Variante	Anbieter	Anwendungsempfehlung	jährliche Kosten (€/m <sup>2</sup> )
Bactiva & Endotrip	Bactiva GmbH, Straelen	Bactiva 250 g/ha je Gabe: alle 14 Tage ab Pflanzung; Endo Drip 650 g/ha je Gabe: Pflanzung und eine Woche später;	0,06 bis 0,10
Tmix	Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG, Bad Camberg	alle 4 Wochen 1 kg/ha (Aktivierungszeit 1 h bis 4 h),	0,08
NatuGro	Koppert Deutschland GmbH, Straelen	Mycofer: 1 g/Pfl. TH-Promotor (Trichoderma spp.): 15 g/1.000 Pfl. VidiParva (ProParva): KW 2 x 5 l/ha VidiTerrum (ProTerrum): wöchentlich 5 l/ha Vidi Fortum (ProFortum): wöchentlich 5 l/ha	0,25 bis 0,30

### 3.1.1.3 Ergebnisse

In der unbehandelten Kontrollvariante wurde auf dem Steinwollwürfel mit 32 kg/m<sup>2</sup> ein signifikant höherer Mengenertrag erzielt als auf dem Kokoswürfel mit 28,9 kg/m<sup>2</sup> bei statistisch gleichem Stückertrag (Tab. 2). Durch den Einsatz der mikrobiologischen Bodenzusatzstoffe gleichen sich die Erträge zwischen den beiden Jungpflanzenanzuchtvarianten an. Die statistische Verrechnung ergab in der Variante Bactiva (Kokospflanzwürfel) einen signifikanten Ertragsvorteil gegenüber der unbehandelten Kontrollvariante (Kokospflanzwürfel). Dies lässt vermuten, dass es positive Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen und organischem Substrat gibt. Der Einsatz von mikrobiologischen Bodenzusatzstoffen in den Varianten mit einem Steinwollpflanzwürfel führte zu keiner Ertragssteigerung. Tomatenpflanzen auf einem Kokospflanzwürfel wiesen zur Pflanzung eine geringere Wuchshöhe und einen geringfügig späteren Blühbeginn auf als die auf einen Steinwollwürfel angezogenen Jungpflanzen.

Tab. 2: Ertrag und Einzelfruchtgewicht

	Ertrag		Einzelfruchtgewicht G	nichtmarktfähig Stück/m <sup>2</sup>
	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>		
Bactiva (Kokospflanzwürfel)	31,4 ab	378 a	81,9 a	15,9 a
Bactiva (Steinwollpflanzwürfel)	31,5 ab	384 a	81,1 abc	17,7 a
Tmix (Kokospflanzwürfel)	29,9 bc	378 a	78,3 bc	17,7 a
Tmix (Steinwollpflanzwürfel)	31,1 ab	382 a	81,1 abc	16,7 a
NatuGro (Kokospflanzwürfel)	31,2 ab	380 a	82,2 a	11,1 ab
NatuGro (Steinwollpflanzwürfel)	31,6 ab	385 a	82,0 a	8,0 b
unbehandelt (Kokospflanzwürfel)	28,9 c	372 a	78,0 bc	11,3 ab
unbehandelt (Steinwollpflanzwürfel)	32,0 a	385 a	81,7 ab	8,2 b
<b>Durchschnitt</b>	<b>30,9</b>	<b>381</b>	<b>80,8</b>	<b>13,3</b>
<b>Kleinste signifikante Differenz</b>	<b>1,9</b>	<b>18</b>	<b>3,4</b>	<b>7,3</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

Statistisch abgesichert konnten Unterschiede im Einzelfruchtgewicht festgestellt werden. Das höchste Einzelfruchtgewicht wurde mit 82 g bei einer Grenzdifferenz von 3,4 g in der Variante NatuGro (Steinwollwürfel) erzielt. Die unbehandelte Kontrollvariante auf Kokospflanzwürfel wies mit 78 g das geringste Einzelfruchtgewicht auf. Auch hier ist festzustellen, dass der Einsatz von mikrobiologischen Bodenzusatzstoffen zu einer Erhöhung des Einzelfruchtgewichtes führte, wenn ein Kokospflanzwürfel für die Jungpflanzenanzucht verwendet wurde. Auffallend ist auch, dass in der Variante Standard (Steinwollwürfel) die wenigsten nichtmarktfähigen Tomaten geerntet wurden. Da dies nicht zu einem erhöhten Stückertrag führte, lässt dies auf ein erhöhtes Abstoßen der Früchte in der Füllungsphase schließen.

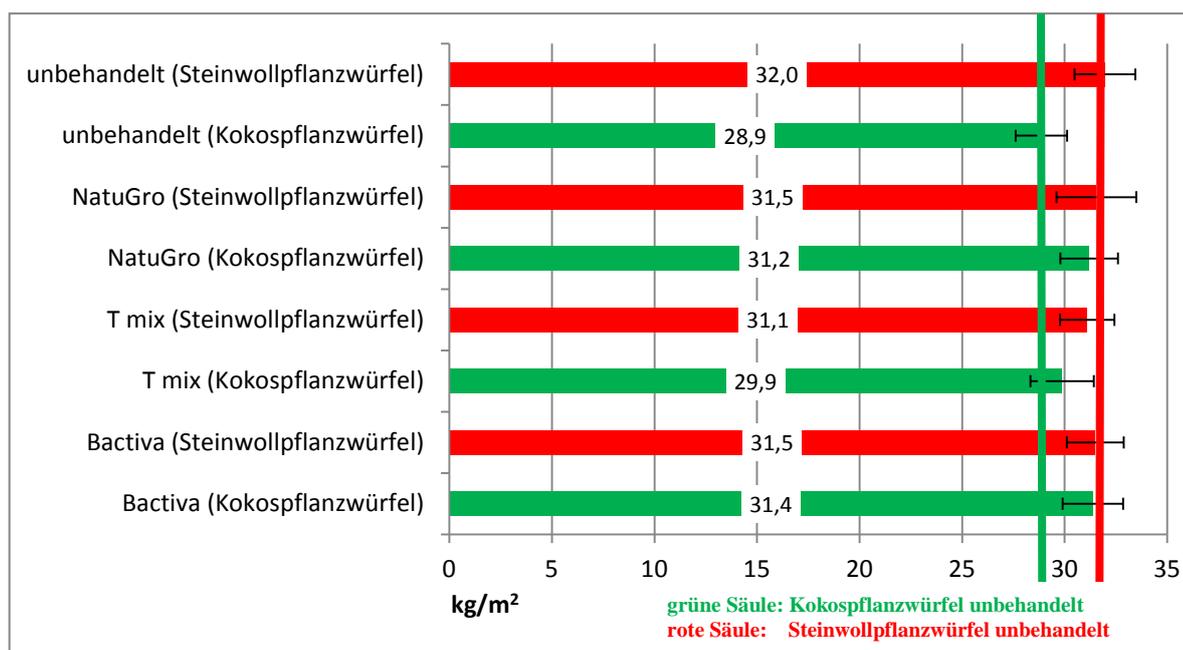


Abb. 1: Ertrag in kg/m<sup>2</sup>

## 3.2. Versuche in Bamberg 2017

### 3.2.1. Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Salatgurke

#### 3.2.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund

Der Versuch stellte eine Wiederholung des Versuches vom Vorjahr dar. Allerdings wurde diesmal als Kultur Salatgurke im Zweisatzanbau gewählt. Als Substrat wurde ein anorganisches inertes Perlitsubstrat (Fa. PullRhenen) sowie ein inertes organisches Kokossubstrat (Forteco Basic; Fa. Van der Knaap Group) gewählt. Zum Vergleich wurde jeweils eine Substratvariante unbehandelt gelassen.

#### 3.2.1.2. Kultur- und Versuchshinweise

Kultur, Sorte:	Salatgurke, 'Proloog' F1
Substrat:	Kokossubstrat (Forteco Basic; Fa. Van der Knaap Group) Perlit (Fa. PullRhenen)
Anlagemethodik:	zweifaktorieller Versuch in 4 Wiederholungen, 12 Pfl./Wiederholung)
Mikrobielle Bodenhilfsstoffe:	Bactiva (Fa. Bactiva GmbH) Tmix (Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG) NatuGro, (Koppert Deutschland GmbH) 0 – Variante (unbehandelt) Anwendung der Bodenhilfsstoffe wie in Tab. 1 beschrieben
Pflanzung:	21.03. (1. Satz) 07.07. (2. Satz)
Erntezeitraum 1. Satz:	15.04. bis 27.06. (tägliche Ernte außer sonntags)
Erntezeitpunkt 2. Satz:	30.07. bis 04.09.2017 (tägliche Ernte außer sonntags)
Klimaeinstellungen	praxisüblich (siehe Abschnitt 3.1.1.2); Simulierung von abiotischem Stress (Tab. 5)
Bewässerung:	siehe Abschnitt 3.1.1.2
Düngung:	Düngerezept für Salatgurken (Haifast-Düngeprogramm)

Tab. 3: Induzierung von biotischem und abiotischem Stress

21.03.	Inokulat <i>Fusarium oxysporum</i> auf 3 Pflanzstellen je Wiederholung und Variante
ab 01.06.	Lüftung: T/N: 31/22; keine Befeuchtung, Nachtstarts
21.06.	Bewässerungsstopp von 8.30 bis 15.30 Uhr
21.06.	Inokulat ( <i>Pythium ultimum</i> ) auf 3 Pflanzstellen je Kokossubstratvariante
26.06.	Bewässerungsstopp von 8.30 bis 15.30 Uhr
28.06.	Inokulat Praxismaterial ( <i>Pythium ultimum</i> ) auf 3 Pflanzstellen je Kokossubstratvariante
11.07.	erste Symptome von Schwarzbeinigkeit (Praxismaterial)
30.07.	Erntebeginn (Stammfrüchte ab 400 g statt 350 g, Seitentriebsfrüchte ab 500 g statt 450 g)
01.08.	Bewässerungsstopp von 8.30 bis 15.30 Uhr
03.08.	Bewässerungsstopp von 8.30 bis 15.30 Uhr
07.08.	Bewässerungsstopp von 8.30 bis 15.30 Uhr
04.09.	Versuchsabbruch wegen Blattlausbefall

### 3.2.1.3. Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse des ersten Satzes zeigten keine Unterschiede, bedingt durch den Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen. Die Variante Perlit (NatuGro) erzielte mit 39,5 Stück/m<sup>2</sup> den signifikant höchsten Ertrag. Die Variante Perlit (Bactiva) wies mit 34,2 Stück/m<sup>2</sup> den niedrigsten Ertrag auf (Tab. 4, Abb. 2). Allerdings kann dieser Unterschied auf den Versuchsaufbau zurückzuführen sein. Die Variante (NatuGro) sowie die unbehandelte Variante befanden sich in dem gleichen, etwas helleren Produktionshaus, während sich die Tmix- und Bactiva-Varianten im anderen Haus befanden, das insgesamt dunkler ist. Dieser Zusammenhang konnte jedoch erst im weiteren Versuchsverlauf erkannt werden. Bei den Varianten mit Tmix und Bactiva wurde ein leicht höherer Ertrag auf organischem Kokossubstrat im Vergleich zu den Varianten auf mineralischem Perlitsubstrat erzielt. Dies könnte auf mögliche mikrobielle Aktivitäten im organischen Substrat zurückzuführen sein (siehe Abschnitt 4.2.1.1).

Tab. 4: Ertragsauswertung 2017 (1. Satz); Pflanzdatum: 21.03.2017  
(Kultur Salatgurken, Sorte 'Proloog')

	marktfähiger Ertrag		nicht marktfähiger Ertrag	
	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>
81 Perlit (NatuGro)	39,5 a	16,8 a	12,0 bc	0,7 a
81 Kokos (NatuGro)	37,8 ab	16,1 ab	11,9 bc	0,7 a
82 Perlit (unbehandelt)	37,3 abc	15,8 ab	11,0 c	0,7 a
82 Kokos (unbehandelt)	37,3 abc	15,8 ab	11,0 c	0,7 a
72 Kokos (Tmix)	36,4 abc	15,6 ab	16,1 a	0,9 a
72 Perlit (Tmix)	35,4 bc	15,0 b	14,3 ab	0,9 a
71 Kokos (Bactiva)	35,0 bc	14,8 b	14,6 ab	0,9 a
71 Perlit (Bactiva)	34,2 c	14,6 b	14,7 ab	0,8 a
<b>Mittelwert</b>	<b>36,6</b>	<b>15,5</b>	<b>13,2</b>	<b>0,8 a</b>
<b>Grenzdifferenz</b>	<b>3,2</b>	<b>1,47</b>	<b>3,2</b>	<b>0,3</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

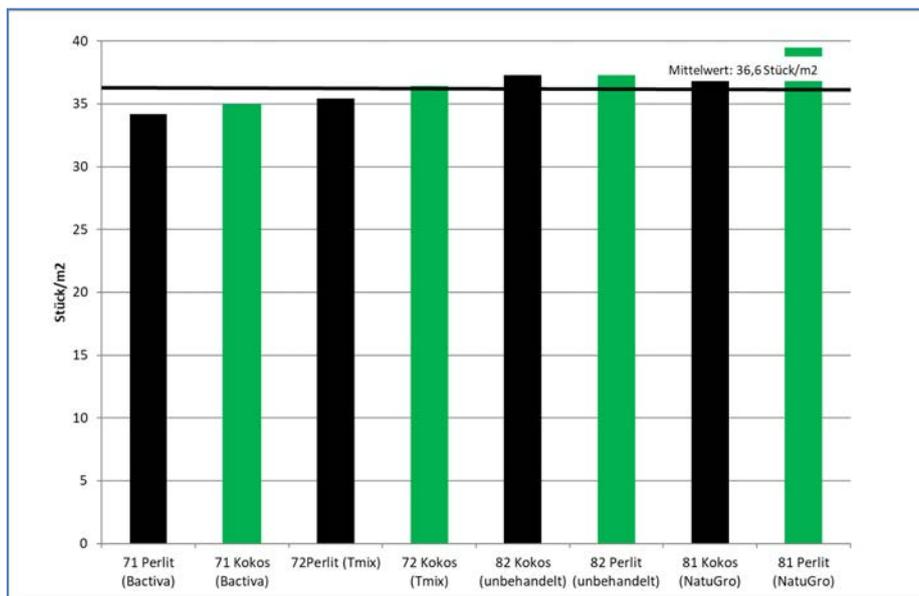


Abb. 2: Ertragsauswertung 2017 (1. Satz); Pflanzdatum: 21.03.2017 (Kultur Salatgurken, Sorte 'Proloog')

Gegen Ende der Kulturzeit trat Grauschimmel (*Botrytis cinerea*) auf. Eine hohe Luftfeuchtigkeit, Lichtmangel, Temperaturen höher als 30°C etc. führten zu einer Schwächung des Bestandes und damit zu einer Förderung des Befalls. Am 26. Mai wurde der erste Grauschimmelfall in der unbehandelten Kokos-Variante festgestellt. Der Befallsverlauf wurde regelmäßig bonitiert (Abb. 3). Erst am 6. Juni wurde der erste Befall in der Bactiva- bzw. Tmix-Variante auf Perlitsubstrat festgestellt. Die Varianten Kokos (NatuGro), Kokos (unbehandelt) sowie Perlit (unbehandelt) wiesen die höchsten Befallsgrade auf (Abb. 3). Bei der Variante Kokos (Bactiva) konnte hingegen kein Befall bonitiert werden. Ebenfalls einen deutlich geringeren Befall wiesen die Varianten Perlit (Tmix) und Kokos (Tmix) auf. Ob dieser positive Effekt auf den Einsatz der Bioaktivatoren zurückzuführen ist, kann nur vermutet werden.

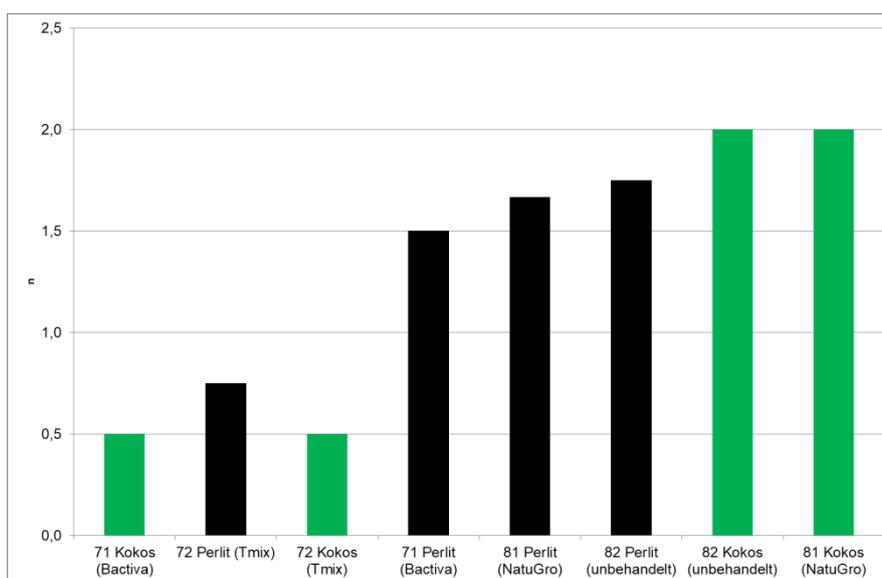


Abb. 3: Ausfälle Botrytis: 1. Satz Pflanzdatum: 21.03.2017 (Kultur Salatgurken, Sorte 'Proloog')

Der Folgesatz (zweiter Satz) wurde am 07. Juli gepflanzt. Als Sorte wurde wieder 'Prolog' gewählt. Im Rahmen des Versuches wurden erfolgreich abiotische Stresssituationen durch hohe Temperaturen und Trockenstress simuliert (Tab. 3). Diese gewollte Schwächung der Kultur erhöhte gleichzeitig die Anfälligkeit gegenüber Schädlingen wie Spinnmilbe, Gurken- bzw. schwarzer Bohnenblattlaus (Abb. 8). Am 3. August wurde der erste Befall mit Blattläusen in den Varianten mit Bactiva und Tmix substratunabhängig bemerkt. Die Bekämpfung erfolgte mit Neudosan (Kaliseife). Trotzdem kam es im weiteren Verlauf zu einer explosionsartigen Entwicklung, welche letztendlich am 04. September zu einem Versuchsabbruch führte.

Tab. 5: 2. Satz (sortiert nach marktfähigem Ertrag in Stück/m<sup>2</sup>)

	marktfähiger Ertrag		nicht marktfähiger Ertrag	
	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>
81 Perlit (NatuGro)	17,5 a	8,4 a	18,2 a	0,3 a
81 Kokos (NatuGro)	17,1 a	8,2 a	17,5 a	0,3 a
72 Kokos (Tmix)	16,4 a	7,8 a	16,7 a	0,3 a
72 Perlit (Tmix)	16,3 a	7,8 a	16,8 a	0,3 a
82 Kokos (unbehandelt)	14,6 b	6,7 b	16,0 a	0,3 a
71 Kokos (Bactiva)	14,5 b	6,5 b	15,1 a	0,4 a
71 Perlit (Bactiva)	14,0 b	6,5 b	10,6 a	0,3 a
82 Perlit (unbehandelt)	13,6	6,2 b	14,7 a	0,3 a
<b>Durchschnitt</b>	<b>15,5</b>	<b>7,3</b>	<b>15,7</b>	<b>0,3</b>
<b>Grenzdifferenz</b>	<b>1,4</b>	<b>0,7</b>	<b>2,7</b>	<b>0,1</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

Die Ertragsauswertung des zweiten Satzes zeigte signifikant höhere Erträge der Varianten Perlit und Kokos mit NatuGro bzw. Tmix als Bodenhilfsstoff (Tab. 5). Den signifikant niedrigsten Ertrag wies die Variante Perlit (unbehandelt) auf. Inwieweit dieser Effekt durch den Einsatz der mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen verursacht wurde, kann nur vermutet, aber nicht bewiesen werden.

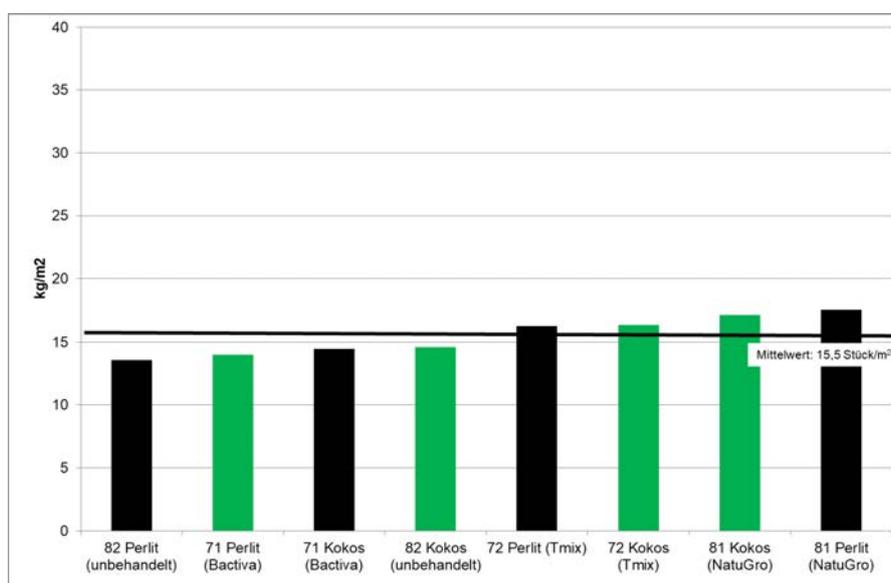


Abb. 4: Ertragsauswertung 2. Satz; Pflanzdatum: 07.07.2017, Kultur Salatgurken, Sorte 'Prolog'

Weiterhin sollte geprüft werden, inwieweit mikrobielle Bodenhilfsstoffe bei biotischem Stress einen positiven Einfluss auf die Krankheitsabwehr der Salatgurken haben können. Die Fusarium-Welke, verursacht durch den Erreger *Fusarium oxysporum* und die Wurzelfäule oder Schwarzbeinigkeit, verursacht durch Erreger der Gattung *Pythium*, sind derzeit die beiden wichtigsten bodenbürtigen Krankheiten im Salatgurkenanbau im Gewächshaus. Bei beiden Krankheiten dringen die Erreger über das Substrat in die Wurzeln ein. Infektionsfördernd sind dabei grundsätzlich geschwächte Pflanzen und Wurzelverletzungen, sowie hohe Temperaturen bei gleichzeitig hoher Luftfeuchte.



Abb. 5: Inokulation mit infiziertem Praxismaterial am 28.06.2017



Abb. 6: Stängel-Verholzung nach Pythiumbefall am 04.08.2017



Abb. 7: Totalausfall verursacht durch Pythiumbefall am 04.08.2017



Abb. 8: Blattlausbefall am 04.09.2017

Bereits während des ersten Satzes am 21. März wurde dazu ein vom Fachzentrum Analytik zur Verfügung gestelltes Inokulat mit *Fusarium oxysporum* (Tab. 5) in einem Substratsack je Variante und Wiederholung zugegeben. Am 21.03. wurden die gleichen Substratsäcke mit einer ebenfalls im Labor produzierten *Pythium ultimum*-Suspension inokuliert (zur Herstellung der Inokulate siehe Abschnitt 4.1.3 und 4.1.5.1). Eine Schädigung der Pflanzen konnte jedoch in allen Varianten nicht bonitiert werden, obwohl die Phytopathogene im Substrat mittels eines DNA-Multiscan nachgewiesen werden konnten.

Die Varianten auf Kokossubstrat wurden vor der Pflanzung des zweiten Satzes an drei Pflanzstellen/Wiederholung mit infiziertem Material aus einem Praxisbetrieb (*Pythium* spp.) inokuliert. Dazu wurde infiziertes zerkleinertes Pflanzenmaterial in die Pflanzstellen eingearbeitet (Abb. 5).

Bereits am 11. Juli konnten bei allen inokulierten Varianten Verbräunungen am Stängelgrund festgestellt werden. Nach Verstärkung des Symptoms bis zum teilweisen Totalausfall (Abb. 7) regenerierten sich die Pflanzen je nach Variante unterschiedlich (Abb. 6). Generell führte der Befall zu einer Ertragsdepression im Vergleich zu den nicht inokulierten Varianten. Der Versuchsdurchschnitt des Inokulationsversuches belief sich auf 11,4 Stück/m<sup>2</sup> gegenüber erreichten 15,5 Stück/m<sup>2</sup> auf den nicht infizierten Substratmatten. Allerdings zeigten die BA-Varianten Tmix mit 13,7 Stück/m<sup>2</sup>, NatuGro mit 12,2 Stück/m<sup>2</sup> sowie Bactiva mit 10,7 Stück/m<sup>2</sup> einen deutlich höheren Stückertrag als die unbehandelte inokulierte Standardvariante mit 9,11 Stück/m<sup>2</sup> (Tab. 6 und Abb. 9). Dies lässt auf eine positive Wirkung der mikrobiellen Bodenhilfsstoffe auf die Pflanzenvitalität bzw. Erhöhung des antiphytogenen Potentials des Substrates, verbunden mit der Gesundung des Pflanzenbestandes schließen.

Tab. 6: Ertragsauswertung Inokulationsversuch 2017; 2. Satz;  
Pflanzdatum: 07. Juli (Kultur Salatgurken, Sorte 'Prolog')

	marktfähiger Ertrag		nicht marktfähiger Ertrag	
	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>
Kokos (Tmix)	13,7 b	6,6	10,7 a	0,03 a
NatuGro (Kokos)	12,2 ab	6,2	10,0 a	0,10 a
Bactiva (Kokos)	10,7 ab	5,7	11,5 a	0,06 a
Standard (Kokos)	9,1 b	3,9	9,6 a	0,07 a
<b>Durchschnitt</b>	<b>11,4</b>	<b>5,4</b>	<b>10,5</b>	<b>0,07</b>
<b>Grenzdifferenz</b>	<b>4,2</b>	<b>2,2</b>	<b>2,0</b>	<b>0,15</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

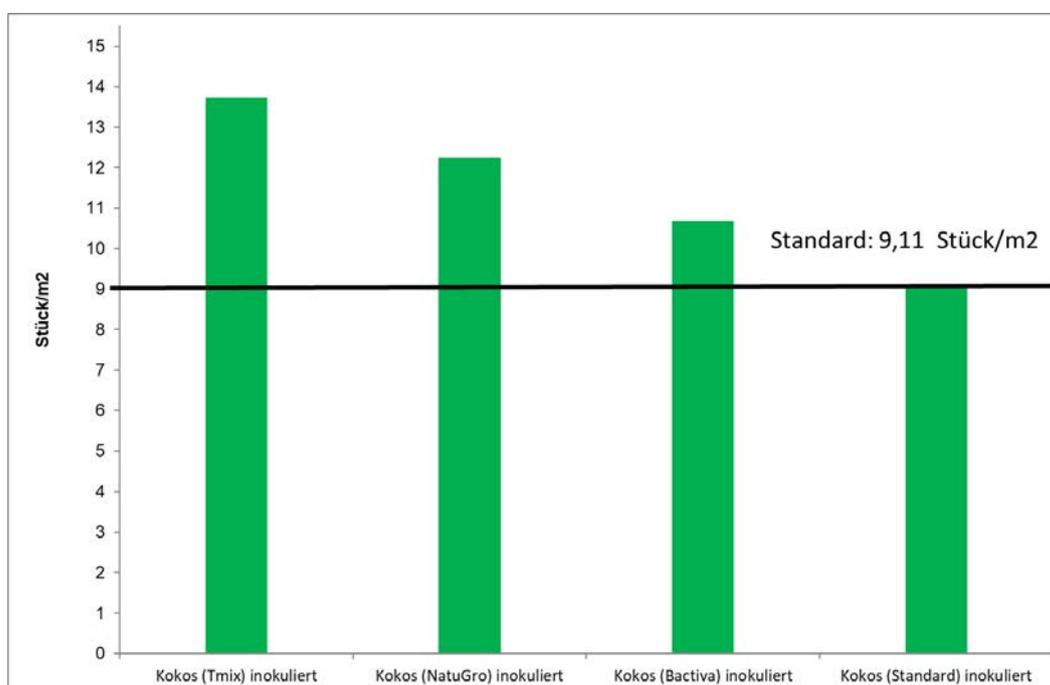


Abb. 9: Ertragsauswertung Inokulationsversuch 2017; 2. Satz;  
Pflanzdatum: 07. Juli (Kultur Salatgurken, Sorte 'Prolog')

### 3.2.2. Tastversuch: Vergleich von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau in ihrer Wirkung auf Ertrag und Pflanzengesundheit, Kultur: Salatgurke

#### 3.2.2.1. Versuchsfrage und Hintergrund

Die durchgeführten Tastversuche des Jahres 2017 hatten das Ziel, verschiedene mikrobiologische Bodenhilfsstoffe auf ihre antagonistische Wirkung gegenüber bodenbürtigen Schaderregern der Gattung *Pythium* (Verursacher der Schwarzbeinigkeit oder Wurzelfäule) zu untersuchen. Die eingesetzten Substratmatten wurden mit infiziertem Material aus einem Praxisbetrieb inokuliert (Abb.10). Gleichzeitig wurden die Jungpflanzen an der Wurzel ver-

letzt, um ein Eindringen des Erregers zu erleichtern (Abb. 11.). Die Jungpflanzen wurden für die erste und dritte Wiederholung zugekauft (regionaler Jungpflanzenbetrieb).



Abb. 10: Inokulation am 16.02.2017



Abb. 11: Verletzung der Wurzel am 21.02.2017

### 3.2.2.2. Kultur- und Versuchshinweise

Kultur, Sorte: Salatgurke, 'Prolog' F1  
 Substrat: Kokossubstrat (Forteco Basic; Fa. Van der Knaap Group)  
 Anlagemethodik: Tastversuch

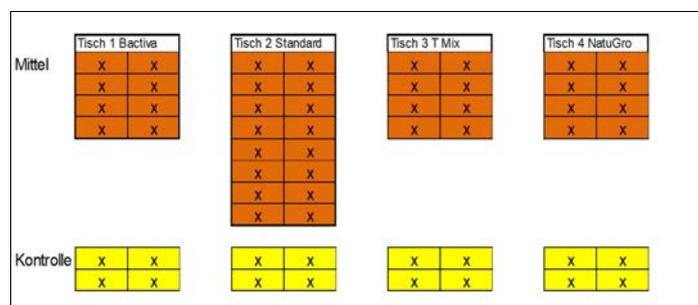


Abb. 12: Versuchsplan Tastversuch 2017; Antagonistische Wirkung von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen

Mikrobielle Bodenhilfsstoffe: Bactiva (Fa. Bactiva GmbH)  
 Tmix (Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG)  
 NatuGro, (Koppert Deutschland GmbH)  
 0 – Variante (ohne Behandlung)

Pflanzung, Versuchsende: 28. März, 07. Juni (1. Wiederholung)  
 24. Mai, 20. Juni (2. Wiederholung)  
 11. Juli, 14. August (3. Wiederholung)

Klimaeinstellungen praxisüblich

### 3.2.2.3. Ergebnisse

Die Boniturergebnisse (Tab. 7 bis 9) zeigen, in Abhängigkeit vom Pflanzdatum, teilweise positive Effekte der geprüften mikrobiologischen Bodenhilfsstoffe auf den Befallsgrad. Allerdings wird die Aussage bestätigt, dass die geprüften Mittel in Abhängigkeit von den äußeren Rahmenbedingungen keine 100 %ige Sicherheit (Abb. 13 und Abb. 14) bieten.



Abb.13: Verbräunung am Stängelgrund am 28.02.2017



Abb.14: Welkeerscheinungen am 30.05.2017

Tab. 7: Pflanztermin: 28.03.2017, Jungpflanzenzukauf

	Tisch 1 (Bactiva)	Tisch 3 (T-Mix)	Tisch 4 (NatuGro)
Boniturtermin	07.06.2017		
Ausfall; Kontrolle ohne Behandlung in %	100	100	75
Ausfall; Variante mit Behandlung in %	75	63	25

Tab. 8: Pflanztermin: 24.05.2017 eigene Jungpflanzenanzucht

	Tisch 1 (Bactiva)	Tisch 3 (T-Mix)	Tisch 4 (NatuGro)
Boniturtermin	20.06.2017		
Ausfall; Kontrolle ohne Behandlung in %	100	100	75
Ausfall; Variante mit Behandlung in %	100	100	13

Tab. 9: Pflanztermin: 11.07.2017, Jungpflanzenzukauf

	Tisch 1 (Bactiva)	Tisch 3 (T-Mix)	Tisch 4 (NatuGro)
Boniturtermin	14.08.2017		
Ausfall; Kontrolle ohne Behandlung in % *	3,25	3,25	2,75
Ausfall; Variante mit Behandlung %*	2,6	2,3	3,12

\* 1 =geringer Befall; 2 = mittlerer Befall; 3 = starker Befall; 4 = abgestorben

### 3.3. Versuche in Bamberg 2018

#### 3.3.1. Vergleich einer Variante mit einer rückstandsreduzierten Pflanzenschutzstrategie mit einer Variante mit praxisüblicher konventioneller Pflanzenschutzstrategie

##### 3.3.1.1. Versuchsfrage und Hintergrund

Unter „Kontrolliert-Integrierter Produktion“ (KIP) versteht man die kontrollierte Erzeugung gärtnerischer Produkte nach den Grundsätzen des integrierten, umweltgerechten Pflanzenbaus. Eine Pflanzenschutzstrategie nach den Richtlinien der Kontrolliert-Integrierten Produktion hat das Ziel, den Einsatz von rückstands- bzw. wirkstoffrelevanten Pestiziden im Kulturverlauf zu minimieren. Gleichzeitig muss das im konventionellen Fruchtgemüseanbau übliche Ertragsniveau beibehalten werden, um die Konkurrenzfähigkeit zu erhalten. Ein Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln sollte erst erfolgen, wenn alle anbau- und kulturartenspezifischen Maßnahmen ausgeschöpft sind. Dies soll unter anderem erreicht werden durch:

- gesunde und widerstandsfähige Pflanzen
- vorbeugenden biologischen Pflanzenschutz u. a. durch den Einsatz von Nützlingen und nicht rückstandsrelevanten Pflanzenstärkungsmitteln
- die Zuführung bzw. Förderung von „nützlichen Mikroorganismen“, die das Vermögen des Substrates bei der aktiven Ausschaltung, Verminderung oder Hemmung von Pathogenen erhöhen
- die Optimierung der Klimaführung im Hinblick auf Luftfeuchtigkeit, Vermeidung von Temperaturen über 30°C und Vermeidung einer Befeuchtung des Laubes, die dadurch zu einer Pflanzenstärkung und Erhöhung der Effektivität des Nützlingseinsatzes führt
- die Optimierung des Anbauverfahrens durch eine geeignete Substrat- und Sortenwahl.

Ziel des Versuches 2018 war es, Wege zu finden, wie der Einsatz von rückstandsrelevanten Pflanzenschutzmitteln reduziert werden kann. Im Versuch wurde deshalb eine Variante einer praxisüblichen konventionellen (Standard) mit einer rückstandsreduzierten (Reduziert) Pflanzenschutzstrategie verglichen.

In der Standardvariante wurden konventionelle zugelassene synthetische Pflanzenschutzmittel praxisüblich vorbeugend eingesetzt. Die chemischen Pflanzenschutzmittel wurden nach dem Schadschwellenprinzip angewendet, das heißt wenn ein betriebswirtschaftlicher Schaden zu erwarten ist.

In der rückstandsreduzierten Variante wurden vorbeugend Nützlinge und nicht rückstandsrelevante biologische Pflanzenschutzmittel eingesetzt. Weiterhin wurde zur Stärkung des antiphytopathogenen Potentials der mikrobiologische Bodenhilfsstoff Tmix in vierwöchigen Intervallen getropft.

Als Substrate wurden ein mineralisches Perlit-Substrat sowie zwei organische Kokossubstrate gewählt.

Das energieaufwändig aus Lavagestein produzierte Perlit ist ein Lavagestein aus Aluminiumsilikat und kann nach erfolgter Dämpfung mehrfach verwendet werden (Göhler 2002). Aufgrund seines hohen Porenvolumens besitzt Perlit ein hohes Aufnahmevermögen an pflanzenverfügbarem Wasser bei gleichzeitigem hohem Durchlüftungsgrad. Perlit ist inert, chemisch neutral und temperaturbeständig.

Das Kokos-Forteco-Substrat ist laut Anbieter ein ungeschichtetes Kokossubstrat mit einem Wasseraufnahmevermögen von 6,0 l Wasser für 1 kg Trockenmaterial. Bei Sättigung würde die luftgefüllte Porosität ( $\pm 2,5$ ) 30 Vol% betragen. Grund für diese Struktur ist ein hoher Anteil von unzerkleinerten Kokoschips. Folge ist, eine geringe Verweilzeit des Bewässerungswassers im Substrat ähnlich wie bei Perlitsubstrat.

Das Kokos-Jiffy-Substrat ist ein zweilagiges geschichtetes Substrat, welches je zur Hälfte aus feinem Kokosstaub (Cocopeat) im oberen Bereich und im unteren Bereich überwiegend aus Kokosstücken (Kokoschips) mit Kokosfasern besteht. Die obere Schicht soll eine gleichmäßige Wasserverteilung begünstigen und damit eine schnellere Einwurzelung während der Anfangsphase ermöglichen. Die grobstrukturierte untere Schicht soll für eine bessere Durchlüftung im späteren Kulturverlauf sorgen. Folge dieses Aufbaus ist eine längere Verweilzeit des Bewässerungswassers im Jiffy-Kokos-Growbag, verbunden mit einem langsameren Austrocknen (Leest 2015).

Je Pflanzenschutzstrategie standen zwei getrennte Bewässerungskreisläufe zur Verfügung, welche mit unterschiedlichen Bewässerungs- und Düngestrategien geführt wurden. An hellen Tagen wurden bis zu 6 l/m<sup>2</sup> bei 30 % Drän gegeben. In jedem Bewässerungskreislauf wurde eine Perlitvariante etabliert.

Die Pflanzenschutzstrategien wurden mit Hilfe einer Ertragserfassung verglichen. Weiterhin wurden die Pflanzenschutzstrategien betriebswirtschaftlich vergleichend bewertet.

### 3.3.1.2. Kultur- und Versuchshinweise

Sorte:	1.Satz: 'Proloog' (RZ) 2.Satz: 'Climont' (RZ)
Substrat:	
Anlagemethodik:	zweifaktorieller Versuch in 4 Wiederholungen (12 Pfl./Wiederholung) Faktor Pflanzenschutzstrategie: 2 (Reduziert und Standard) Faktor Substrat: 3 Perlit (Fa. PullRhenen B.V.), Kokos-Jiffy (Fa. Jiffy International AS), Kokos-Forteco (Fa. Van der Knaap Gruppe)
Pflanzabstand, -dichte:	40 cm (3 Pfl./Matte); 1,6 Pfl./m <sup>2</sup>
Aussaat:	11.01.2018 (1. Satz) 22.05.2018 (2. Satz)
Pflanzung:	08.02.2018 (1. Satz) 18.06.2018 (2. Satz)
Erntegrößen:	Stammfrüchte: 350 bis 400 g Seitentriebsfrüchte: 400 bis 500 g
Erntezeitraum 1. Satz:	15.03. bis 11.06.2018 (tägliche Ernte außer sonntags)
Erntezeitpunkt 2. Satz:	08.07. bis 14.09.2018 (tägliche Ernte außer sonntags)

Klimaeinstellungen  
Düngung:

praxisüblich (siehe Abschnitt 3.1.1.2);  
Düngerezept für Salatgurken (Haifast-Düngeprogramm)

**Pflanzenschutz:**

Tab. 10: Pflanzenschutz in Haus 7 (Reduzierte Variante)

	1. Satz	2. Satz
Tmix	19.01. Jungpflanzen (2 Tage) nach Aufgang 14.02. nach Pflanzung alle 4 Wochen	30.05. Jungpflanzen (2 Tage) nach Aufgang 15.06. nach erfolgter Pflanzung alle 4 Wochen
Pflanzenschutz		31.07. Vertimec Pro (Abamectin) gg. Spinnmilbe 10.08. Vertimec Pro (Abamectin) gg. Spinnmilbe 14.08. Kumar (Kaliumhydrogencarbonat) gg. Echten Mehltau 24.08. Kumar (Kaliumhydrogencarbonat) gg. Echten Mehltau 31.08. Kumar (Kaliumhydrogencarbonat) gg. Echten Mehltau
Nützlinge	09.02. Gelbtafeln zur Kontrolle ab 14.02. <i>Encarsia formosa</i> gg. Weiße Fliege ab 14.02. <i>Amblyseius swirskii</i> gg. Thripse ab 06.03. Verda Protect (Schlupfwespenmix) gg. Blattläuse ab 28.03. <i>Phytoseiulus persimilis</i> Streuware ab 18.04. <i>Phytoseiulus persimilis</i> gg. Spinnmilben Blattware	14.06. Gelbtafeln zur Kontrolle ab 14.06. <i>Encarsia formosa</i> gg. Weiße Fliege ab 14.06. <i>Phytoseiulus persimilis</i> (Streuware) ab 19.06. <i>Amblyseius swirskii</i> ab 19.06. <i>Diglyphus isaea</i> gg. Minierfliegen ab 19.06. <i>Trichogramma</i> Schlupfwespen gg. Schadmotten ab 19.06. Verda Protect Schlupfwespenmix ab 13.07. <i>Phytoseiulus persimilis</i> (Blattware) ab 09.08. <i>Aphidius colemani</i>

Tab. 11: Pflanzenschutz in Haus 8 (Standard)

	1. Satz	2. Satz
Pflanzenschutz	19.01. Previcur Energy ( <i>Fosetyl u. Propamocarb</i> ) Jungpflanzen gegen Pythium 15.02. Previcur Energy ( <i>Fosetyl u. Propamocarb</i> ) gegen Pythium 09.03. Teppeki ( <i>Fonicamid</i> ) gegen Blattläuse	30.05. Pro Plant ( <i>Propamocarb</i> ) gg. Pythium 18.06. Pro Plant ( <i>Propamocarb</i> ) gg. Pythium 29.06. Teppeki ( <i>Fonicamid</i> ) gg. Blattläuse 07.08. Vertimec Pro ( <i>Abamectin</i> ) gg. Spinnmilbe 13.08. Score ( <i>Difenoconazol</i> ) gg. Echten Mehltau 24.08. Collis ( <i>Kresoxim-methyl, Boscalid</i> ) gg. Echten Mehltau 24.08. Switch ( <i>Fludioxonil, Cyprodinil</i> ) gg. Botrytis 30.08. Topas ( <i>Penconazol</i> ) gg. Echten Mehltau
Nützlinge	09.02. Gelbtafeln zur Kontrolle ab 22.03. <i>Encarsia formosa</i> gg. Weiße Fliege	14.06. Gelbtafeln zur Kontrolle ab 14.02. <i>Encarsia formosa</i> gg. Weiße Fliege 31.07. <i>Diglyphus isaea</i> gg. Minierfliege

**Bewässerung/Düngung:** zeit- und lichtgesteuert; für den Versuch standen je Haus zwei Bewässerungskreisläufe zur Verfügung, ab Ertragsphase helle Tage: 6 l/m<sup>2</sup> (30 %); dunkle Tage 2 l/m<sup>2</sup> (0 bis 10 % Drän)

Haus 7 (Reduziert): Bewässerungskreislauf 71 mit den Varianten: 71 Reduziert (Perlit); 71 Reduziert (Kokos-Forteco)  
 Bewässerungskreislauf 72 mit den Varianten: 72 Reduziert (Perlit); 72 Reduziert (Kokos-Jiffy)

Haus 8 (Standard): Bewässerungskreislauf 81 mit den Varianten: 81 Reduziert (Perlit); 81 Reduziert (Kokos-Forteco)  
 Bewässerungskreislauf 82 mit den Varianten: 82 Reduziert (Perlit); 82 Reduziert (Kokos-Jiffy)

### 3.3.1.3. Ergebnisse

Der erste Satz wurde am 11. Februar gepflanzt. Die Ernte begann am 15. März und die Räumung des Hauses erfolgte am 11. Juni. Aufgrund der klimatischen Rahmenbedingungen während des Kulturzeitraumes, war eine optimale Klimaführung möglich. Deshalb kam es zu keinen phytopathologischen Problemen. Die Varianten Standard (Perlit), Reduziert (Perlit) und Reduziert (Kokos-Jiffy) erzielten den höchsten Ertrag (Tab. 12, Abb. 15). Der niedrigste Ertrag wurde mit der Standardvariante auf Kokossubstrat erzielt. Auffallend ist der signifikant höhere Ertrag der rückstandsreduzierten Variante gegenüber der Standardvariante auf dem gleichen Kokos-Jiffy-Substrat.

Tab. 12: Ertrag: 1. Satz, Exaktversuch

	marktfähiger Ertrag		nicht marktfähiger Ertrag	
	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>
81 Standard (Perlit)	34,9 a	15,4 a	40,2 a	1,5 a
71 Reduziert (Perlit)	34,8 a	15,2 ab	24,5 c	0,9 b
72 Reduziert (Kokos-Jiffy)	34,4 a	15,0 ab	24,4 c	0,9 b
81 Standard (Kokos-Forteco)	33,9 ab	14,9 ab	34,8 ab	1,3 ab
72 Reduziert (Perlit)	33,4 ab	14,7 ab	23,9 c	1,0 b
71 Reduziert (Kokos-Forteco)	32,9 ab	14,4 ab	24,1 c	0,9 b
82 Standard (Perlit)	32,8 ab	14,5 ab	38,9 ab	1,3 ab
82 Standard (Kokos-Jiffy)	31,6 b	14,0 b	31,2 bc	1,1 ab
<b>Mittelwert</b>	<b>33,6</b>	<b>14,8</b>	<b>30,2</b>	<b>1,1</b>
<b>Grenzdifferenz</b>	<b>2,6</b>	<b>1,3</b>	<b>8,0</b>	<b>0,4</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

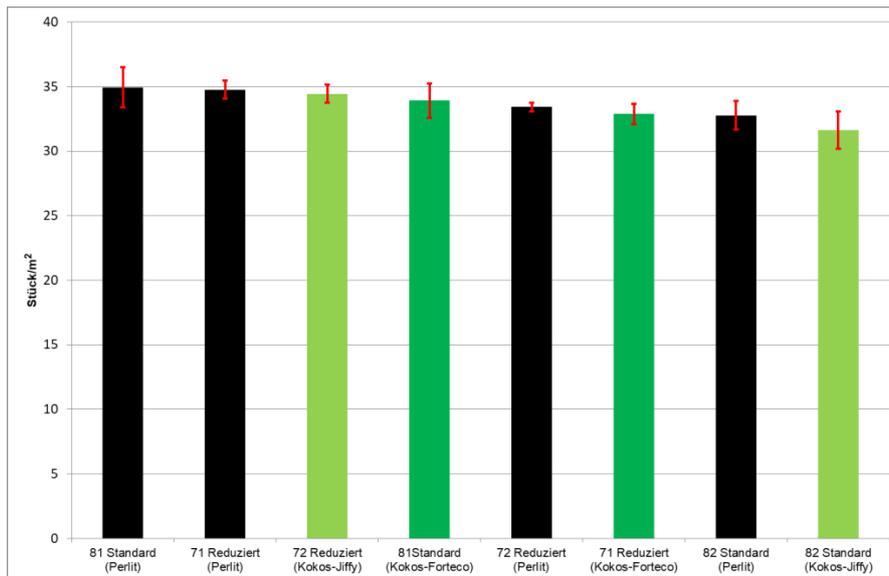


Abb. 15: Versuch 2018/1. Satz: Kultur Salatgurken, Ertrag in Stück/m<sup>2</sup>

Die Pflanzung des zweiten Satzes erfolgte am 18. Juni. Erntebeginn war der 08. Juli. Die letzte Ernte erfolgte am 14. September. Der höchste marktfähige Ertrag wurde mit der Standardvariante Kokos (Kokos-Forteco) erzielt (Tab. 13, Abb. 16). Den niedrigsten Ertrag wies die Variante Reduziert (Kokos-Forteco) auf. Der Sommer 2018 war überdurchschnittlich warm. Folge dessen bewegt sich die Klimaführung im suboptimalen Verlauf. In beiden Häusern stiegen die Temperaturen weit über 30°C am Tag. Die Luftfeuchtigkeit sank teilweise auf unter 50 % (optimal wären 80 %). Der optimale Temperaturbereich für die eingesetzten Nützlinge liegt zwischen 25 und 30°C. Heiße Temperaturen schränken die Wirksamkeit von Nützlingen ein. Umgekehrt fördern hohe Temperaturen die Ausbreitung von Schädlingen wie Spinnmilben oder Blattläuse. Diese Rahmenbedingungen führten zu einem Befall mit Spinnmilben im Produktionshaus mit der rückstandsreduzierten Pflanzenschutzstrategie, welchem am 31.07. und 10.08. mit einer chemischen Pflanzenschutzmaßnahme (Wirkstoff: *Abamectin*) begegnet werden musste.

Tab. 13: Ertrag 2. Satz

	marktfähiger Ertrag		nicht marktfähiger Ertrag	
	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>	Stück/m <sup>2</sup>	kg/m <sup>2</sup>
81 Standard Kokos-Forteco	28,3 ab	12,7 a	34,8 a	1,1 a
81 Standard Perlit	26,0 ab	12,8 ab	40,2 a	1,0 a
82 Standard Perlit	26,0 ab	11,7 abc	38,9 a	1,1 a
82 Standard Kokos-Jiffy	25,9 ab	11,5 abc	31,2 a	1,1 a
71 Reduziert Perlit	25,3 ab	11,2 abc	24,5 a	1,0 a
72 Reduziert Kokos-Jiffy	25,2 ab	11,1 abc	24,4 a	1,3 a
71 Reduziert Perlit	24,8 ab	11,0 bc	23,9 a	0,9 a
71 Reduziert Kokos-Forteco	22,6 b	10,0 c	24,1 a	1,0 a
<b>Mittelwert</b>	<b>25,5</b>	<b>11,5</b>	<b>30,2</b>	<b>1,1</b>
<b>Grenzdurchschnitt</b>	<b>3,6</b>	<b>1,7</b>	<b>8,5</b>	<b>0,6</b>

Unterschiedliche Ertragszahlen mit gleichen Buchstaben sind zufällig (statistisch nicht abgesichert)

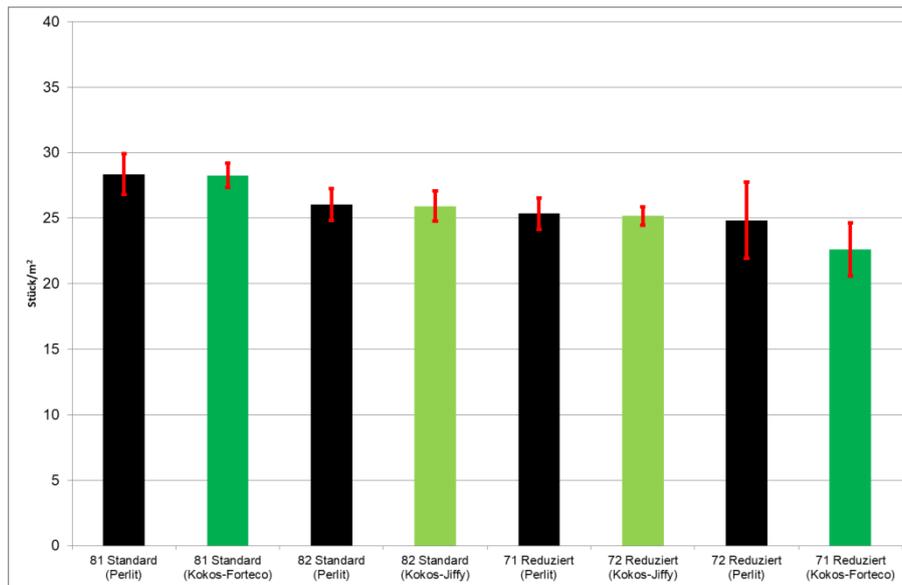


Abb. 16: Versuch 2018, 2. Satz: Kultur Salatgurken, Ertrag in Stück/m<sup>2</sup>

Am Ende des Versuches wurde der Krankheitsbefall bonitiert (Abb. 17 und Abb. 18). Vor Räumung des ersten bzw. des zweiten Satzes wurden Pflanzen, welche Symptome eines Befalls mit *Pythium* spp. bzw. *Botrytis* spp. zeigten, gezählt (Abb. 18). Am Ende des zweiten Satzes breitete sich Echter Mehltau aus. Dieser wurde mittels einer Bonitur (1 = kein Befall; 9 = abgestorben) ebenfalls bewertet (Abb. 17). Die Auswertung dieser Ergebnisse zeigte keinen wirklichen Unterschied, welcher auf die Pflanzenschutzstrategie zurückzuführen war.

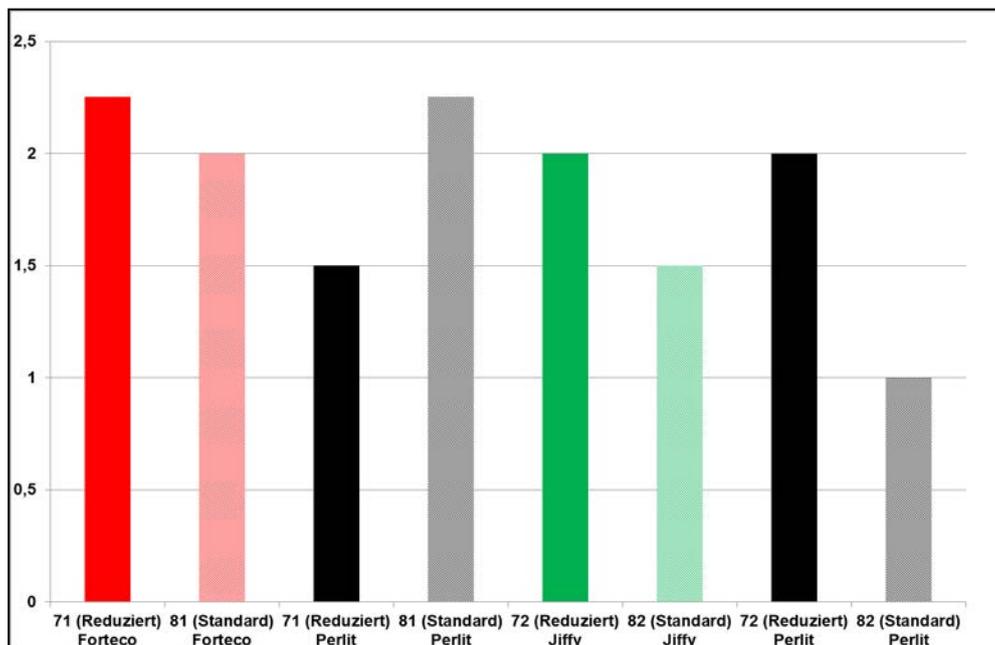


Abb. 17: Versuch 2018 Echter Mehltau - Befallsbonitur vom 06.09.2018 (1 = kein Befall; 5 = Bekämpfungsschwelle, 9 = Bestand abgestorben)

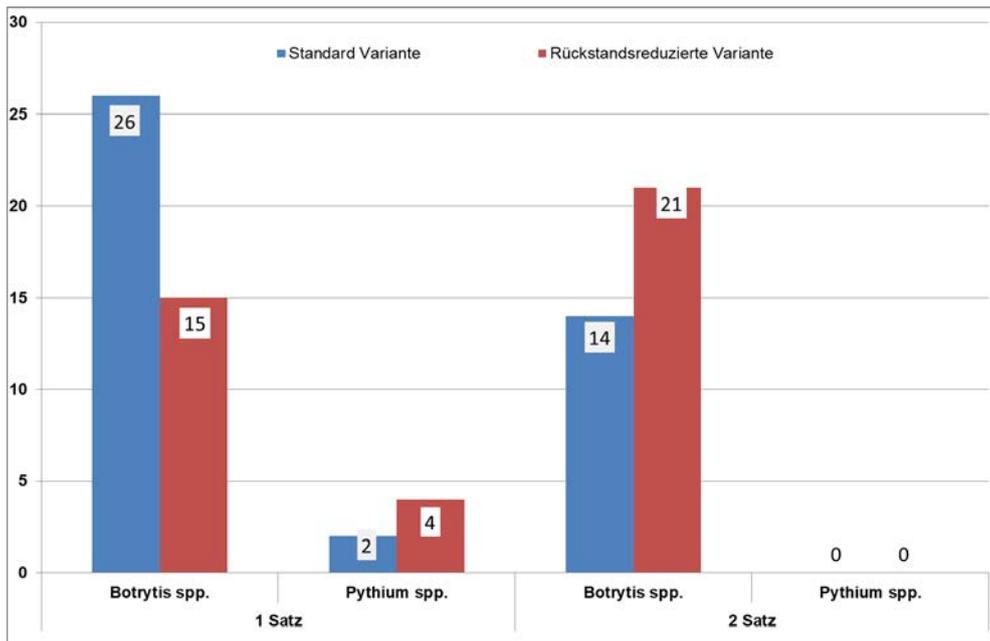


Abb. 18: Versuch 2018 Ausfälle durch *Botrytis* spp. und *Pythium* spp. (absolute Zahlen)

Abschließend wurde versucht, den reinen Betriebsmittel- und Zeitaufwand quantitativ und monetär zu bewerten (Abb. 19 und Abb. 20). Integrierter Pflanzenschutz verlangt bei beiden Varianten regelmäßige Kontrollen auf Krankheiten und Schädlinge. Der zeitliche Gesamtaufwand in der rückstandsreduzierten Variante betrug 13,8 min/m<sup>2</sup> gegenüber 7,8 min/m<sup>2</sup> in der Standardvariante. In der Kalkulation wurden dafür Kontrollzeiten von 2 x 20 min/Woche für beide Varianten angesetzt. Besonders zeitaufwändig war die vorbeugende Ausbringung von Nützlingen in der rückstandsreduzierten Variante. Der vorbeugende Einsatz von Nützlingen hat einen höheren Betriebsmitteleinsatz in der rückstandsreduzierten Variante zur Folge, da 4,45 €/m<sup>2</sup> in der rückstandsreduzierten Variante nur 0,87 €/m<sup>2</sup> in der Standardvariante gegenüber stehen.

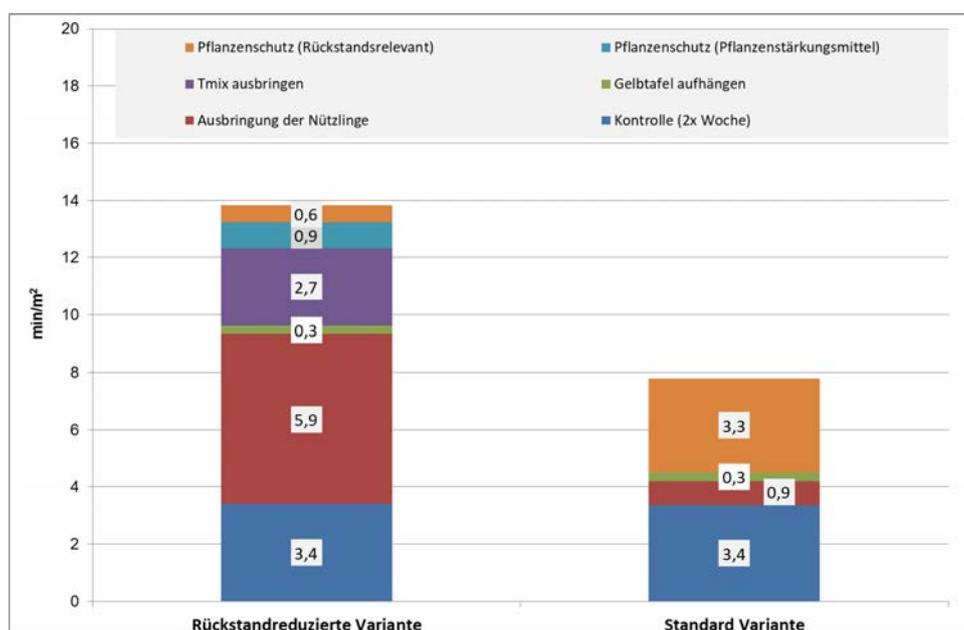


Abb. 19: Versuch 2018 (Haus 7 und Haus 8): Zeitaufwand in min/m<sup>2</sup> für Pflanzenschutz

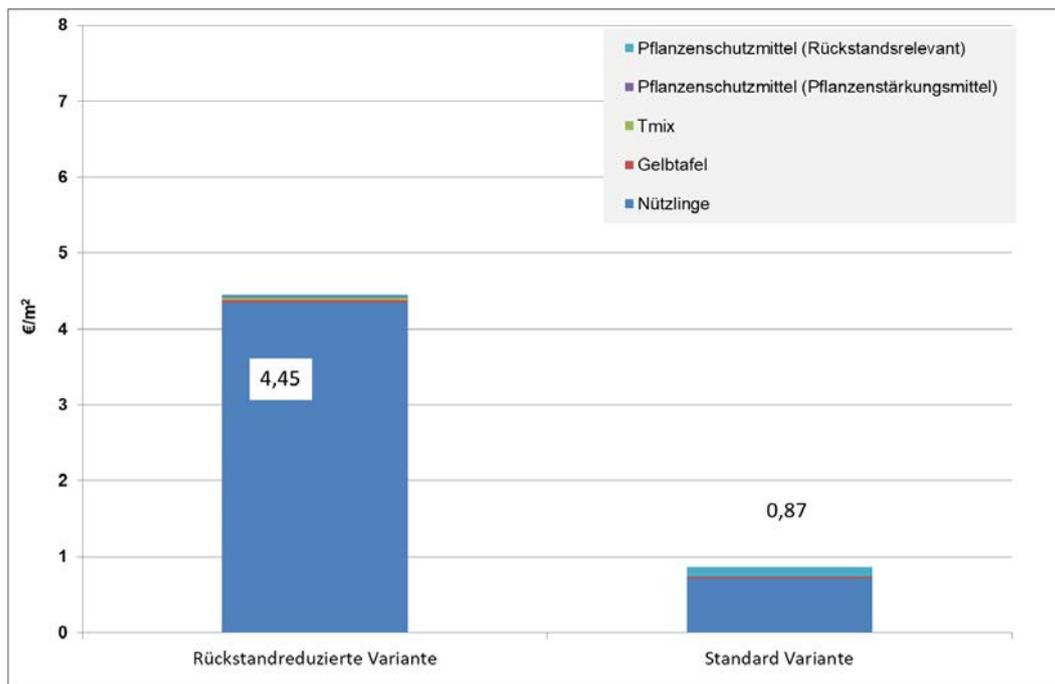


Abb. 20: Versuch 2018: Pflanzenschutzmittelaufwand in €/m<sup>2</sup>

### 3.3.2. Tastversuch: Verbesserte Nährstoffaufnahme durch den Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen

#### 3.3.2.1. Versuchsfrage und Hintergrund

Einige der mikrobiologischen Bodenhilfsstoffe enthalten Mikroorganismen, welche die Nährstoffaufnahme bzw. deren Pflanzenverfügbarkeit verbessern können (siehe Abschnitt 2.2.).

Für den Tastversuch 2018 wurde deshalb folgende Hypothese aufgestellt: Mikrobiologische Bodenzusatzstoffe führen zu einer effizienteren Nährstoffaufnahme.

Die Versuchsfrage lautete „Haben mikrobiologische Bodenhilfsstoffen im erdelosen Anbau einen Einfluss auf die Ernährung der Pflanze?“. Ziel war es herauszufinden, ob der Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen zu einer effizienteren Düngernutzung und damit zu einer möglichen Düngereinsparung führen kann.

Die Düngung im erdelosen Anbau unter Glas erfolgt mit Hilfe des EC-Wertes. Der EC-Wert beschreibt die elektrische Leitfähigkeit von Wasser und stellt ein Maß für die gelösten (Dünge-)Salze im Bewässerungswasser dar. Mittels einer EC-Wert-Absenkung wurde versucht, einen Nährstoffmangel zu erzeugen. Der Dünge-EC wurde in der Mangelvariante im ersten Satz auf 2,0 mS/cm und im Folgesatz sogar auf 1,0 mS/cm abgesenkt. In der Standardvariante wurde der EC praxisüblich auf 3,0 mS/cm eingestellt. Eine praxisübliche Lichtsteuerung war technisch in den Vermehrungshäusern nicht möglich. Als Kultur wurden Salatgurken gewählt.

Folgende Produkte wurden überprüft:

Pro Grow 570 Plus (PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft mbH): Enthält laut Anbieter verschiedene arbuskuläre Mykorrhiza-Pilze sowie acht verschiedene nützliche Bodenbakterien. Dadurch soll u.a. die Phosphat- und Stickstoffverfügbarkeit verbessert werden.

Bactiva/Endotrip (Bactiva GmbH): Besteht neben *Trichoderma* spp. aus *Bacillus subtilis*, *B. polymyxa*, *B. megaterium* und *Pseudomonas fluorescens*.

Tmix (Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG): Besteht laut Anbieter aus fünf Komponenten (*Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp. und einer symbiontischen Endo-Mykorrhiza). Bakterien der Gattung *Bacillus* spp. sind in der Lage Luftstickstoff zu fixieren. Die Endo-Mykorrhiza-Pilze sollen die Wasser- und Phosphorversorgung verbessern.

### 3.3.2.2. Kultur- und Versuchshinweise

Tab. 14: Kultur und Versuchshinweise

	1. Satz	2. Satz
Pflanzabstand, -dichte	40 cm (3 Pflanzen/Matte); 1,6 Pflanzen/m <sup>2</sup>	
Substrat:	Kokos (Fa. Jiffy) Kokos (Fa. Van der Knaap)	
Sorte	'Proloog, F1' RZ	'Proloog, F1' RZ
Aussaat	13.02.2018	22.05.2018
Varianten	Pro Grow 570 Plus (PROGRESS Agrar Handelsgesellschaft mbH) Tmix (Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG) Bactiva/Endo Drip (Bactiva GmbH) Standard (ohne Behandlung)	
Pflanzung	07.03.2018	13.06.2018
Ernte	09.04. bis 11.05.2018	03.08. bis 31.08.2018
Erntegrößen	Stammfrüchte: 350 bis 400 g (6 mal/Woche) Seitentriebfrüchte: 400 bis 500 g (6 mal/Woche)	
Klimaführung	Klimacomputer RAM CC 600	
Bewässerung	licht- und zeitgesteuert	
Düngung (Standardvariante)	EC am Tropf: 3,0 ph 5,5	EC am Tropf: 3,0 ph:5,5
Düngung (Mangelvariante)	EC am Tropf: 2,0, ph 5,5	EC am Tropf: 1,0 ph:5,5

Tab. 15: Düngerezept nach Haifast – Düngeprogramm

NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	H <sup>+</sup>	Si	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo
mmol/l								µmol/l						
1,25	8,00	4	1,38	16	0	1,38	1,25	0	15	10	5	25	0,75	0,5



Abb. 21: Jungpflanzen (Tastversuch 2018) am 28.02.



Abb. 22: Tastversuch 2018 am 08.03.



Abb. 23: Tastversuch 2018 am 16.03.

Abb. 24: Tastversuch 2018 am 16.04.

### 3.3.2.3. Ergebnisse

Die Auswertung der Ertragsergebnisse beider Sätze ergaben keine ertragsfördernde Effekte, verursacht durch den Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen (Tab. 16; Abb. 25). Anders als erwartet wurde teilweise in den Mangelvarianten sogar ein höherer Ertrag als in der Standarddüngvariante erzielt.

Tab. 16: Ertragszusammenfassung Mangelversuch 1. Satz

	Haus 6.1. (EC=2,0)	Haus 6.2. (EC=3,0)
	Anzahl geernteter Früchte	
Pro Grow Jiffy	99	75
Pro Grow Forteco	84	73
Tmix Jiffy	99	88
Tmix Forteco	82	91
Bactiva Jiffy	107	85
Bactiva Forteco	92	80
Standard Jiffy	93	75
Standard Forteco	94	73

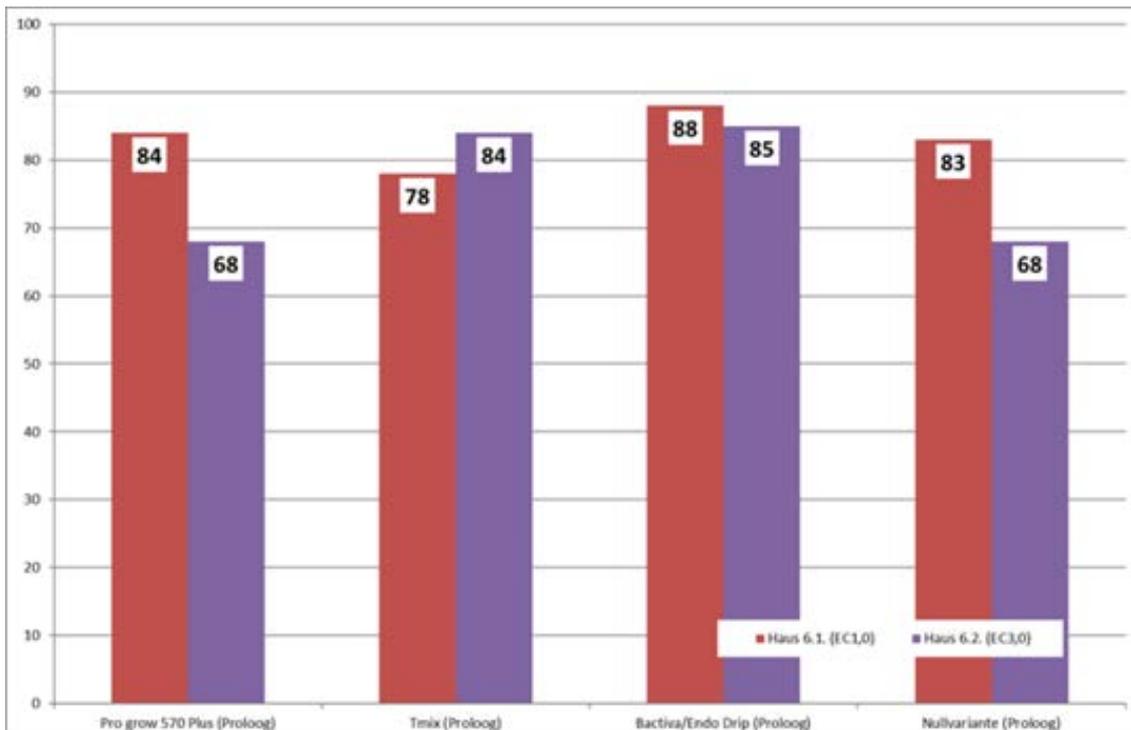
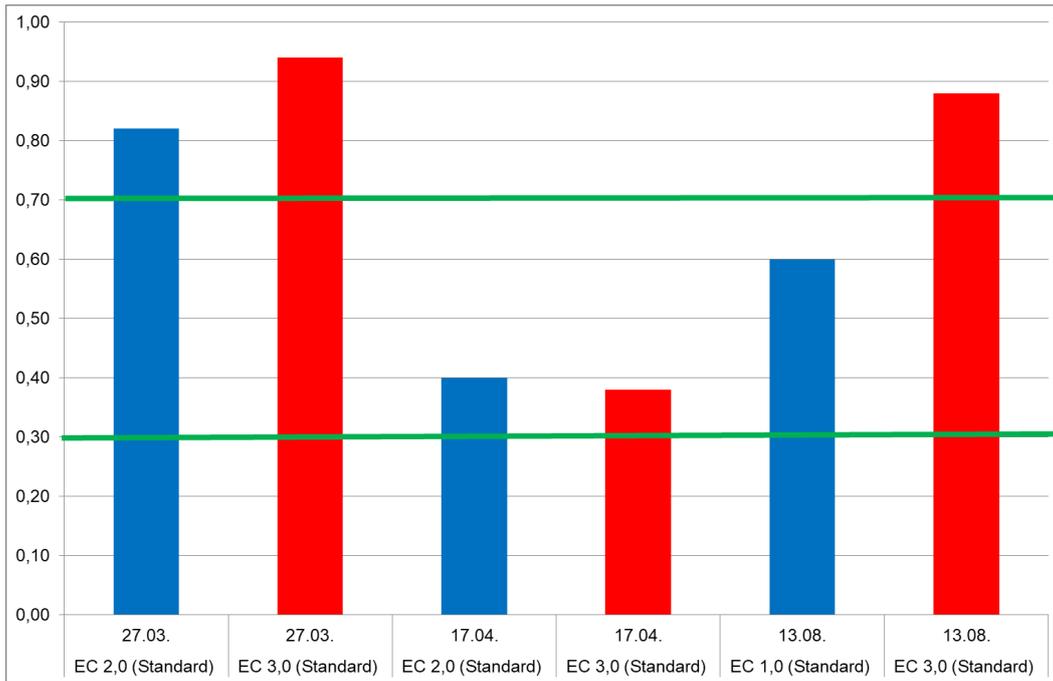
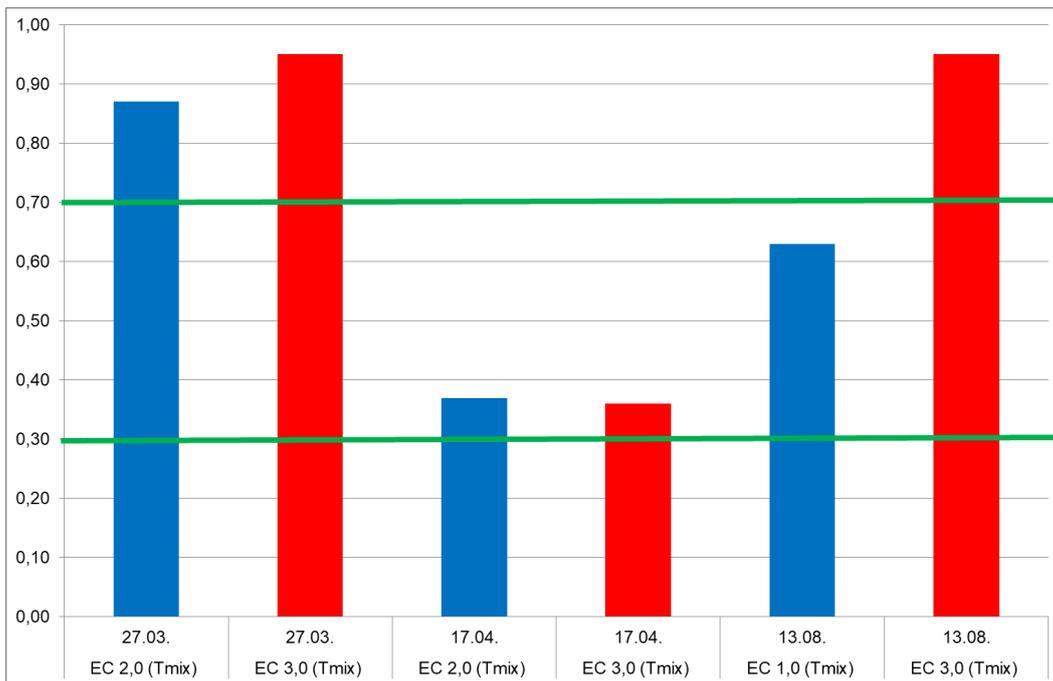


Abb. 25: Ertragszusammenfassung Mangelversuch 2. Satz

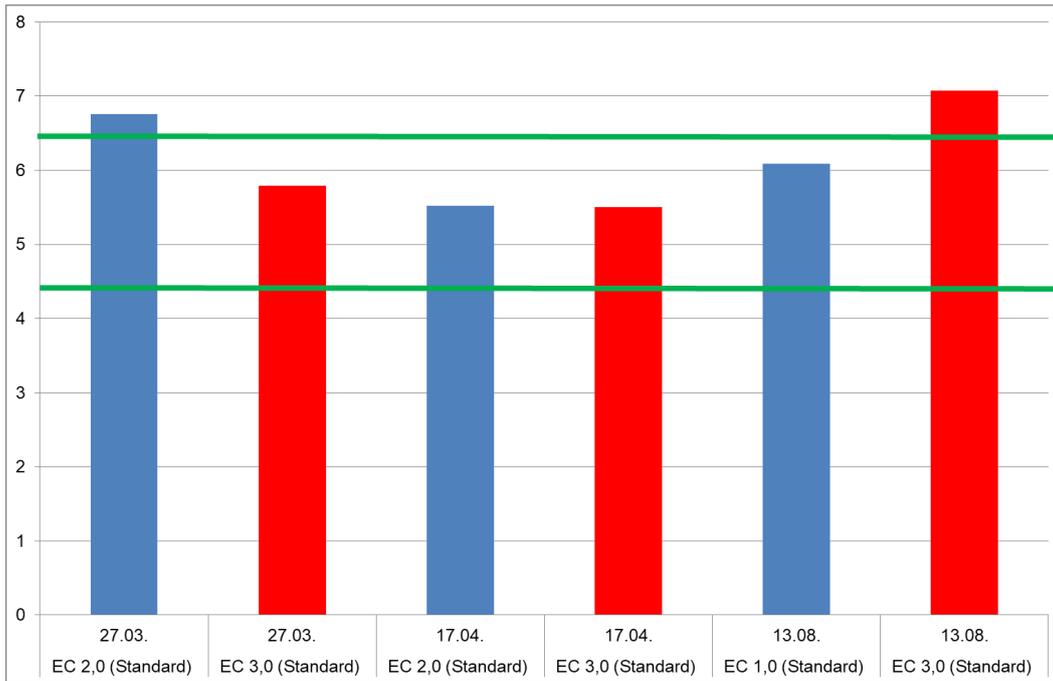
Um den Versorgungsgrad mit Nährstoffen beurteilen zu können wurden Blätter der Variante Tmix (Standard und Mangel) und der unbehandelten Varianten (Standard und Mangel) zur Analyse an ein Labor der Eurofins Agraranalytik Deutschland GmbH eingeschickt. Das Unternehmen bietet, aufgrund der Ergebnisse einer Blattanalyse, eine Einschätzung des Ernährungszustandes der Kultur an. Der aktuelle Ernährungszustand wird dabei mit Hilfe von Gehaltsklassen eingeschätzt (A: Mangel; B: leicht unterversorgt; C: ausreichend; D: leicht überversorgt; E: Überschuss). Laut Anbieter beziehen sich die Referenzwerte auf Versuchsergebnisse des Land- und Forstwirtschaftlichen Versuchszentrums Laimburg in Auer (Italien). Abb. 26 bis 29 zeigen die Analyseergebnisse beispielhaft für Phosphat und Stickstoff. Die Probenahmetermine am 27.03. bzw. am 13.08. lagen vor Erntebeginn. Der Probenahmetermin am 17.04. mit den niedrigsten Nährstoffgehalten befand sich in der Vollertragsphase. Insgesamt gab es keine Anhaltspunkte einer verbesserten Nährstoffverfügbarkeit verursacht durch den Bodenhilfsstoff Tmix.



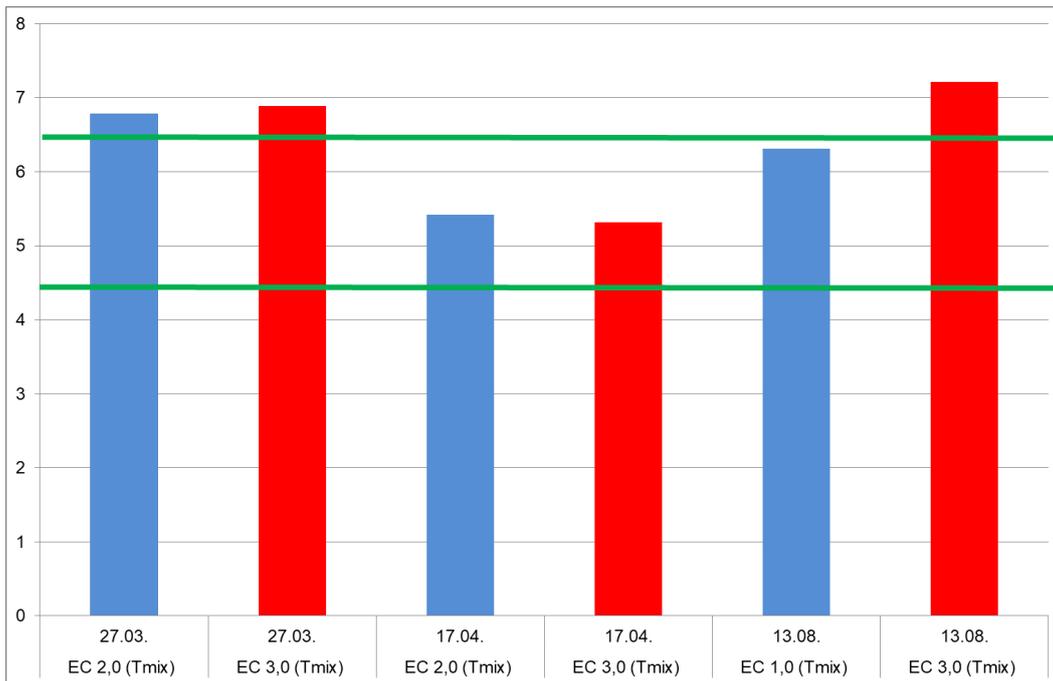
**Abb. 26:** Phosphor (P) Standardvariante; Gehaltsklasse C (ausreichend, anzustreben): 0,3 bis 0,7 Massen% TS an drei Terminen



**Abb. 27:** Phosphor (P) Tmix Variante; Gehaltsklasse C (ausreichend, anzustreben): 0,3 bis 0,7 Massen% TS an drei Terminen



**Abb. 28:** Stickstoff (N) Standard; Gehaltsklasse C (ausreichend, anzustreben): 4,5 bis 6,5 Massen% TS an drei Terminen



**Abb. 29:** Stickstoff (N) Tmix Variante Gehaltsklasse C (ausreichend, anzustreben): 4,5 bis 6,5 Massen% TS an drei Terminen

### 3.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der gartenbaulichen Versuche in Bamberg

Die Ergebnisse der Anbauversuche in Bamberg lassen zusammenfassend folgende Aussagen zu:

Weniger Pflanzenschutz und gesündere Pflanzen durch das Beleben des organischen Substrates (antiphytopathogenes Potential) ist durch eine Optimierung des erdelosen Anbauverfahrens unter Glas grundsätzlich möglich.

Mikrobiologische Bodenhilfsstoffe erzielen keinen ertragssteigernden Effekt, wenn sich Klimaführung und Bewässerung im optimalen Bereich bewegen.

Der Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen zeigte positive Wirkungen, wenn es phytopathologische Probleme insbesondere durch bodenbürtige Pathogene gab. Die Ergebnisse der gartenbaulichen Versuche in Bamberg der Jahre 2016 und 2017 zeigen Möglichkeiten der Stärkung des antiphytopathogenen Potentials durch den Einsatz von mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen im Substrat auf.

Pathogene Keime im Substrat, u.a. die Verursacher der Fusariumwelke und der Wurzelfäule oder Schwarzbeinigkeit, können zielgerichtet durch Zuführung von antagonistisch wirkenden Pilzen der Gattungen *Trichoderma* aus der Rhizosphäre verdrängt werden. Dies kann den Einsatz von rückstandsrelevanten Pflanzenschutzmitteln ersetzen.

Es sollten im Rahmen der gartenbaulichen Versuche in Bamberg Möglichkeiten aufgezeigt werden, inwieweit es möglich ist, die Ressource Dünger einzusparen. Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche, erbrachten keine Ergebnisse, dass durch den Einsatz von mikrobiellen Bodenhilfsstoffen die Nährstoffversorgung effizienter wird.

Ein rückstandsreduzierter Anbau, das heißt ein Verzicht auf rückstandsrelevante chemische Pflanzenschutzmittel im erdelosen Fruchtgemüseanbau ist nur möglich, wenn Pflanzenschutz vorbeugend eingesetzt wird. Dies erfordert einen erhöhten Arbeitszeitaufwand und Betriebsmitteleinsatz. Weiterhin bedarf es einer optimalen Klimaführung und Bewässerungs- und Düngestrategie.

Jedes Substrat, ob organisch oder mineralisch, fordert eine angepasste Dünge- und Bewässerungsstrategie. Bei der Wahl des geeigneten Substrates ist es erforderlich, die substratspezifischen Eigenschaften zu kennen. Anorganische Substrate sind vollkommen inert und steril. Organische Substrate besitzen ein spezifisches mikrobielles Innenleben und weisen Wechselwirkungen mit der Pflanze bzw. mit dem Bewässerungswasser auf.

## 4. Biologische Untersuchungen am Fachzentrum Analytik Veitshöchheim

Die verschiedenen Varianten im Gemüsebaubetrieb Bamberg wurden durch umfangreiche mikrobiologische Untersuchungen begleitet, um Einblick in das Geschehen, das durch den Zusatz der Mikroorganismen in die Substrate bewirkt wird, zu erlangen und deren Wirkmechanismen verstehen zu lernen.

## 4.1. Material und Methoden

Die Arbeiten im Labor erfolgten grundsätzlich unter sterilen Bedingungen. Alle flüssigen Medien und Lösungen wurden autoklaviert (121°C, 20min). Die Arbeitsmittel wurden autoklaviert (121°C, 20min), trocken sterilisiert (200°C, 4h), oder mit EtOH bzw. Helipur H plus N 2% (B. Braun Medical AG, CH Sempach) desinfiziert und mit UV-Licht bestrahlt. Die Oberflächen wurden vor und nach der Arbeit mit EtOH bzw. Hexaquart forte 0,5 % (B. Braun Medical AG, CH Sempach) desinfiziert und mit UV-Licht bestrahlt, die Hände regelmäßig gewaschen und mit Sterillium (Paul Hartmann AG, Heidenheim) desinfiziert. Die Keime sämtlicher anfallenden Abfälle mussten vor der Entsorgung im Autoklaven abgetötet werden (122°C, 30 min).

Wenn nicht anders angegeben, wurde stets vollentsalztes Wasser (H<sub>2</sub>O entmin.) verwendet.

Alle entnommenen Substratproben bewahrten wir bis zur Untersuchung bei -20°C auf. Die im Laufe der Untersuchungen gewonnenen Bakterien- und Pilz-Isolate lagerten wir während der Projektlaufzeit bei 4°C. Um die Bakterien-Isolate für eine spätere Verwendung dauerhaft zu konservieren wurden sie in Glycerinlösung bei -20°C eingefroren. Die Isolate sollen in die bestehende Stammsammlung eingepflegt werden.

In der Regel verwendeten wir ein gängiges festes Nährmedium zur Bakterienkultivierung (Gela) sowie eines zur Kultivierung von Pilzen (MA).

Damit die Bakterien und Pilze aus den Substratproben getrennt voneinander betrachtet werden konnten, setzten wir dem MA die Antibiotika Penicillin (Serva, Heidelberg) und Streptomycinsulfat (Fluka/Sigma-Aldrich, Steinheim) mit einer Arbeitskonzentration von 10 µg/ml zu. Dadurch wurden im „Pilzmedium“ die Bakterien unterdrückt, sodass auf dem MA mit Antibiotika (MAPS) nur die Pilze wachsen konnten.

Gela-Platten wurden bei 30°C, MA- und MAPS-Platten bei 25°C im Brutschrank inkubiert.

### 4.1.1. Probenaufbereitung Bioaktivatoren und Substratproben

Für die mikrobiologischen Untersuchungen mussten die potentiellen Bioaktivatoren ebenso wie die Substratproben entsprechend vorbereitet werden.

#### 4.1.1.1. Bioaktivatoren

Bioaktivatoren sind kommerziell hergestellte Präparate, welche Mikroorganismen enthalten, die in der natürlichen Mikroflora des Bodens vorkommen und die die Fitness von Pflanzen verbessern können. Verschiedene BA werden im Fachhandel angeboten und, mit dem Ziel synthetische Pflanzenschutzmittel zu vermeiden, im professionellen Gartenbau weit verbreitet eingesetzt. Um den Nutzen dieser potentiell bioaktiven Präparate beurteilen zu können, wurden sie zunächst für die Überprüfung der darin enthaltenen Bakterien und Pilze vorbereitet.

Zum Einsatz kamen die in der folgenden Tabelle aufgeführten Bioaktivatoren.

Tab. 17: Verwendete Bioaktivatoren und ihre Zusammensetzung

Präparat	Hersteller	KBE/g	MO Zusammensetzung laut Hersteller	Bemerkungen	Bezeichnung
Bactiva (BA-1a)	Bactiva GmbH, Straelen	10 <sup>8</sup> (Pilze) 10 <sup>8</sup> (Bakterien)	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>	Die BA Bactiva und Endodrip sind vom selben Hersteller und werden nacheinander angewendet	BA-1
			<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. megaterium</i>		
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
Endo Drip (BA-1b)	Bactiva GmbH, Straelen	3 x 10 <sup>6</sup> (Pilze) 2 x 10 <sup>9</sup> (Bakterien) 200 Endomykorrhizasporien/g	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>		
			<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. megaterium</i>		
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
			<i>Azospirillum brasilense</i>		
			<i>Azotobacter chroococcum</i>		
			<i>Glomus intraradices</i>		
Tmix	Intrachem Bio Deutschland GmbH&Co KG, Bad Camberg	k. A.	<i>Trichoderma harzianum</i>		BA-2
			<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		
			<i>Pseudomonas trivialis</i>		
			<i>Streptomyces</i> spp.		
			symbiontische Endomykorrhiza		
TH Promotor	Koppert Deutschland GmbH, Straelen	k. A.	<i>Trichoderma</i>	TH Promotor ist der mikrobiologische Teil eines Systems aus mehreren Komponenten	BA-3

Für die quantitative und qualitative Untersuchung der BA auf Bakterien und Pilze wurde von jedem BA 0,1 g in 10 ml steriler NaCl-Lösung (0,85 %) eingewogen (Verdünnung 10<sup>-2</sup>). Ausgehend von dieser Konzentration (10 µg/ml) wurden weitere Verdünnungsstufen in 10er-Schritten angesetzt (Abb. 30):

Bactiva, Endodrip, TH Promotor 10<sup>-3</sup>; 10<sup>-4</sup>; 10<sup>-5</sup>; 10<sup>-6</sup>  
Tmix 10<sup>-2</sup>; 10<sup>-3</sup>; 10<sup>-4</sup>

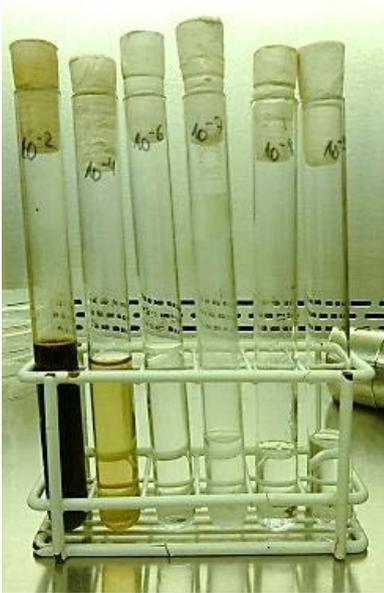


Abb. 30: Beispiel für eine Verdünnungsreihe



Abb. 31: Siebkombination mit drei unterschiedlichen Maschenweiten

Von den BA, die laut Herstellerangaben Endomykorrhizasporen enthielten, wurde 1 g abgewogen und mit H<sub>2</sub>O entmin. suspendiert. Diese Suspension wurde zur Isolierung der Sporen zunächst über eine Siebkombination (Abb. 31) aufgetrennt und mit H<sub>2</sub>O entmin. gut gewaschen.

#### 4.1.1.2. Substrate

Im ressourcenschonenden erdelosen Fruchtgemüseanbau werden die Kulturen in einem geschlossenen Kreislauf bewirtschaftet, bei dem das Drainwasser aufgefangen und wieder verwendet wird. Um dies zu ermöglichen, wachsen die Pflanzen nicht im Boden, sondern in Substratsäcken, bei denen das überschüssige Drainwasser in Rinnen aufgefangen und in einem Reservoir gesammelt werden kann (Abb. 32)



Abb. 32: Substratsäcke mit Gurkenpflanzen in Gewächshausreihen mit automatischer Drainwasser-Rückführung

Es wurden Substrate aus unterschiedlichen Materialien eingesetzt und verglichen (Tab. 18).

Tab. 18: Eingesetzte Substratmatten

	<b>Bezeichnung</b>	<b>Vegetationsjahr</b>
Forteco Profit	Kokossubstratmatte mit einem Luftgehalt von 30 Vol%	2016
Forteco Power	Kokossubstratmatte mit einem Luftgehalt von 25 Vol%	2017 2018
Perlit	mineralisches Perlitsubstrat mit einem hohen Porenvolumen und einer guten Wasserspeicherung von bis zu 45 %	2017 2018
Jiffy Growbag	Kokossubstratmatte mit homogener Zusammensetzung geschichtet aus Kokosschalen- Chips und Kokosgrieß	2018

Desweiteren fanden noch verschiedene Pflanzwürfel Berücksichtigung (Tab. 19).

Tab. 19: Eingesetzte Pflanzwürfel

<b>Bezeichnung</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Vegetationsjahr</b>
Grodan Plantop delta	Steinwolle-Pflanzwürfel Die Steinwolle hält viel Feuchtigkeit, lässt aber gleichzeitig eine gute Durchlüftung des Wurzelwerks zu.	2016 2017 2018
Jiffy	Kokos-Pflanzwürfel	2016

Um die Entwicklung des Mikrobioms in den Substratmatten untersuchen zu können, wurden in regelmäßigen Abständen sterile Proben entnommen.

Dafür schnitten wir mit einem sterilen Skalpell jeweils direkt unter dem Pflanzloch in den zuvor desinfizierten Pflanzsack und entnehmen mit einem sterilen Probenspatel (SteriPlast, Bürkle GmbH, Bad Bellingen) die Probe (Abb.33).



Abb. 33: Probenahme mit sterilem Probenspatel aus dem Substratsack

Über die drei Vegetationsjahre wurden auf diese Weise insgesamt 585 Proben entnommen (Abb. 34).

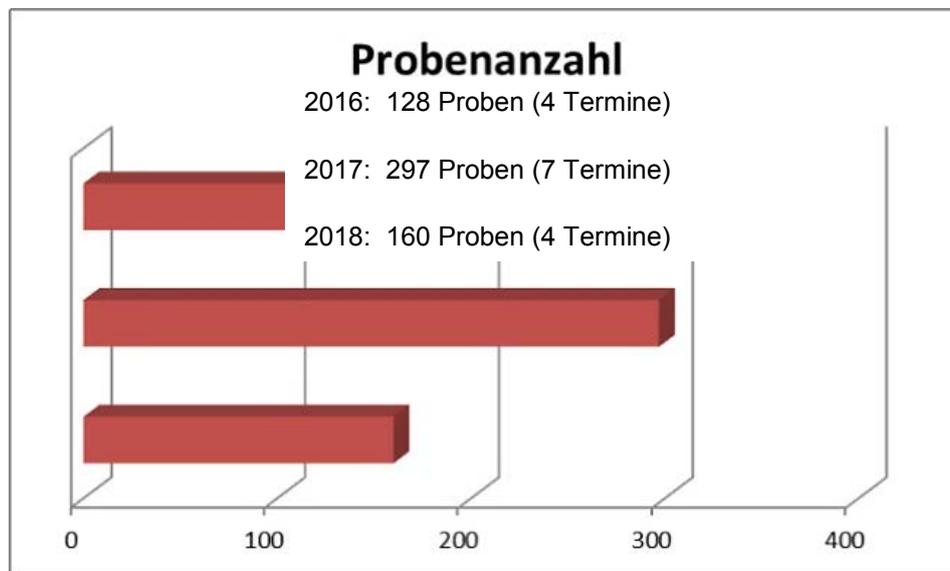


Abb. 34: Probennahmen über drei Vegetationsjahre

Die Proben aus organischen (Kokos) oder mineralischen (Perlit) Bestandteilen (Abb. 35) mussten für die weitere Bearbeitung zunächst homogenisiert werden. Dafür wurden die aufgetauten Proben in einen Mahlbecher mit einer Kugel gegeben, und in der Kugelmühle (MM301 Retsch, Haan) durch schnelles, horizontales Rütteln fein zerkleinert (Abb. 36 bis 38).



Abb. 35: Kokos- und Perlit-Substratprobe



Abb. 36: Mahlbecher mit Mahlkugeln



Abb.37: Kugelmühle mit eingespannten Mahlbechern



Abb. 38: Homogenisierte Kokos- und Perlit- Substratprobe

Für die quantitative und qualitative Untersuchung der Substratproben auf Bakterien und Pilze wurde von den homogenisierten Substratproben bei Kokos-Substrat jeweils 1 g bzw. bei Perlit-Substrat 1 ml in 9 ml steriler NaCl-Lösung (0,85 %) suspendiert (Verdünnung  $10^{-1}$ ) und davon Verdünnungsreihen in 10er-Schritten bis  $10^{-5}$  angesetzt.

Für die Untersuchung auf Endomykorrhizasporen wurden am Ende der Vegetationsperiode 2016 Wurzeln aus den Substratsäcken entnommen, gründlich gewaschen und mit Tinte gefärbt. (30 min KOH, 30 min HCL, 30 min Tinte, 30 min Essigsäure).



Abb. 39: Wurzelballen aus einem Substratsack



Abb. 40: gewaschene Wurzeln



Abb.41: gefärbte Wurzeln

#### 4.1.2. Mikrobiologische Untersuchungen

Die mikrobiologischen Untersuchungen teilten sich in die Diagnose der Bakterien und Pilze durch Kultivierung mit geeigneten festen Nährmedien auf. Anschließend erfolgte die quantitative und qualitative Bestimmung der Isolate sowie die mikroskopische Ermittlung der Mykorrhizasporen.

##### 4.1.2.1. Bakterien und Pilze

Von den Verdünnungen der BA und der Substratproben wurden jeweils 50  $\mu$ l mit dem Spiralplater WASP2 (meintrup dws laborgeräte) auf Nährmedienplatten für Bakterien und Pilze ausplattiert (Abb. 42).



Abb. 42: Spiralplater WASP2 (meintrup dws laborgeräte)

Nach einer Inkubationszeit von zwei Tagen wurde die Lebendkeimzahl pro Bakterienplatte ausgezählt (Abb. 43) und in KBE/g für BA und Kokos-Substrat bzw. KBE/ml für Perlit-Substrat berechnet.

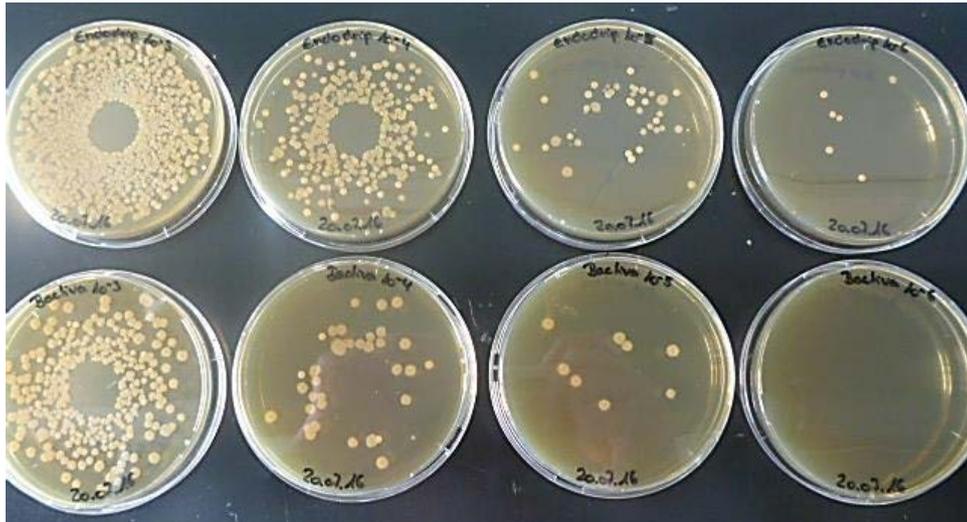


Abb. 43: Beispiele für Verdünnungsstufen zur Auszählung, inkubiert auf MA

Im nächsten Schritt wurden für die Charakterisierung der in den Proben enthaltenen Bakterien jeweils 50 einzelne Kolonien aus einer Verdünnung auf Nährmedien-Platten mit Rastereinteilung übertragen und wieder für zwei Tage inkubiert (Abb. 44).

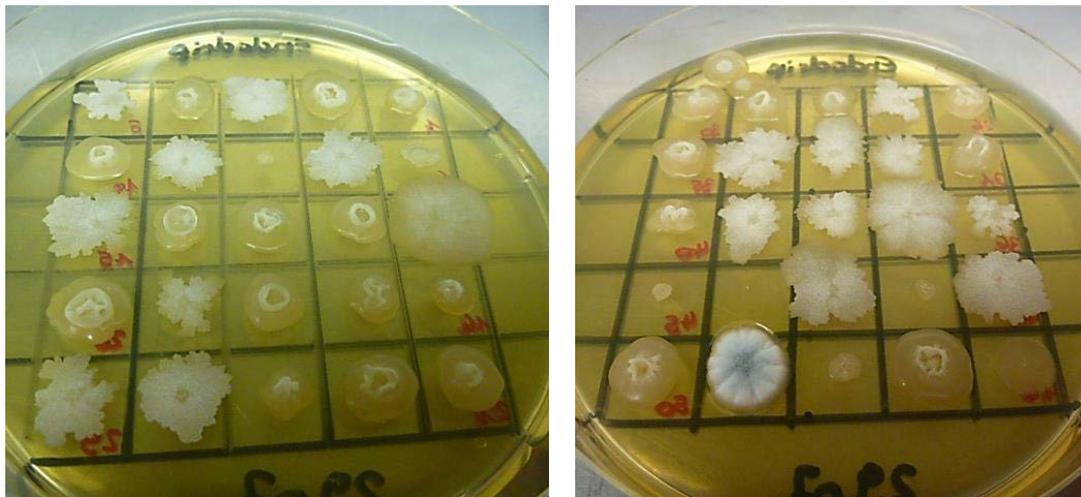


Abb. 44: Beispiel für isolierte Kolonien auf Nährmedien mit Rastereinteilung

Die unterschiedlichen Kolonien wurden anschließend einzeln auf frische Nährmedien-Platten übertragen und inkubiert, um sie morphologisch und anhand ihres Gramverhaltens differenzieren zu können.

Um die Pilzkolonien zu differenzieren wurden direkt von den Platten der inkubierten Verdünnungsreihen alle potentiellen *Trichoderma* spp. auf neue Nährmedienplatten isoliert und diese dann mindestens zwei weitere Tage inkubiert. Diese Reinkulturen wurden ebenfalls morphologisch beschrieben.

Die ausgewählten Bakterien- und Pilz-Kolonien wurden für die Sequenzierung vorbereitet. Die DNA haben wir für die Bakterien nach der alkalischen SDS-Extraktion (Švec, 2010) und für die Pilze nach der CTAB-Methode extrahiert. Die PCR führten wir anschließend für

beide mit der gleichen DNA-Polymerase (KAPA3G™ Plant PCR-Kit, Peqlab) und den Primern 27f und 1492r für die Bakterien und ITS1-F und ITS4 für die Pilze durch.

Die Sequenzanalyse des 16S-rRNA-Gens ist eine universell einsetzbare Technologie für die Identifikation von Bakterien (Keller, 2010). Standard-Primerpaar für die PCR zur Unterscheidung von Pilzen ist ITS1 mit ITS4 (White, 1990).

Um ein möglichst breites Spektrum an Bakterien und Pilzen abzudecken, haben wir diese Methoden gewählt, in denen die PCR zunächst für alle Isolate mit den gleichen Primern (s.o.) durchgeführt wurde. Da etliche MO aus derselben Gattung stammten, war es mitunter schwierig, die Spezies exakt zu differenzieren, da sie sich in der sequenzierten Region wenig bis gar nicht unterscheiden, je enger sie miteinander verwandt sind. Um auf Speziesebene eine genaue Differenzierung zu bekommen, müssten spezifische Primer eingesetzt werden.

Die DNA-Banden aus der Gel-Elektrophorese wurden mit einem Extraktions-Kit (QIAQuick Gel Extraction Kit, Qiagen) aufgereinigt und zur Sequenzierung an die Firma LGC in Berlin übersandt. Die Basenabfolge wurde mit der Sequenzdatenbank des NCBI abgeglichen und daraus die Spezies bestimmt.

#### 4.1.2.2. Mykorrhiza

Für die Isolierung von Mykorrhizasporen aus den BA haben wir die Rückstände der in der Siebkombination aufgetrennten Suspensionen aus den Sieben mit 125 und 45 µm Maschenweite mit H<sub>2</sub>O entmin. in Petrischalen gespült und mit dem Stereomikroskop (Leica M205C) mikroskopiert (Abb. 45). Die größeren Partikel wurden verworfen.

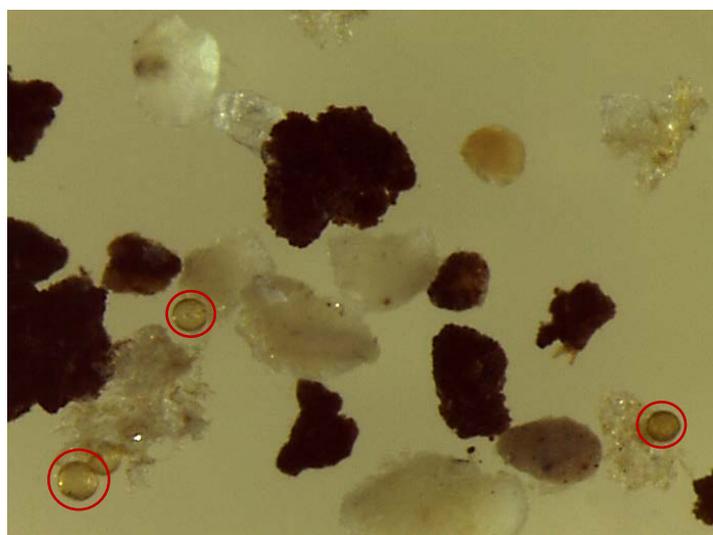


Abb. 45: Beispiel für Endomykorrhizasporen zwischen feinen Partikeln einer Präparat-suspension nach Auftrennung mit der Siebkombination (< 500 µm)

Anschließend wurde der Inhalt der Petrischalen in Zentrifugenröhrchen überführt und zentrifugiert um das Wasser zu entfernen. Nachdem das Wasser abdekantiert war, wurde das Pellet in 45 ml Saccharose-Lösung (70 %) resuspendiert und erneut zentrifugiert. Den Überstand, in dem die Sporen aufgrund ihrer geringeren Dichte enthalten sind, haben wir über ein Sieb mit einer Maschenweite von 45 µm abdekantiert. Den Rückstand im Sieb

überführten wir wieder in Petrischalen, wo wir die nun weiter aufgereinigten Sporen erneut mikroskopiert und gezählt haben (Abb. 46).

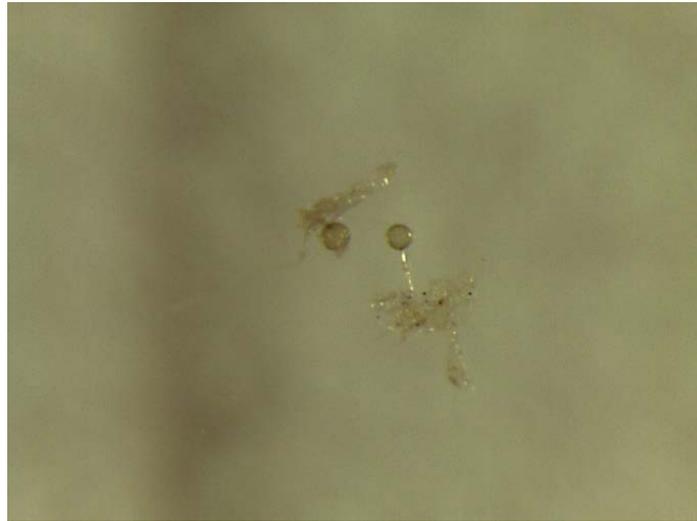


Abb. 46: Beispiel für Endomykorrhizasporen nach Aufreinigung durch Zuckergradientenzentrifugation ( $< 125 \mu\text{m}$ )

Die aus den Substraten gewonnenen und gefärbten Wurzeln wurden präpariert und mikroskopisch beurteilt (Abb. 47)



Abb. 47: Beispiele für Wurzelspitzenpräparate

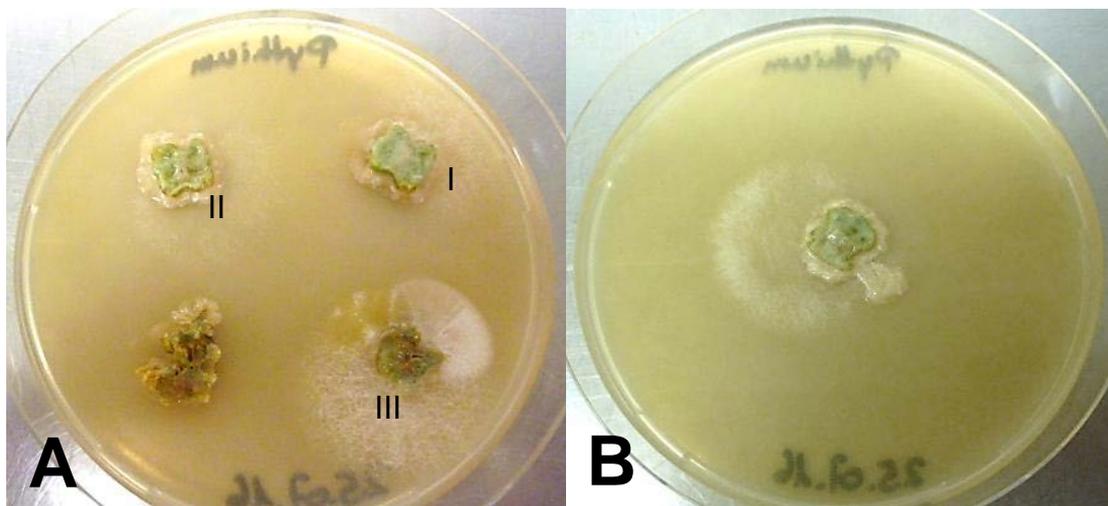
#### 4.1.3. Isolierung von Phytopathogenen aus infizierten Pflanzen

Für die Isolierung von phytopathogenen Mikroorganismen stellte uns ein Gemüsebaubetrieb infizierte Pflanzenteile zur Verfügung (Abb. 48).



**Abb. 48:** Unterer Stängelbereich mit Wurzeln von Gurkenpflanzen, die mit Phytopathogenen infiziert sind

Einen Stängel haben wir im infizierten Bereich von den Wurzeln und dem gesunden Teil getrennt, zur Oberflächensterilisation in Natriumhypochlorid-Lösung (1 %) gegeben und anschließend in sterilem H<sub>2</sub>O entmin. gewaschen. Mit einem sterilen Skalpell haben wir Scheiben aus mehreren Bereichen geschnitten, auf Gemüsesaftagar GS (200 ml/l Überstand Vitahaus Gemüsesaft Drink, 3 g/l CaCO<sub>3</sub>, 15 g/l Agar, pH 7,2) ausgelegt und drei Tage bei 25°C inkubiert (Abb. 49).



**Abb. 49:** Platte A und B mit Scheiben von befallenen Pflanzenstängeln, nach 3 Tagen Inkubation

Das entstandene feine weiße Mycel wurde mit einer sterilen Impfnadel auf GS und Möhrenschnitzelagar MS (100 g/l Möhrenschnitzel, 18 g/l Agar, pH 6,5 bis 7) überimpft (PAI; PAII, PAIII und PB) und mehrere Tage bei 25°C inkubiert. Die so gewonnenen Reinkulturen wurden zur Identifizierung nach der in 4.1.2.1 beschriebenen Methode für Pilze sequenziert.

#### 4.1.4. Wechselwirkungen der Bakterien und Pilze untereinander und auf Phytopathogene

In den BA kommen unterschiedliche Mikroorganismen zum Einsatz. Neben der Eigenschaft, durch ihren Stoffwechsel Nährstoffe für die Pflanzen besser verfügbar zu machen, weisen sie auch eine antiphytopathogene Potenz auf. Dies wurde in mehreren sogenannten „Hemmhoftests“ überprüft.

Aus den BA konnten unterschiedliche Bakterien isoliert werden, darunter verschiedene *Bacillus* spp. Da von ihnen bekannt ist, dass einige Arten (insbesondere *B. amyloliquefaciens*) antibiotische Wirkung haben, wurden sie in vitro zunächst dem ebenfalls aus BA isolierten Pilz *Trichoderma* gegenübergestellt.

Die Isolate der ausgewählten Mikroorganismen (Tab. 20) haben wir auf Nährmedienplatten ausgestrichen um sie aus der aktiven Wachstumsphase heraus verwenden zu können. Von diesen frischen Kulturen wurden Nährmedienplatten (MA) zentral mit dem Pilz *Trichoderma harzianum* beimpft. Die Bakterien wurden um diese Impfstelle herum auf die Platten übertragen um mögliche Wechselwirkungen der MO in den BA untereinander zu beurteilen. Die so beimpften Nährmedienplatten inkubierten wir mehrere Tage bei 25°C.

Tab. 20: Mikroorganismen aus BA, isoliert

	<b>Isolat</b>	<b>Spezies</b>
1	Tmix2Gela	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
2	Tmix31Gela	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>
3	Endo1Gela	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
4	Endo4Gela	<i>Bacillus pumilus</i>
5	Endo11Gela	<i>Bacillus licheniformis</i>
6	Bac1Gela	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
7	TH1MA	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
A	THI	<i>Trichoderma harzianum</i>

Nach demselben Verfahren wurden auch die Wechselwirkungen der isolierten Bakterien mit den Phytopathogenen *Pythium ultimum* (DSMZ 62987) bzw. *Fusarium oxysporum* (Isolat PAI, s. 4.1.3.) beobachtet.

Um die antiphytopathogene Potenz der BA zu beurteilen, stellten wir dem Phytopathogen *Fusarium* (Isolate PAI und PAII, s. 4.1.3.) seinen Antagonisten aus den BA (*Trichoderma*) gegenüber. Dafür verwendeten wir jeweils ein Isolat aus BA-2 und BA-3 (Tab. 21). Die Reinkulturen der ausgewählten Mikroorganismen wurden wiederum zunächst auf Nährmedienplatten (MA) überimpft. Von diesen haben wir dann die *Trichoderma* sp. auf eine

Seite der Nährmedien für die Untersuchung übertragen. Auf der gegenüberliegenden Seite wurden die *Fusarium* spp. angeimpft. Die so beimpften Nährmedien sind wieder mehrere Tage bei 25°C inkubiert worden.

Tab. 21: Mikroorganismen aus BA und infiziertem Pflanzenmaterial, isoliert

	Isolat	Spezies
1	Tmix II	<i>Trichoderma atroviride</i>
2	THI	<i>Trichoderma harzianum</i>
3	PAI	<i>Fusarium oxysporum</i>
4	PAII	<i>Fusarium</i> sp.

Aus den Substraten konnten hauptsächlich Bakterien der Gattungen *Bacillus* und *Streptomyces* isoliert werden (Tab. 22). Auch von ihnen wurden die Wechselwirkungen mit *Trichoderma* und dem Phytopathogen *Fusarium* in „Hemmhoftests“ überprüft und die beimpften Nährmedienplatten ebenfalls mehrere Tage bei 25°C inkubiert.

Tab. 22: Mikroorganismen aus Substraten, isoliert

	Isolat	Spezies
8	PN4 8224 28	<i>Streptomyces</i> sp
9	SV1 7211 22	<i>Streptomyces griseoaurantiacus</i>
10	PN1 8122 7	<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>
11	17PN3 7112 01	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
12	17PN6 7211 09	<i>Bacillus subtilis</i>
13	PN1 7224 50	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
14	17PN6 7211 49	<i>Bacillus licheniformis</i>
A	TH I	<i>Trichoderma harzianum</i>
B	PA I	<i>Fusarium oxysporum</i>

#### 4.1.5. Stresstest

Neben einer verbesserten Nährstoffverfügbarkeit und Nährstoffaufnahme werden die Bioaktivatoren mit einer erhöhten Stresstoleranz der Pflanzen gegenüber biotischem und abiotischem Stress durch eine Stärkung der pflanzeigenen Widerstandskräfte beworben. Darum sollten die Pflanzen neben abiotischem Stress wie Trockenheit und Hitze auch biotischem Stress ausgesetzt werden. Da sich in den optimal geführten Gewächshäusern von alleine keine phytopathogenen Organismen ansiedelten, wurden diese gezielt zugeführt. Um die Pflanzen mit pathogenen Organismen zu infizieren, wurden *Pythium ultimum* (62987 DSMZ, Braunschweig) und das aus infizierten Pflanzen isolierte *Fusarium oxysporum* (Isolat PAI s. 4.1.3) im Labor kultiviert und bestimmten Pflanzen zugegeben. In einer weiteren Variante wurde infiziertes Pflanzenmaterial direkt in die Substratsäcke gemischt.

#### 4.1.5.1. Herstellung des Inokulats als Auslöser für biotischen Stress

Der Stresstest mit Phytopathogenen wurde 2016 zunächst in einem Tastversuch durchgeführt. Hierfür wurde *Pythium ultimum* (DSMZ 62987) von der Originalplatte auf verschiedene Agarplatten (MA, MS, GS) übertragen. Diese wurden bei 25°C inkubiert bis die Platten gleichmäßig und vollständig bewachsen waren.

Für die Herstellung des Inokulats wurden aus den mit *Pythium ultimum* bewachsenen Agarplatten Würfel ausgeschnitten, in mehrere Erlenmeyerkolben mit steriler Hirse-Wasser-Suspension (1:20) verteilt und dann mehrere Tage bei RT auf Magnetrührern inkubiert.

Im Vegetationsjahr 2017 wurden von allen Varianten einige Kokos-Substrate im Exaktversuch mit Phytopathogenen infiziert.

Die Inokulation mit *Fusarium* fand bereits vor der Pflanzung statt. Hierfür wurden nach der oben beschriebenen Methode insgesamt zwei Liter aus dem Isolat PAI (*Fusarium oxysporum*) hergestellt (Abb. 50).

Die Inokulation mit *Pythium* erfolgte zum Zeitpunkt des Satzwechsels im Sommer. Hierfür kultivierten wir wieder *Pythium ultimum* (DSMZ 62987) analog der oben beschriebenen Methode (Abb. 51).

Die so hergestellten Suspensionen wurden jeweils vereinigt und auf die Pflanzwürfel verteilt (Abb. 52).



Abb. 50: Inokulat *Fusarium*

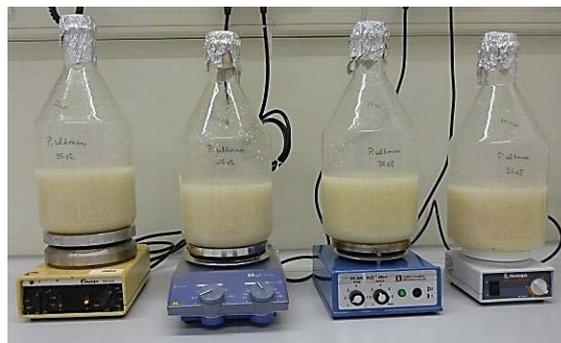


Abb. 51: Inokulat *Pythium*



Abb. 52: Inokulation mit Pipette

Bei allen im Labor hergestellten Inokulaten fand die Überprüfung der phytopathogenen Potenz jeweils mit einem Biotest statt, bei dem 5 ml des Inokulats auf Gurkensamen (Freilandgurke „Delikateß“) auf einem Rundfilter (Ø 90 mm, MN615, Macherey-Nagel, Düren) in Petrischalen gegeben wurden (Abb. 53). Als Kontrolle haben wir Gurkensamen mit Leitungswasser inkubiert. Nach einigen Tagen konnten die Keimfähigkeit der Gurkensamen und deren Entwicklungsstatus untereinander verglichen werden.

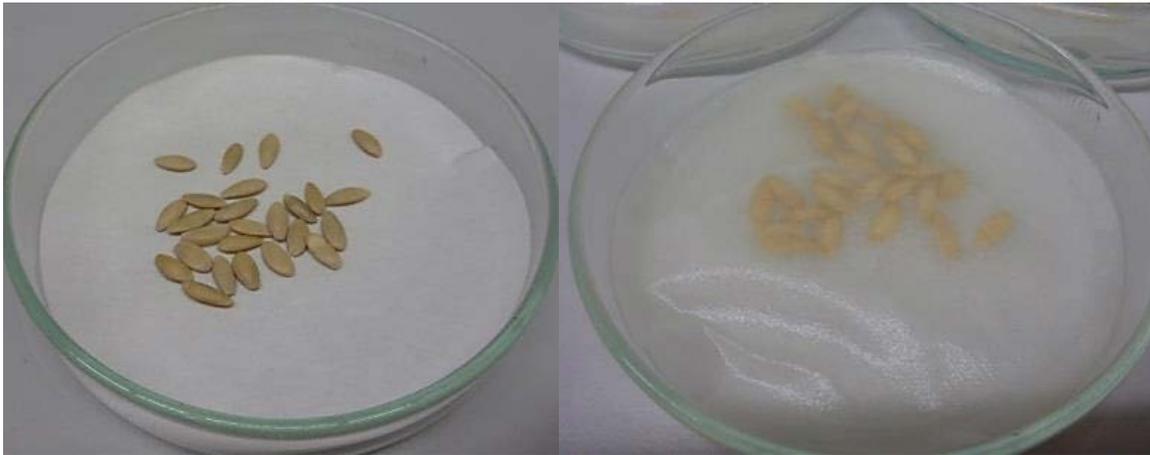


Abb. 53: Gurkensamen für Biotest

#### 4.1.5.2. Inokulat aus infiziertem Pflanzenmaterial

Um möglichst praxisnahe Verhältnisse zu erreichen, wurde zum Satzwechsel im Sommer 2017 auch ein Teil der Pflanzen mit infiziertem Pflanzenmaterial aus einem Praxisbetrieb inokuliert, indem das zerkleinerte Pflanzenmaterial noch vor dem Pflanztermin direkt in einen Teil der Kokos-Substrate eingemischt wurde (Abb. 54).



Abb. 54: Inokulation mit infiziertem Pflanzenmaterial

## 4.2. Ergebnisse

### 4.2.1. Mikrobiologische Untersuchungen

Wir befanden uns mit der Versuchsanordnung in den Gewächshäusern mikrobiologisch gesehen in einem offenen System, in dem es durch äußere Einflüsse (Pflanzwürfel, Substrat, Bewässerung, Personal) zum Eintragen fremder MO kommen konnte. Darum war auch immer damit zu rechnen, dass man bei der Auswertung der Substratproben zu abwei-

chenden Ergebnissen gelangt. Diese Ausreißer können nur mit einer entsprechend hohen Probenanzahl ausgeglichen werden. Dies war aufgrund des begrenzten Zeitrahmens nicht möglich. Dennoch sind interessante Tendenzen zu beobachten. Zunächst wurden die MO in den BA bestimmt. Im Anschluss daran konnten die Substrate untersucht werden.

#### 4.2.1.1. Keimzahlen von Bakterien und Pilze

Nach Auswertung der mikrobiologischen Untersuchungen der BA wurden folgende Keimzahlen ermittelt (Tab. 23):

Tab. 23: Keimzahlen der BA

Präparat	MW KBE/g	Herstellerangaben
Bactiva (BA-1a)	$7,9 \times 10^6$	$10^8$ (Pilze) $10^8$ (Bakterien)
Endodrip (BA-1b)	$7,6 \times 10^7$	$3 \times 10^6$ (Pilze) $2 \times 10^9$ (Bakterien)
Tmix (BA-2)	$6,6 \times 10^6$	k. A.
TH Promotor (BA-3)	$5,2 \times 10^6$	k. A.

Für die Berechnung der durchschnittlichen KBE/g berücksichtigten wir die Platten mit KBE von 20 bis 200. Die Zahlen stellen den Mittelwert der verfügbaren Werte aus den Verdünnungsstufen der verwendeten Medien dar. Sie liegen in einer vergleichbaren Größenordnung, allerdings unterhalb der verfügbaren Herstellerangaben. In BA-1b ist die Bakterienkeimzahl laut Hersteller um einen Faktor 10 höher als in BA-1a. Dies spiegelt sich auch bei unseren Bestimmungen in der höheren Keimzahl wider.

Bei BA-3 gestaltete sich das Auszählen schwierig, weil darin lediglich der Pilz *Trichoderma* enthalten war. Dieser hatte die Platten durch die ausgeprägte Mycelbildung so stark überwachsen, dass keine Einzelkolonien erkennbar waren. Lediglich bei der Verdünnungsstufe  $10^{-6}$  auf MA war ein Auszählen möglich. Daraus berechnete sich die KBE/g von  $5,2 \times 10^6$ .

Um die Entwicklung der Mikroorganismen in den Substraten beurteilen zu können, untersuchten wir Proben der drei Vegetationsjahre 2016, 2017 und 2018. Dadurch konnten Wachstumskurven erstellt und die Unterschiede der verschiedenen Varianten dargestellt werden.

In den Versuchsaufbau gingen folgende Varianten mit ein (Tab. 24):

Tab. 24: Übersicht Versuchsvarianten

Vegetations-jahr	Variante 1	Variante 2	Variante 3
2016	Bioaktivatoren: BA-1, BA-2, BA-3	Pflanzwürfel: Kokos, Steinwolle	
2017	Bioaktivatoren: BA-1, BA-2, BA-3	Substratmatten: Kokos (Forteco), Perlit	Inokulation: Fusarium, Pythium, Pflanzenmaterial
2018	Bioaktivator BA-2 Fungizide (Previcur® Energy bzw. Proplant)	Substratmatten: Kokos(Forteco, Jiffy), Perlit	

Obwohl für die Auswertung der Substratproben eine sehr große Probenanzahl notwendig ist, konnten bereits einige Erkenntnisse zur Ansiedelung der Bakterien gewonnen werden. Um diese jedoch abzusichern und zu untermauern ist eine deutlich größere Probenzahl notwendig.

Die Bestimmung der KBE der Pilze auf den MAPS-Platten war nicht möglich, da die Entwicklungszyklen der verschiedenen Pilzgattungen im Kokos-Substrat zu unterschiedlich waren. Es konnte kein geeigneter Zeitpunkt gefunden werden, an dem das Auszählen der Platten ein zuverlässiges Ergebnis geliefert hätte. Im Perlit-Substrat konnten sich auch nach einem längeren Zeitraum überhaupt keine Pilze ansiedeln.

### Vegetationsperiode 2016

Als Kultur wurden Tomaten der Sorte Mecano verwendet. Parallel zu den Varianten mit drei verschiedenen BA und einer Variante ohne Behandlung mit BA wurde jeweils auch die Pflanzenentwicklung auf Pflanzwürfeln aus Steinwolle bzw. Kokos beobachtet. Entsprechend diesem Versuchsaufbau haben wir die Substratproben der Varianten Steinwolle- und Kokos-Pflanzwürfel miteinander verglichen. Das verwendete Substrat war in allen Varianten gleich (Kokos-Substrat, Forteco). Die ersten Substratproben konnten nach einer Vegetationsdauer von sechs Monaten entnommen werden. Die weiteren Probenahmen erfolgten bis zum Kulturrende in einem Turnus von vier Wochen. Für die Bestimmung der Keimzahlen wurde von jeder Variante jeweils eine Probe von jedem der vier Termine bearbeitet.

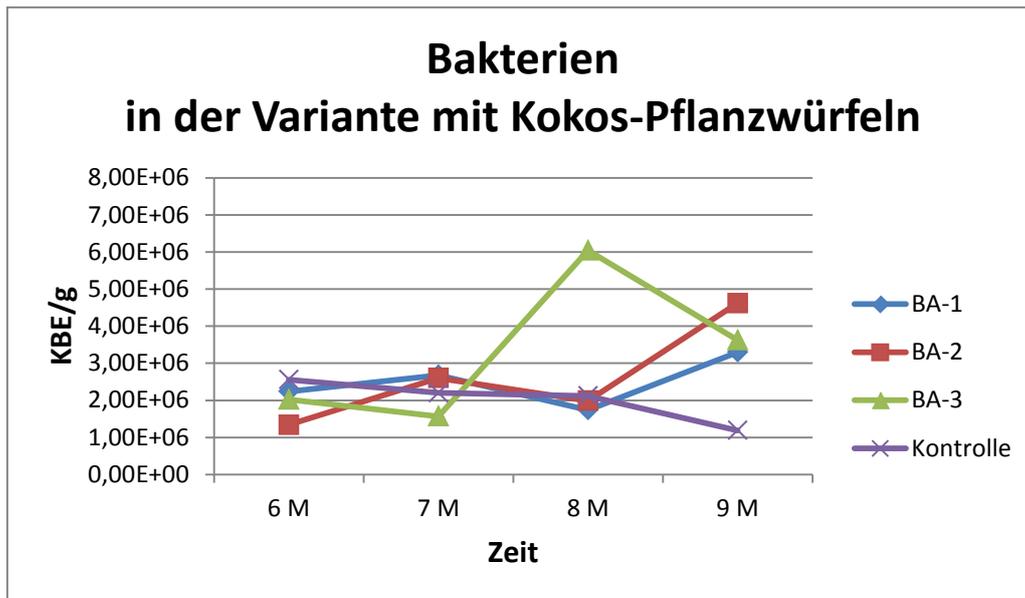


Abb. 55: Entwicklungsverlauf der Bakterien in den Varianten mit Kokos-Pflanzwürfeln über einen Zeitraum von drei Monaten, beginnend nach einer Kulturzeit von sechs Monaten.

Die Werte beruhen alle auf Einzelproben aus den Substratsäcken, dennoch ist zu erkennen, dass die KBE/g in den Substratproben die mit BA behandelt wurden, eine steigende Tendenz zeigen, während sie in der Kontrolle ohne BA-Zugabe abnehmen. Lediglich der Wert für BA-3 nach acht Monaten wird als Ausreißer betrachtet (Abb. 55).

In Abb. 56 sind die Werte für die Variante mit Steinwolle-Pflanzwürfeln dargestellt. Hier kann eine steigende Anzahl der KBE/g für BA-1 und BA-2 abgelesen werden. Die Werte von BA-3 und der Kontrolle ohne BA-Zugabe schwanken zu stark, sodass keine Aussage über einen Trend möglich ist.

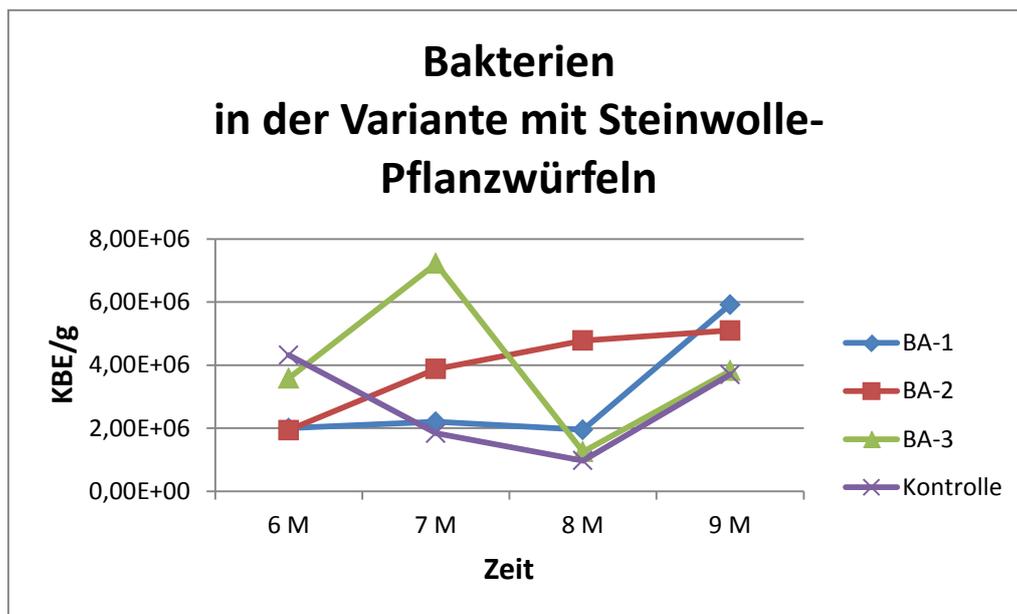


Abb. 56: Entwicklungsverlauf der Bakterien in den Varianten mit Steinwolle-Pflanzwürfeln über einen Zeitraum von drei Monaten, beginnend nach einer Kulturzeit von sechs Monaten

## Vegetationsperiode 2017

Im Gegensatz zum Vorjahr wurden im Jahr 2017 Gurken in zwei Sätzen angebaut (Sorte Prolog). Die BA und die Variante ohne Behandlung entsprachen denen aus dem Jahr 2016. Als Pflanzwürfel wurden nur Steinwolle-Pflanzwürfel verwendet. Allerdings kamen unterschiedliche Substratsäcke zum Einsatz (Kokos- und Perlit-Substrat). Zusätzlich wurden verschiedene Phytopathogene in die Kultur gebracht, um die Pflanzen biotischem Stress auszusetzen.

Die ersten Substratproben haben wir als Kontrollwert bereits vor Kulturbeginn entnommen. Von allen verfügbaren Varianten erfolgten die Probenahmen bis zum Kulturende in einem Turnus von vier Wochen. Für die Bestimmung der Keimzahlen wurden von jeder Variante jeweils ein bis drei Proben von jedem der Termine bearbeitet. Die Substratproben nach fünf Monaten konnten nicht bearbeitet werden.

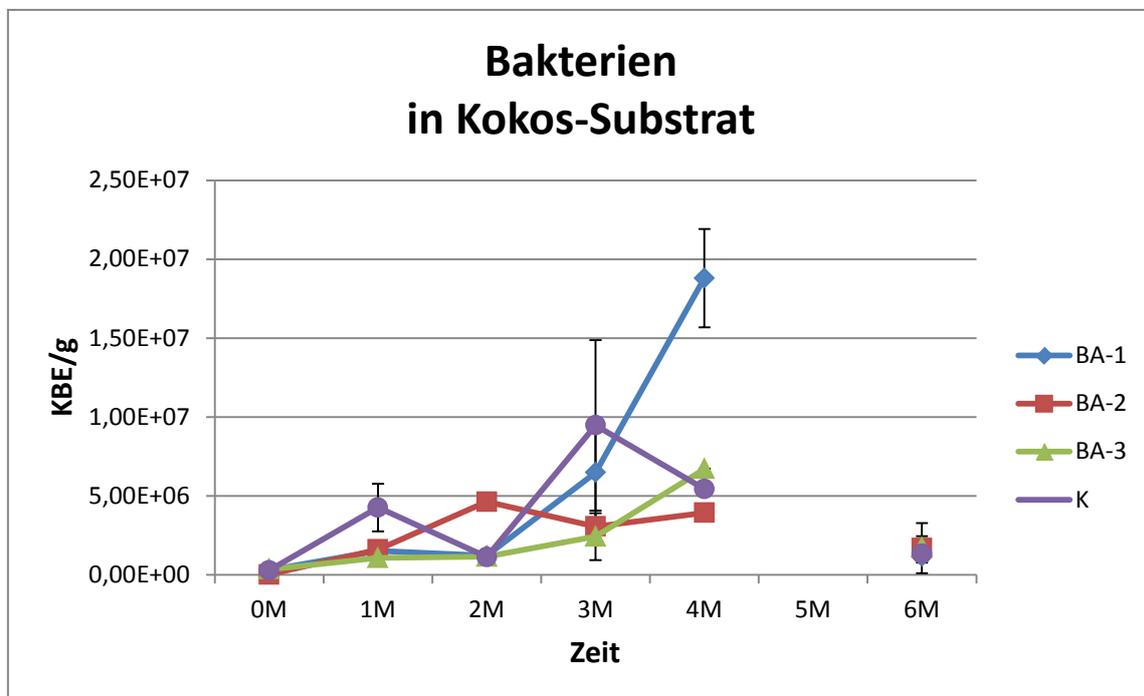


Abb. 57: Entwicklungsverlauf der Bakterien in den Varianten mit Kokos-Substratsäcken über einen Zeitraum von sechs Monaten, beginnend mit der ersten Probe vor Beginn der Kultur

Die Werte (Abb. 57) setzen sich aus Doppelbestimmungen für jeweils ein bis drei Proben zusammen.

Kokos-Substrat hat vor Versuchsbeginn bereits eine substratspezifische Mikroflora im Bereich von  $10^5$  KBE/g. Im Vergleich dazu können in 1 g Boden etwa  $10^8$  bis  $10^9$  Bakterien pro Gramm leben. Über den Zeitraum von vier Monaten ist bei allen mit BA behandelten Substratproben ein gewisser Anstieg der KBE/g zu erkennen. Die Werte für die Kontrolle ohne BA-Zugabe schwanken allerdings zu stark um wirklich aussagekräftig zu sein.

Nach sechs Monaten sind die KBE/g in allen Varianten deutlich gesunken. Dies kann dadurch begründet sein, dass sich die Bakterien bereits in der Absterbephase befanden

nachdem zur Auslösung von abiotischem Trockenstress die Bewässerung zeitweise gestoppt worden war und es dadurch zu einer höheren Salzkonzentration im Substrat kam.

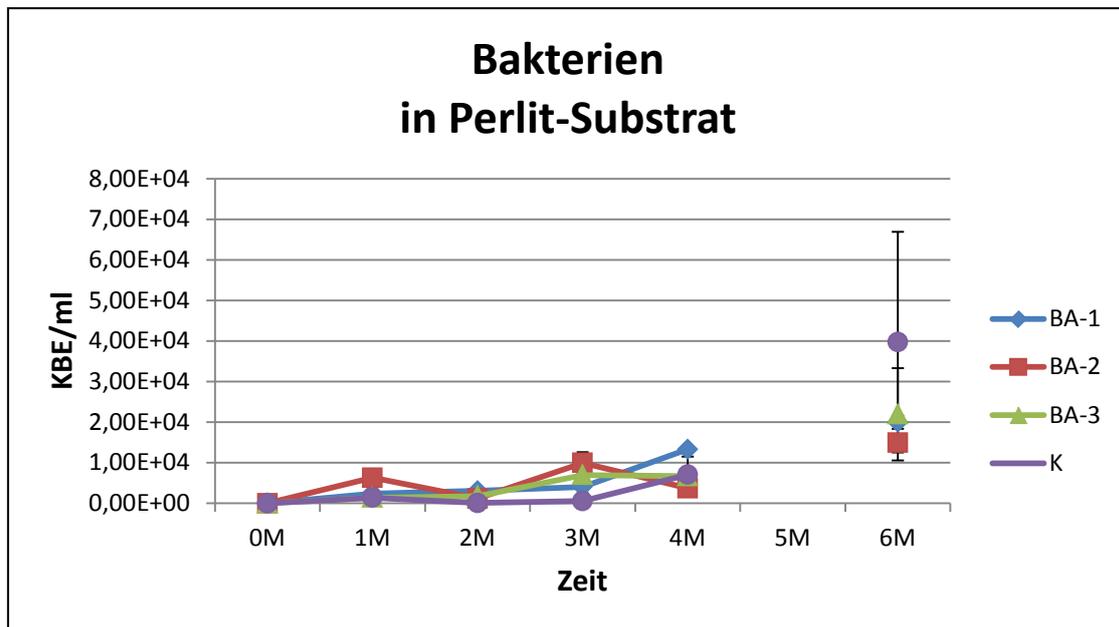


Abb. 58: Entwicklungsverlauf der Bakterien in den Varianten mit Perlit-Substratsäcken über einen Zeitraum von sechs Monaten, beginnend mit der ersten Probe vor Beginn der Kultur

Die Werte (Abb. 58) setzen sich ebenfalls aus Doppelbestimmungen für jeweils ein bis drei Proben zusammen.

Im Gegensatz zum Kokos-Substrat ist das Perlit-Substrat zu Beginn absolut keimfrei. Die Werte bewegen sich insgesamt um einen Faktor 1.000 niedriger als im Kokos-Substrat, da eine substratspezifische Mikroflora fehlt. Insgesamt ist wieder eine ansteigende Tendenz der Lebendkeimzahl im Substrat zu erkennen. Der hohe Wert für die Kontrolle ohne BA-Zugabe nach sechs Monaten setzt sich aus zwei völlig unterschiedlichen Werten zusammen. Weitere Proben zur Absicherung konnten nicht untersucht werden, da wegen Blattlausbefall in Haus 8 alle weiteren Pflanzen dieser Variante bereits geräumt waren.

### Vegetationsperiode 2018

Es wurden die konventionellen Anbauvarianten mit den chemischen Fungiziden Previcur Energy im ersten Satz und Proplant im zweiten Satz mit der rückstandsreduzierten Variante mit BA-2 verglichen. Wie im Vorjahr wurden Gurken in zwei Sätzen angebaut (erster Satz: Sorte Prolog, zweiter Satz: Sorte Climont). Als Varianten wurden zwei Kokos-Substrate (Forteco und Jiffy) und ein Perlit-Substrat verwendet. Die Varianten wurden vor Kulturbeginn, nach zwei Monaten, nach dem Satzwechsel und zum Kulturrende beprobt.

Um einen ersten Eindruck zu bekommen, wurden von jeder Variante je eine Probe vom Anfang und eine nach zwei Monaten ausgewertet (Abb. 59 und 60). Alle Ergebnisse stammen aus Doppelbestimmungen von Einzelproben.

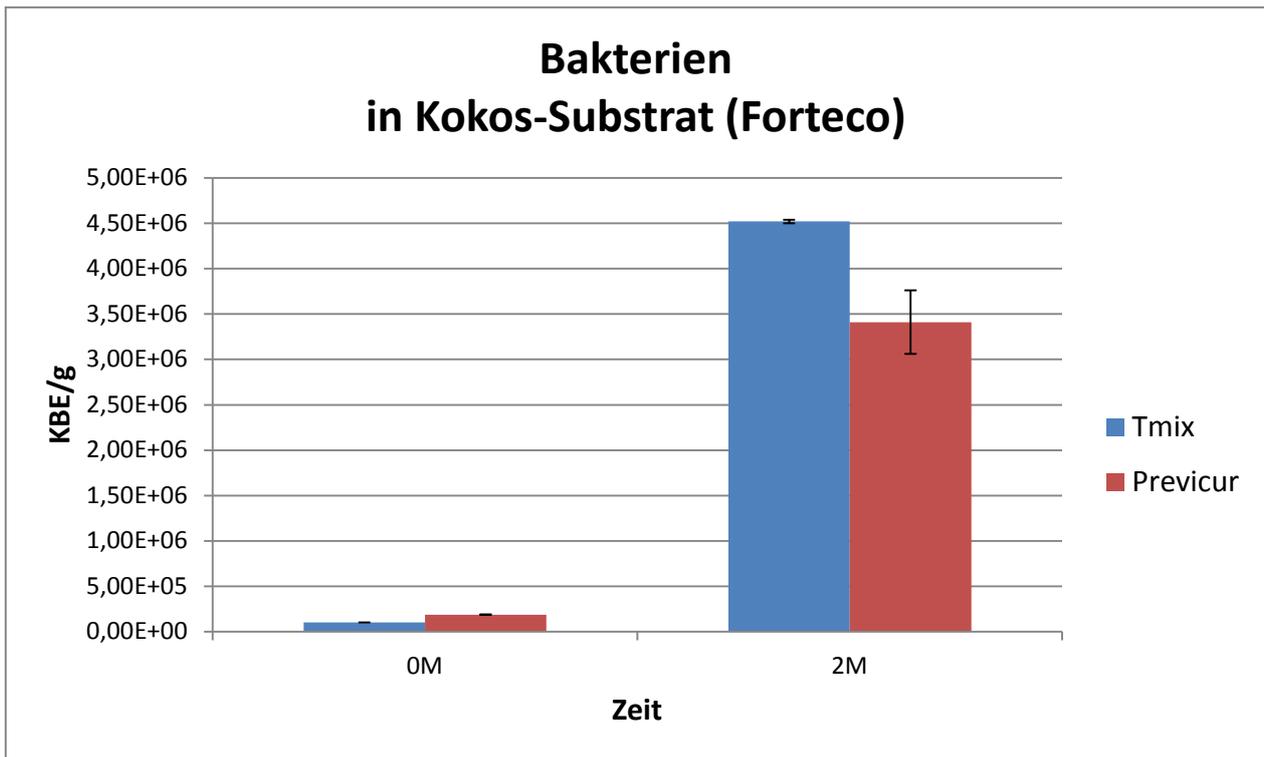


Abb. 59: Lebendkeimzahlen aus einer Kokos-Variante (Forteco) vor Versuchsbeginn und nach zwei Monaten

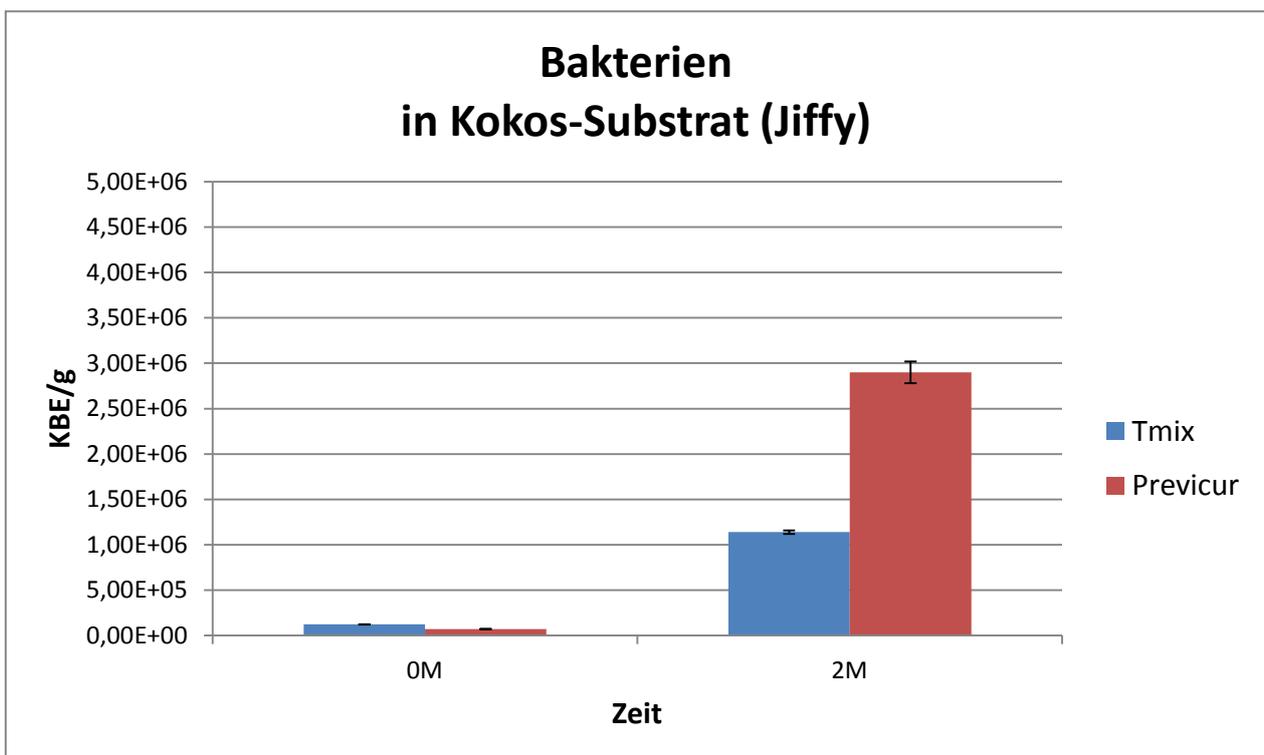


Abb. 60: Lebendkeimzahlen aus einer Kokos-Variante (Jiffy) vor Versuchsbeginn und nach zwei Monaten

Nach zwei Monaten ist eine deutliche Erhöhung der KBE/g erkennbar, wobei sie in Jiffy etwas geringer ausfällt. Über einen Einfluss von Previcur auf die substratspezifische Mikro-

flora kann noch keine Aussage getroffen werden. Hier wäre eine Untersuchung weiterer Proben erforderlich.

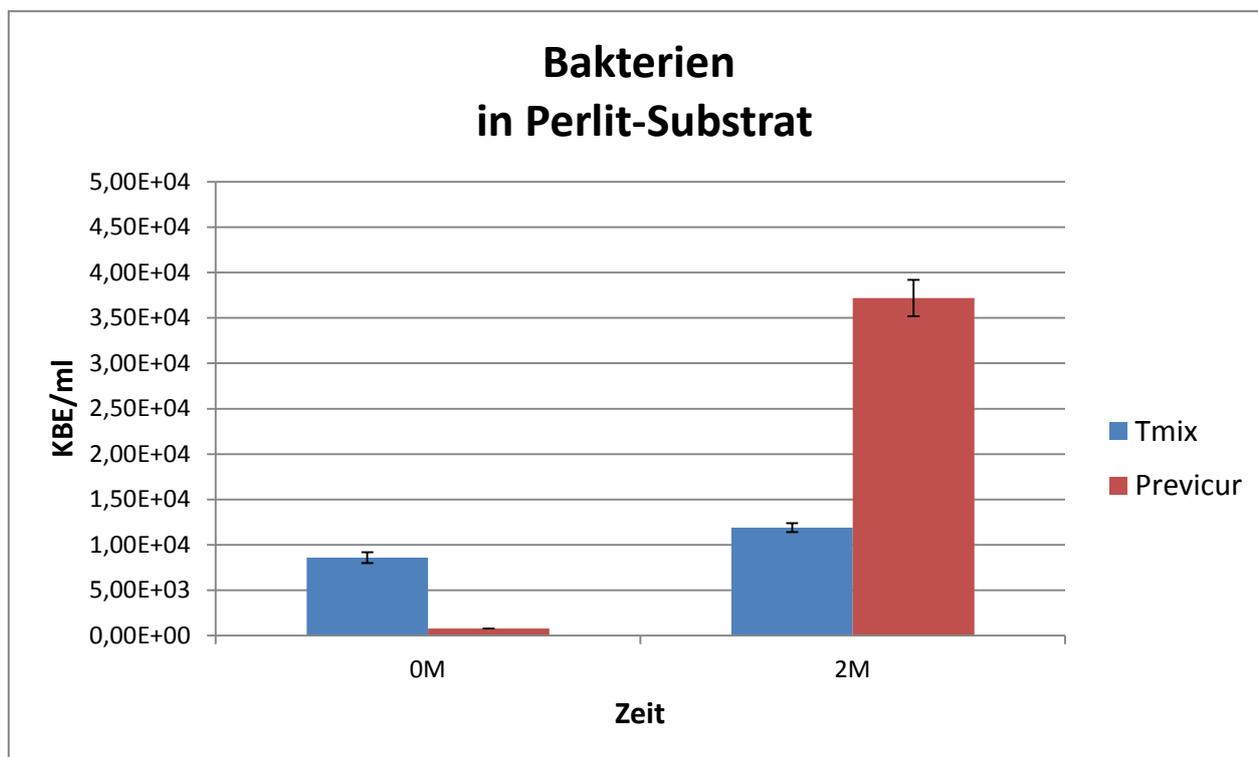


Abb. 61: Lebendkeimzahlen aus der Perlit-Variante vor Versuchsbeginn und nach zwei Monaten

Auch im Perlit-Substrat (Abb. 61) ist der Anstieg der KBE/ml über den Zeitraum von zwei Monaten in der Previcur-Variante deutlich zu sehen. Die Zahlen sind hier um einen Faktor  $10^2$  geringer als in den Kokos-Substraten.

Für aussagekräftigere Zahlen müssen weitere Proben bearbeitet werden.

#### 4.2.1.2. Gattungen der Bakterien und Pilze

Die Identifizierung der Mikroorganismen war auf Gattungsebene zuverlässig. Die Zuordnung der Isolate erfolgte aufgrund der Ergebnisse des Datenbankabgleichs und der beobachteten Morphologie. Die Sequenzen der Mikroorganismen einer Gattung sind im untersuchten Abschnitt oft identisch bzw. die Ergebnisse aus der Datenbank nicht immer eindeutig, weshalb eine gewisse Subjektivität bei der Zuordnung nicht auszuschließen ist. Die Ergebnisse sind somit als erste Trends zu betrachten. Für eine genauere Bewertung sind eine weitaus größere Probenanzahl und differenziertere Methoden notwendig.

Durch Isolierung und Differenzierung konnten mit den angewendeten Methoden einige der MO, die laut Herstellerangaben in den BA enthalten sind, nachgewiesen werden. Andere konnten hingegen nicht isoliert werden (Tab. 25).

Tab. 25: Nachgewiesene MO im Vergleich zu den Herstellerangaben

Präparat	MO Zusammensetzung laut Hersteller	nachgewiesene MO
Bactiva (BA-1a)	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. megaterium</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
Endo Drip (BA-1b)	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. reesei</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. virens</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. megaterium</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. licheniformis</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
	<i>Azospirillum brasilense</i>	
	<i>Azobacter chroococum</i>	
T-Mix (BA-2)	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Trichoderma atroviride</i>
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	<i>Pseudomonas trivialis</i>	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>
	<i>Streptomyces</i> spp.	
	symbiontische Endomykorrhiza	
TH Promotor (BA-3)	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>

Auffallend ist die große Präsenz von *Bacillus amyloliquefaciens* in allen BA, die Bakterien enthalten. Ebenso konnten Pilze der Gattung *Trichoderma* zuverlässig isoliert werden. Das Ergebnis war die Basis für die Suche nach diesen MO in den Substraten.

#### Vegetationsperiode 2016

Bei der Charakterisierung der aus den Substraten isolierten Kolonien wurde das Augenmerk besonders auf die Spezies gerichtet, die auch aus den BA isoliert werden konnten, bzw. darin enthalten sein sollten. Dies waren *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., *Pseudomonas* spp. und *Trichoderma* spp..

Während *Pseudomonas* spp. in den Substraten nicht isoliert werden konnte, wurden von den anderen durch die BA eingebrachten Gattungen *Bacillus*, *Streptomyces* und *Trichoderma* einige Spezies identifiziert, die vermehrt auftraten (Tab. 26).

Tab. 26: Aus den Substratproben 2016 mehrfach isolierte Spezies

<b><i>Bacillus</i></b>	<b><i>Streptomyces</i></b>	<b><i>Trichoderma</i></b>
<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>S. thermocarboxydus</i>	<i>T. harzianum</i>
<i>B. megaterium</i>	<i>S. griseoaurantiacus</i>	
<i>B. thuringiensis</i>	<i>S. griseorubens</i>	
<i>B. circulans</i>	<i>S. pactum</i>	

Von diesen Spezies konnten *B. amyloliquefaciens* und *T. harzianum* auch in den BA nachgewiesen werden.

Eine Aussage über ein gehäuftes Auftreten eines oder mehrerer MO in einer bestimmten Variante ist nicht möglich, da die Ergebnisse zu sehr streuen und sich lediglich auf Einzelproben beziehen.

### Vegetationsperiode 2017

Um die Entwicklungsdynamik der Gattungen aus den BA beurteilen zu können, untersuchten wir zunächst die Substratproben, die vor Kulturbeginn und somit vor der Behandlung mit BA entnommen wurden. Das Perlit-Substrat war zu Kulturbeginn völlig keimfrei. Im Kokos-Substrat konnte hingegen eine substratspezifische Mikroflora erfasst werden (Abb. 62).

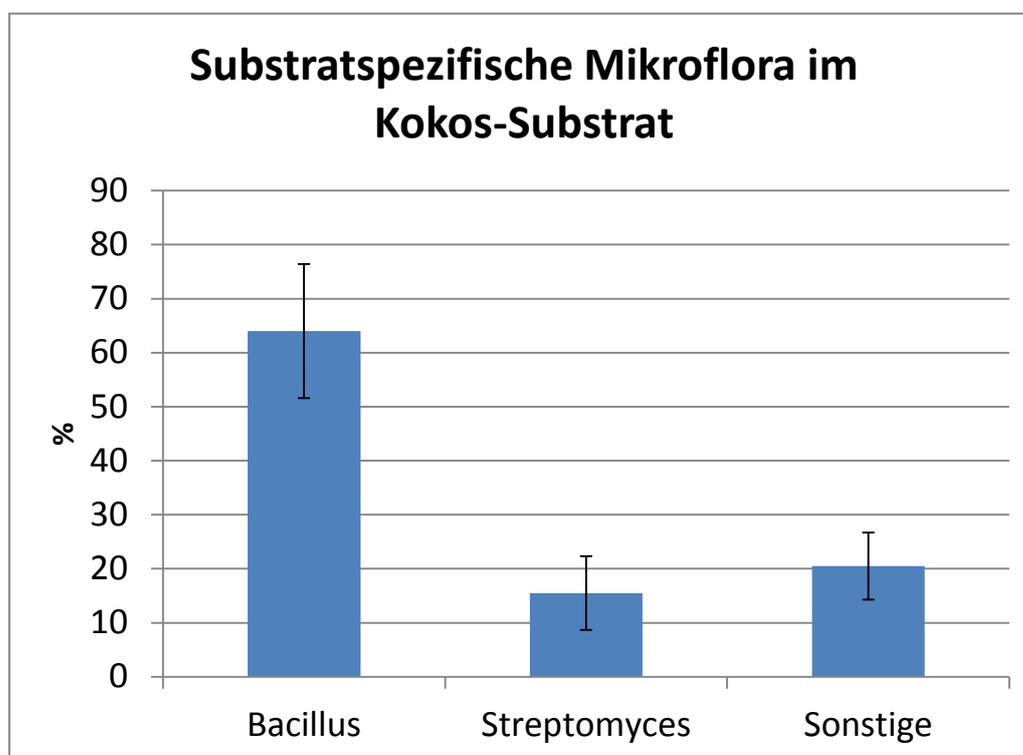


Abb. 62: Verteilung der Bakterien-Gattungen im Kokos-Substrat vor Kulturbeginn

Über 60 % der substratspezifischen Mikroflora im Kokos-Substrat besteht bereits aus der Gattung *Bacillus*. Unter anderem konnte hier *B. pumilus* vermehrt isoliert werden. *B. pumilus* ist ein typisches Bodenbakterium, das wegen seiner Eigenschaft, die photochemische Produktion von Pflanzen zu steigern und dadurch den Chlorophyll-Gehalt in den Blättern zu erhöhen, bereits als Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) eingesetzt wird (Mitter 2013, Shi 2010).

Ein weiterer Anteil von ca. 15 % der Mikroflora sind *Streptomyces* spp..

Pilze der Gattung *Trichoderma* konnten in den Substrat-Kontrollen vor BA-Zugabe nicht isoliert werden.

Von den im Verlauf der Vegetationsperiode entnommenen Proben, konnten Isolate aus den Probenahmen nach drei bzw. sechs Monaten sequenziert werden. In diesen Proben waren in keinem der beiden Substrate *Pseudomonas* sp. nachzuweisen.

Im Perlit-Substrat siedelten sich auch über einen längeren Zeitraum keinerlei Pilze, also auch keine *Trichoderma* spp. an. Ebenso konnten hier keine *Streptomyces* spp. gefunden werden.

Von den Gattungen *Bacillus* und *Streptomyces* isolierten wir wieder vermehrt einige Spezies (Tab. 27), die sich zum großen Teil auch schon in den Proben von 2016 zeigten.

Tab. 27: Aus den Substratproben 2017 mehrfach isolierte Spezies

<b><i>Bacillus</i></b>	<b><i>Streptomyces</i></b>
<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>S. thermocarboxydus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>S. griseoaurantiacus</i>
<i>B. megaterium</i>	<i>S. pactum</i>
<i>B. thuringiensis</i>	
<i>B. pumilus</i>	
<i>B. licheniformis</i>	
<i>B. cereus</i>	
<i>B. litoralis</i>	
<i>B. drentensis</i>	

Von diesen befanden sich insbesondere *B. pumilus* und *S. pactum*, aber auch *B. subtilis*, *B. licheniformis* und *B. cereus* bereits in den Kontrollen der Kokos-Substrate vor Vegetationsbeginn.

*B. amyloliquefaciens* ist die Art, die einerseits in den BA nachgewiesen werden konnte und andererseits nicht in den Kontrollen der Kokos-Substrate vorhanden war. Das heißt, dass sie mutmaßlich durch die BA in die Kultur gebracht wurde und sich dort auch ansiedelte. Insbesondere in der Perlit-Variante von BA-1 war *B. amyloliquefaciens* verstärkt nachzuweisen. In etwas geringerer Ausprägung taucht diese Art auch in der Perlit-Variante von BA-2 auf.

*B. megaterium* wurde vor allem in den Kontrollen des Kokos-Substrates vor Vegetationsbeginn nachgewiesen. Es handelt sich um ein ubiquitäres Bakterium, das im Boden und als Endophyt vorkommt und in der industriellen Biotechnologie weit verbreitet eingesetzt wird. Durch die Fähigkeit zur Stickstoff-Bindung kann es auch pflanzenstärkend wirken (De Vos, 2009).

*B. thuringiensis* befand sich in ganz unterschiedlichen Proben sowohl in Kokos- als auch in Perlit-Substrat, insbesondere nach mehreren Wochen Vegetationsdauer. Hier war teilweise ein Anteil von über 50 % an der gesamten Mikroflora zu erkennen. Die Art kam in den Varianten mit BA ebenso vor, wie in der Kontrolle ohne Zugabe von BA. *B. thuringiensis* ist ebenso ein bekanntes Bodenbakterium, das sogenannte Bt-Toxine produziert, die zur biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt werden (Kaiser-Alexnat, 2011). Die toxischen Kristallproteine werden von Insekten aufgenommen und zerstören ihre Darmzellen. Um Pflanzen diese Wirkung gegen Schädlinge direkt zu ermöglichen, entwickelte man trans-

gene Pflanzen in die Gene von *B. thuringiensis* eingeschleust wurden. Ein Beispiel hierfür ist der umstrittene Bt-Mais (Bravo, 2007).

Bei den Streptomycceten fällt *S. griseoaurantiacus* besonders auf, da er in der substratspezifischen Mikroflora des Kokos-Substrats, also vor der Zugabe der BA, nicht nachgewiesen werden konnte. Im Verlauf der Kultur trat er jedoch nach drei bzw. sechs Monaten in den Proben mit BA-1, BA-3 und auch in der Variante ohne BA-Zugabe zum Teil ganz massiv auf. In der Variante mit BA-2 war er hingegen nicht nachweisbar. Genau dies ist aber die Variante, in der Streptomycceten enthalten sein sollten. Bei *S. griseoaurantiacus* handelt es sich um ein Bakterium, das aus einem Sediment des Meeresbodens isoliert werden konnte und womit verschiedene Antibiotika produziert werden (Li, 2011).

### Vegetationsperiode 2018

Von diesen Substratproben war es bisher nicht möglich Isolate zu sequenzieren.

#### 4.2.1.3. Mykorrhiza

Nachdem die groben Bestandteile der BA über die Siebkombination abgetrennt waren, konnten folgende Beobachtungen gemacht werden (Tab. 28):

Tab. 28: Mikroskopische Beurteilung der Sieb-Rückstände von Tmix und Endodrip (<500 µm)

<b>Endo Drip (BA-1b)</b>	<b>Tmix (BA-2)</b>
deutlich mehr Rückstände in allen Sieben 125 µm: Einzelsporen Sporen mit Hyphenansatz Sporenkonglomerate Hyphenreste 45 µm: Einzelsporen Sporen mit Hyphenansatz	vergleichsweise wenig Rückstand in den Sieben keine Sporen wenig hyaline Hyphenstränge

Nach der anschließenden Aufreinigung durch die Zuckergradientenzentrifugation ergab sich unter dem Mikroskop folgendes Bild (Tab. 29):

Tab. 29: Mikroskopische Beurteilung der Sieb-Rückstände von Tmix und Endodrip (<125 µm) nach Zuckergradientenzentrifugation

<b>Endo Drip (BA-1b)</b>	<b>Tmix (BA-2)</b>
kleines Pellet 7 Glomus Sporen, 100 bis 150 µm 9 kleine, kompakte, nicht hyaline Sporen Hyphenstränge	sehr kleines Pellet 1 Glomus-Spore, sehr klein, ca 80 µm 24 sehr kleine, hyaline Sporen viele Hyphenstrangreste

Es konnten nur sehr wenig Endomykorrhizasporien nachgewiesen werden. Für Endo Drip war eine Konzentration von 200 Sporen/g vom Hersteller angegeben. Diese Zahl wurde bei weitem nicht erreicht.

Bei der Untersuchung der gefärbten Wurzelspitzen aus den Substraten konnten keine mykorrhizatischen Strukturen festgestellt werden.

Darum wurde für die folgenden Vegetationsperioden auf eine weitere Untersuchung der Endomykorrhizasporien verzichtet.

#### 4.2.2. Isolierung von Phytopathogenen aus infizierten Pflanzen

Durch die molekularbiologische Sequenzierung konnten alle isolierten Reinkulturen als *Fusarium* spp. identifiziert werden (Tab. 30).

Tab. 30: Isolate aus infizierten Pflanzenstängeln

PAI	<i>Fusarium oxysporum</i>
PAII	<i>Fusarium</i> sp.
PAIII	<i>Fusarium culmorum</i>
PB	<i>Fusarium culmorum</i>

Sowohl für die Inokulation der Pflanzen im Gewächshaus zur Induktion von biotischem Stress im Vegetationsjahr 2017, als auch für Versuche zur antiphytopathogenen Potenz von MO, die aus den BA oder aus Substratproben isoliert werden konnten, wurde das Isolat PAI (*Fusarium oxysporum*) verwendet.

#### 4.2.3. Wechselwirkungen der Bakterien und Pilze untereinander und auf Phytopathogene

Alle beimpften Nährmedienplatten wurden regelmäßig kontrolliert und beurteilt sowie anhand von Fotos die Entwicklung der Mikroorganismen dokumentiert.

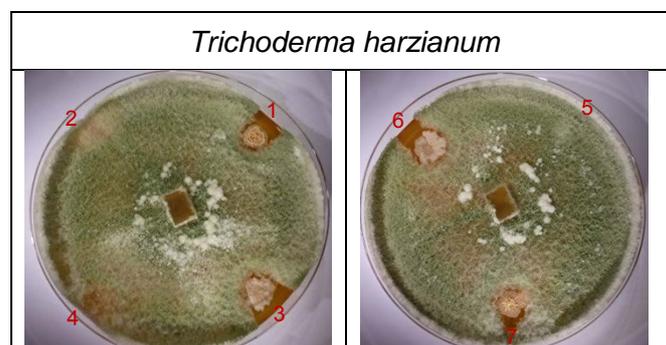


Abb. 63: Hemmhöfe auf Nährmedienplatten nach Inkubation mit Isolat PAI

*T. harzianum* wurde durch die Isolate 1, 3, 6 und 7 von *B. amyloliquefaciens* (Tab. 20) in seinem Wachstum begrenzt, während die Isolate 2 von *P. brassicacearum*, 4 von *B. pumilus* und 5 von *B. licheniformis* (Tab. 20) komplett überwachsen wurden (Abb. 63). Hier konnte gezeigt werden, dass sich MO aus den BA gegenseitig in ihrem Wachstum beeinflussen.

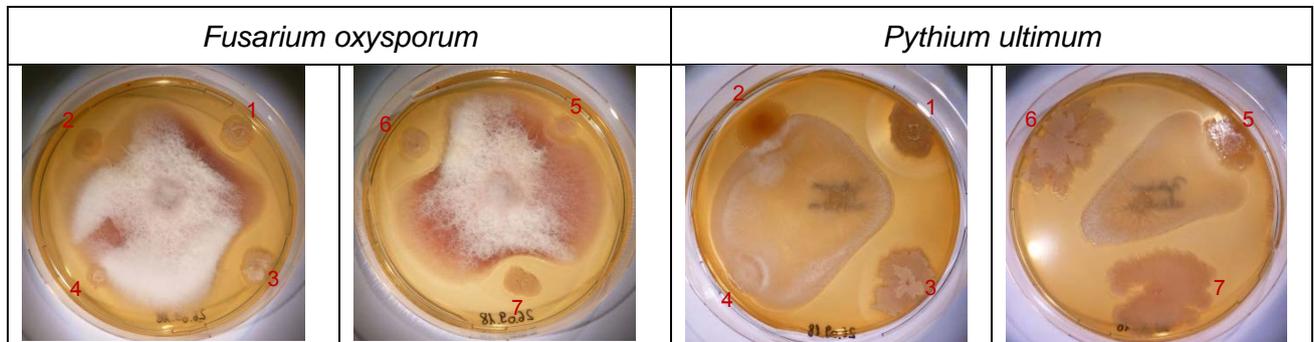


Abb. 64: Hemmhöfe auf Nährmedienplatten nach Inkubation mit Phytopathogenen und Isolatn aus den BA

Das Wachstum der Phytopathogene *Fusarium oxysporum* und *Pythium ultimum* schränkte sich durch die Isolate 1, 3, 6 und 7 von *B. amyloliquefaciens* (Tab. 20) deutlich ein. Im Gegensatz dazu begrenzten die Isolate 2, 4 und 5 (Tab. 20) das Wachstum der Phytopathogene höchstens minimal, oder sie wurden von ihnen überwachsen (Abb. 64). Die antiphytogene Potenz von *B. amyloliquefaciens* konnte hiermit eindrucksvoll dargestellt werden.

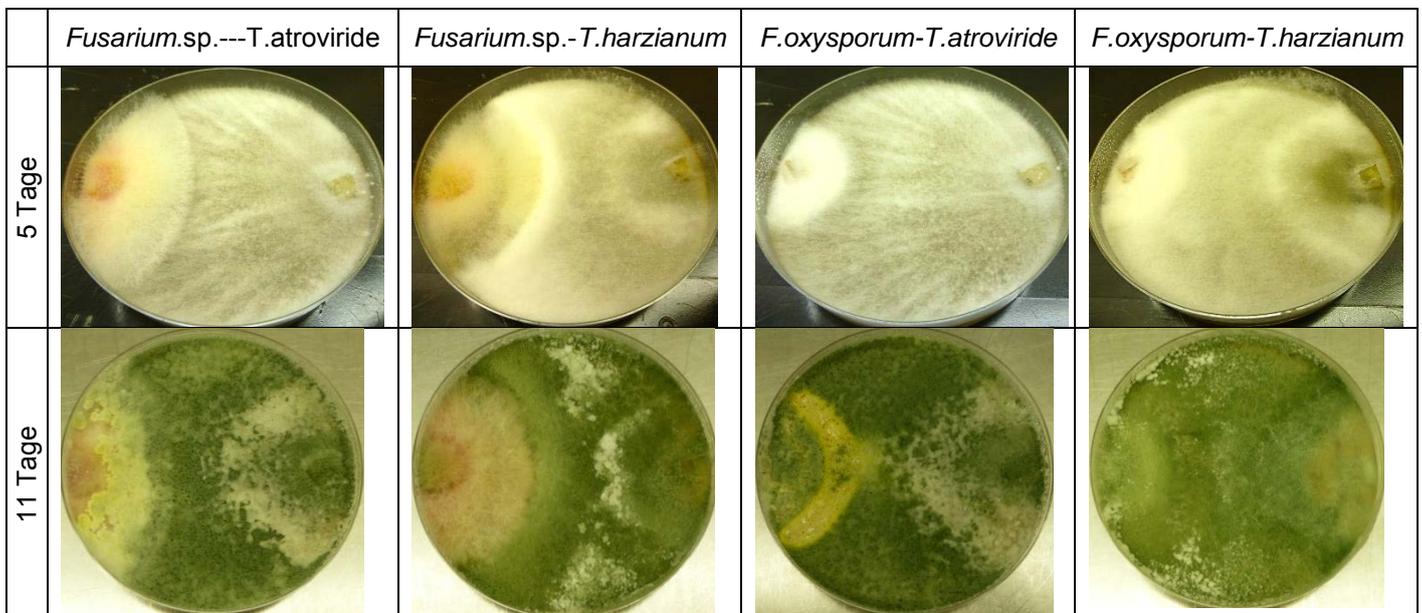
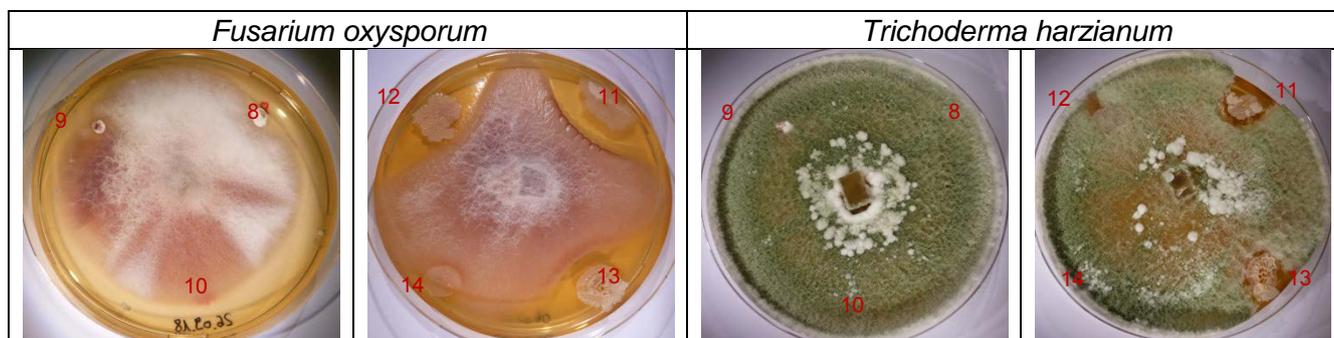


Abb. 65: Nährmedienplatten nach Inkubation mit Phytopathogenen und *Trichoderma sp.* aus BA

Die Isolate von *Trichoderma* sp. aus den BA dominierten die Platten und drängten die Phytopathogene in den Hintergrund (Abb. 65). Sie konkurrierten mit den Phytopathogenen um Nährstoffe und Platz und setzten sich *in vitro* gegen *Fusarium* sp. durch.



**Abb. 66:** Hemmhöfe auf den Nährmedienplatten nach Inkubation von *F. oxysporum* und *T. harzianum* mit Isolaten aus den Substraten

Bei der Betrachtung der Wechselwirkungen von Bakterienisolaten aus den Substratproben mit *F. oxysporum* und *T. harzianum* (Abb. 66) war ersichtlich, dass die Streptomyceten-Isolate 8, 9 und 10 (Tab. 22) keine hemmende Wirkung zeigten. Die *B. amyloliquefaciens*-Isolate 11 und 13 (Tab. 22) begrenzten in beiden Fällen das Wachstum der Pilze. Bei dem Isolat 12 von *B. subtilis* (Tab. 22) war im Gegensatz zum Isolat 14 von *B. licheniformis* (Tab. 22) eine selektiv hemmende Wirkung gegenüber dem Phytopathogen *F. oxysporum* zu sehen, während *T. harzianum* nicht eingeschränkt wurde.

#### 4.2.4. Stresstest

##### 4.2.4.1. Herstellung des Inokulats als Auslöser für biotischen Stress

Bei der Herstellung der verschiedenen Inokulate zur Auslösung von biotischem Stress durch eine erhöhte Pathogenpräsenz bestätigte sich in allen Fällen die phytopathogene Potenz der im Labor kultivierten Inokulat-Suspension mit dem beschriebenen Biotest. Die Gurkensamen, die mit Leitungswasser inkubiert wurden, entwickelten sich prächtig, während die Samen, die stattdessen mit der Phytopathogen-Suspension inkubiert wurden keine Keimfähigkeit aufwiesen (Abb. 67).



**Abb. 67:** Biotest nach vier Tagen Inkubation mit Phytopathogen-Suspension (*P. ultimum*) im Vergleich mit Leitungswasser

#### 4.2.4.2. Inokulat aus infiziertem Pflanzenmaterial

Bei der direkten Inokulation des Kokos-Substrats mit infiziertem Pflanzenmaterial aus einem Praxisbetrieb, konnten bei der Ertragsauswertung Vorteile für die Varianten, die mit Bioaktivatoren behandelt wurden gegenüber der Variante ohne Behandlung lokalisiert werden (s. Abschnitt 3.2.1.3, Tab. 6 und Abb.9).

Von diesen Substratproben wurden die KBE/g bei einer Probenahme zwei Monate nach der Inokulation mit denen aus Substraten, die nicht inokuliert wurden verglichen (Abb. 68). Es handelt sich um Doppelbestimmungen von Einzelproben.

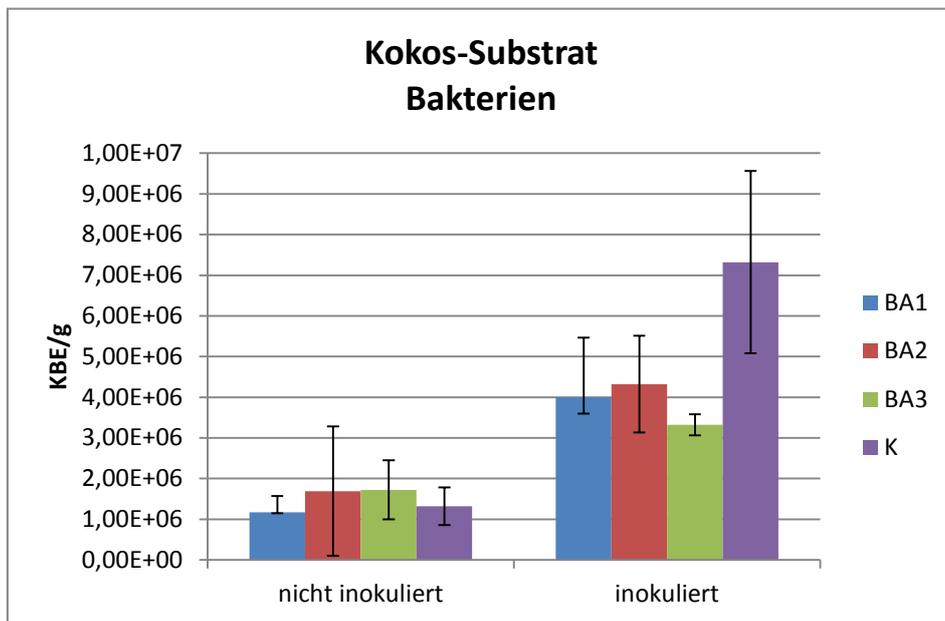


Abb. 68: KBE/g der mit infiziertem Pflanzenmaterial behandelten Varianten, im Vergleich zu den nicht behandelten Varianten

Insgesamt zeigten alle inokulierten Varianten eine höhere Anzahl an KBE/g als die nicht behandelten Varianten. Eine noch höhere Anzahl ist in der nicht mit Bioaktivatoren behandelten Variante zu sehen. Ob dies ein Ausreißer oder ein Effekt der BA ist, müsste durch die Bearbeitung weiterer Proben geklärt werden.

Bei der Sequenzierung der Isolate konnte in den inokulierten Varianten, vor allem in der ohne BA-Zugabe, *Bacillus gibsonii* verstärkt nachgewiesen werden. Diese Art tauchte bisher noch nicht in den untersuchten Proben auf. *B. gibsonii* gehört zu den alkaliphilen Bakterien, die biotechnologisch für die Enzymproduktion genutzt werden (Zuming, 2005).

#### 4.3. Diskussion der Ergebnisse

Durch die Auswertung der Keimzahlen der Substratproben konnten gewisse Tendenzen und auch Unterschiede in den verschiedenen Substraten und BA aufgezeigt werden. Da

durch verschiedene Faktoren immer damit zu rechnen war, dass mikrobiologische Verunreinigungen in das System gelangten, war die Anzahl der zur Untersuchung verfügbaren Proben zu gering um solche Ausreißer auszugleichen.

In den BA waren nicht alle von den Herstellern angegebenen MO von uns nachzuweisen. Insbesondere konnten in BA-2 keine Streptomycceten identifiziert werden. Wie bei der Untersuchung der Kokos-Substratproben unverkennbar ist, war unsere Methode durchaus dafür geeignet, Streptomycceten aufzuspüren. Allerdings konnte in BA-2 *B. amyloliquefaciens* nachgewiesen werden, der durch die bereits beschriebene Barnase-Aktivität in der Lage ist, andere Organismen abzutöten. In verschiedenen Hemmhofstests wurde gezeigt, dass *B. amyloliquefaciens* einerseits die Phytopathogene *Fusarium* und *Pythium* hemmt, andererseits aber auch dem in den BA verwendeten *Trichoderma* entgegenwirkt. Hier ergibt sich also die Frage, wie sinnvoll es ist *B. amyloliquefaciens* in einer MO-Mischung einzusetzen, wenn er die anderen darin enthaltenen MO behindert und sie so ihrer eigentlichen Aufgabe nicht entsprechen können. Wenn in einem BA verschiedene MO zum Einsatz kommen, sollten auch immer die Wechselwirkungen der MO untereinander berücksichtigt werden.

Die antagonistische Wirkung von *Trichoderma* spp. auf Phytopathogene war in vitro zwar nachweisbar, in den Substratproben konnten sie sich jedoch nicht durchsetzen. Diese Erkenntnis liegt möglicherweise beim Kokos-Substrat an der Vielfalt der substratspezifischen Mikroflora oder eben am Einfluss von *B. amyloliquefaciens*. Im Perlit-Substrat siedelten sich weder Pilze noch Streptomycceten an. Bei der Auswahl von BA durch den Anwender sollte immer auch das verwendete Substrat berücksichtigt werden.

In den Hemmhofstests mit Isolaten aus den Substraten wurde deutlich, dass *B. subtilis* das Phytopathogen *F. oxysporum* hemmt, *T. harzianum* aber nicht eingeschränkt wird. Dies könnte *B. subtilis* interessant für eine Verwendung in BA machen.

Grundsätzlich ist festzuhalten, dass es bei der Verteilung der MO aus den Substratproben große Unterschiede zwischen dem mineralischen Perlit-Substrat und dem organischen Kokos-Substrat gab. Das Perlit-Substrat war zu Beginn steril, d.h. die daraus isolierten MO wurden durch die BA oder über die Jungpflanzen bzw. das Bewässerungssystem eingebracht. Im Gegensatz zum Kokos-Substrat gab es jedoch keinen Einfluss durch substratspezifische MO. Zudem konnten sich hier weder Pilze noch Streptomycceten ansiedeln. Der hier besonders stark präsente *B. thuringiensis* trat auch in der Variante ohne BA-Zugabe in hoher Zahl auf. Dies könnte als Hinweis darauf zu verstehen sein, dass er über die Jungpflanzenanzucht eingebracht wurde. Hingegen konnte *B. amyloliquefaciens* besonders in BA-1, in etwas geringerer Zahl auch in BA-2, jedoch nicht in BA-3 und der Kontrolle ohne BA-Zugabe isoliert werden. Folglich gelangte *B. amyloliquefaciens* tatsächlich durch die BA in die Substrate und siedelte sich dort auch an.

Im Kokos-Substrat war hingegen schon zu Beginn eine vielfältige Mikroflora vorhanden, die die Entwicklung der zugegebenen MO aus den BA beeinflusste. Hier kehrte sich das ursprüngliche Verhältnis von *Bacillus* spp. zu *Streptomycces* spp. im Laufe der Zeit zugunsten der *Streptomycces* spp. um. Dies ist mutmaßlich darin begründet, dass sich die sehr schnell und stark wachsenden *Bacillus* spp. zunächst ausbreiten. Wenn diese allmählich in die Absterbephase übergehen, bekommen die langsam wachsenden *Streptomycces* spp. ihre Chance und beginnen sich stark zu vermehren. Das Kokos-Substrat wurde von der substratspezifischen Mikroflora bestimmt. Wir konnten jedoch *B. amyloliquefaciens* als MO nachweisen, der vor BA-Zugabe nicht vorhanden war.

Ebenso wie für die Keimzahlbestimmung ist auch für weitere Interpretationen aus den Sequenzierungen der Isolate eine größere Probenanzahl notwendig.

## 5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse (Fazit)

In der Öffentlichkeit findet momentan ein Umdenken zugunsten einer möglichst rückstandsfreien und ressourcenschonenden Produktion im Allgemeinen und im Gemüseanbau im Besonderen statt. Der Verbraucher verlangt in zunehmendem Maß nach Produkten, die umweltfreundlich produziert und vermarktet werden. Die Ergebnisse der Anbauversuche, welche im Rahmen dieses Projektes in Bamberg durchgeführt wurden, zeigen dass ein Verzicht auf rückstandsrelevante Pflanzenschutzmittel zwar möglich ist, aber die Produktionskosten deutlich erhöht. Gesunde, widerstandsfähige Pflanzen führen zu einer Reduzierung des Einsatzes von chemischen Pflanzenschutzmitteln. Ein erster Schritt ist die Optimierung des Anbauverfahrens. Bewässerung und Düngung müssen beispielsweise an das gewählte Substrat angepasst werden. Organische Substrate, wie in diesem Projekt eingesetzt, treten aufgrund ihrer mikrobiologischen Eigenschaften in Wechselwirkung mit der Kulturpflanze. Das antiphytopathogene Potential des Substrates kann gezielt mit mikrobiologischen Bodenhilfsstoffen gefördert werden. Diese können chemische rückstandsrelevante Pflanzenschutzmittel ersetzen. Auf der Suche nach Alternativen zu chemischen Pflanzenschutzmitteln sind die Gemüseanbauer durch widersprüchlich lautende Berichte zu verschiedenen im Handel erhältlichen, potentiell bioaktiven Präparaten zunehmend verunsichert und verlangen nach fundierten Aussagen zur Rolle dieser Präparate. Die Mittel werden in der Praxis prophylaktisch angewendet, über ihre tatsächliche Effektivität ist aber wenig bekannt. Es zeigte sich insbesondere auf mikrobiologischer Ebene, dass die potentiellen Bioaktivatoren, neben nicht außer Acht zu lassenden Wechselwirkungen der verwendeten Mikroorganismen untereinander, durchaus abtötende Wirkung auf phytopathogene Keime haben. Ebenso sollten bei einem Einsatz der Bioaktivatoren auch immer deren Möglichkeiten zur Besiedelung der verwendeten Substrate berücksichtigt werden. Die hier erzielten Ergebnisse können, wenn sie weiter verfolgt und auf weitere Präparate in Kombination mit den verschiedenen Substraten ausgeweitet werden, ein willkommener und notwendiger Ratgeber im Umgang mit potentiell bioaktiven Präparaten für die Praktiker im Gemüseanbau und darüber hinaus werden.

## 6. Literaturverzeichnis

Andreas C u. Reintges ,2016: Minigurke: Sind Pflanzenstärkungsmittel notwendig? Online verfügbar unter <https://www.hortigate.de/bericht?nr=72839>, zuletzt geprüft am 15.02.2019

Achouak W; Sutra L; Heulin T; Meyer JM; Fromin N; Degraeve S; Christen R; Gardan L; et al., 2000: *Pseudomonas brassicacearum* sp. nov. and *Pseudomonas thivervalensis* sp. nov., two root-associated bacteria isolated from *Brassica napus* and *Arabidopsis thaliana*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 50. (Pt 1): 9–18.

Ausubel, F. M. et al., 2003: *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley & Sons, Inc.

Bactiva GmbH Produktinformationen über Bactiva und Endotrip unter <http://www.bactiva.de/> zuletzt abgerufen am 20.01.2019

Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 2019: Bayerischer Agrarbericht 2018 unter <http://www.stmelf.bayern.de/mam/cms01/agrarpolitik/dateien/agrarbericht2018.pdf> zuletzt abgerufen am 19.05.2019

Becker, Markus und Driesen, Cor, 2016: Endomykorrhiza, Bakterien und Trichoderma. Vortrag am 16.03.2016 in Bamberg

Belimov AA, Dodd IC, Safronova VI, Hontzeas N, Davies WJ, 2007: *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. *J Exp Bot* 58 1485-95

Bravo A, Gill SS, Soberón M, 2007: Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control, *Toxicon*, Band 49, Nummer 4, 423–435

Brotman Y, Kapuganti JG, Viterbo A, 2010: Trichoderma, *Current Biology*, Vol 20, No 9, R 390-391

De Vos, P. et al., 2009: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*. Springer

Dingermann T, Zündorf I, 2016: Multitalent *Streptomyces*, *Pharmazeutische Zeitung*, Ausgabe 16

Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, 2019: PS Info Gartenbau Online verfügbar unter <https://gartenbau.pflanzenschutz-information.de/> zuletzt geprüft am 20.03.2019)

Doudna JA, Cech TR, 2002: *The chemical repertoire of natural ribozymes*, *Nature* Band 418, Nr. 6894, S. 222–228

DüngG (2009): Online verfügbar unter [http://www.gesetze-im-internet.de/d\\_ngg/DüngG.pdf](http://www.gesetze-im-internet.de/d_ngg/DüngG.pdf) zuletzt geprüft am 15.02.2019

Gerlach, Andreas (2017), Tmix plus. Vortrag am 29.09.2017 in Bamberg

Göhler, Frank und Molitor Heinz-Dieter, 2002: *Erdelose Kulturverfahren im Gartenbau*, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Hartley RW, Smeaton JR, 1973: On the Reaction between the Extracellular Ribonuclease of *Bacillus amyloliquefaciens* (Barnase) and Its Intracellular Inhibitor (Barstar), [J Biol Chem.](#); 248(16):5624-6.

Hassan , Sherif A; Albert, Reinhard; Rost, W. Martin (1993) *Pflanzenschutz mit Nützlingen: Im Freiland und unter Glas*. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Hartley RW, 1989: Barnase and barstar: two small proteins to fold and fit together, *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 14, Tissue 11, 450-454

Hartmann A., Rothballer M., Schmid M, 2008: Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant Soil* **312**:7-14

Hennes; Willfried, 2017: Biologische Verfahren im Pflanzenschutz Gemüsebau. Online verfügbar unter <https://www.hortigate.de/Apps/WebObjects/Hortigate.woa/wo/HpVra9TVs9uF3IEBTNTfbM/23.9.0.3.18.13.3.1.5.1.1.0.1.0.1.3.5.0.1.3.3.5.25.1.5.7.1.1> , zuletzt geprüft am 11.12.2018

Hiltner L, 1904: Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. Arb. Deut. Landw. Gesell, **98**:59-78

Intrachem Bio Deutschland GmbH & Co. KG: Produktinformationen über Tmix unter <https://www.intrachem-bio.de/produkte/tmix-plus/> zuletzt abgerufen am 20.01.2019

Jiffy Products International BV.: Produktinformationen unter <https://www.jiffygroup.com/jiffy-product/> zuletzt abgerufen am 11.02.2019

Kaiser-Alexnat R, 2011: [Bacillus thuringiensis](#) ([Memento](#) vom 26. Juni 2011 im [Internet Archive](#))

Keller PM, Hombach M, v. Bloemberg G, 2010: 16S-rRNA-Gen-basierte Identifikation bakterieller Infektionen, Biospektrum 07-10, 755-758

Koppert Deutschland GmbH: Produktinformationen über NatuGro unter <https://www.koppertbio.de/fragestellung/wachstum-und-widerstandsfahigkeit-der-kulturpflanzen-foerdern/> zuletzt abgerufen am 20.01.2019

Kühne S, Burth U, Marx P, 2006: Biologischer Pflanzenschutz im Freiland. Pflanzengesundheit im ökologischen Landbau, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

Kutscheidt J, Brinkmann N, 2018: Pilze gegen Fäulepilze, Baumzeitung, 5/Okttober 2018, 38-41

Lebensministerium Österreich Hrsg., 2006: Evaluierung der nachhaltig positiven Wirkung von Kompost auf die Fruchtbarkeit und Produktivität von Böden Online verfügbar unter, [file:///C:/Users/CCCM/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge\\_8wekyb3d8bbwe/TempState/Downloads/KompostNutzen\[1\]%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/CCCM/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8bbwe/TempState/Downloads/KompostNutzen[1]%20(1).pdf) , zuletzt abgerufen am 11.11.2018

Leest, Arjan van, 2015: Jiffy – Otimising Use of Coir. Vortrag am 04.03.2015 in Bamberg

Lexikon der Biologie, Spektrum der Wissenschaft, 1999: *Bacillus*

Li F; Jiang P; Zheng H; Wang S; Zhao G; Qin S; Liu Z, 2011: [Draft genome sequence of the marine bacterium \*Streptomyces griseoaurantiacus\* M045, which produces novel manumycin-type antibiotics with a pABA core component](#), Journal of Bacteriology, **193** (13), 3417–8

McNear Jr. DH, 2013: The Rhizosphere - Roots, Soil and Everything In Between, Nature Education Knowledge 4(3):1

Mitter B, Brader G, Afzal M, Compant S, Naveed M, Trog F, Sessitsch A, 2013: Advances in elucidating beneficial interactions between plants, soil and bacteria, *Advances in Agronomy*, Volume 121, 381-445

Nevalainen H, Neethling D: The safety of *Trichoderma* and *Gliocladium* in *Trichoderma and Gliocladium* Vol. 1 (eds Kubicek, C. P. & Harman, G. E.) 193–205 (Taylor and Francis, London, 1998).

Pull Rhenen B.V.: Produktinformationen unter <http://www.pullrhenen.nl/substraat/en/producten/substraat-perlite.html> zuletzt abgerufen am 11.02.2019

Raspel, Stephanie; Götte, Elisabeth; Richter, Ellen; Klose, Frauke; Sell, Peter, 2006: Langzeitkosten des biologisch-integrierten Pflanzenschutzes mit Nützlingen in Schnittrosen

Rückstands-Höchstmengenverordnung – RHMV, 1994: [https://www.bvl.bund.de/DE/04\\_Pflanzenschutzmittel/01\\_Aufgaben/07\\_RueckstaendeHoechstgehalte/03\\_ListenRechtsgrundlagen/01\\_RHMV/psm\\_Regelungen\\_zu\\_Hoechstmengen\\_RHMV\\_node.html;jsessionid=E434B57815825FA9955CDF96EFEFAF5F.1\\_cid350](https://www.bvl.bund.de/DE/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/07_RueckstaendeHoechstgehalte/03_ListenRechtsgrundlagen/01_RHMV/psm_Regelungen_zu_Hoechstmengen_RHMV_node.html;jsessionid=E434B57815825FA9955CDF96EFEFAF5F.1_cid350), zuletzt abgerufen am 11.01.2019.

Scharf, Michael, 2017: Alternative Präparate gegen Auflaufkrankheiten (Pythium) an Majoran. Online verfügbar unter <https://www.hortigate.de/Apps/WebObjects/Hortigate.woa/wo/e4vahxutm1ys8yxZN58WL0/23.9.0.3.18.13.3.1.5.1.1.0.1.0.1.3.5.0.1.3.3.5.25.1.5.7.1.1>, zuletzt geprüft am 11.12.2018

Schatz A, Waksman SA, 1944: Effect of streptomycin and other antibiotic substances upon *Mycobacterium tuberculosis* and related organisms, *Proc Soc Exptl Biol Med* 57:244–248

Schlegel HG, Fuchs G, 2014: *Allgemeine Mikrobiologie*, Thieme, 9. Auflage

Schrempf H, Keller U, 2016: Streptomyceten: Relevanz für Ökologie, Medizin und Biotechnologie, *BIOspektrum*, Volume 22, Issue °1, pp 22–25, <https://doi.org/10.1007/s12268-016-0651-x>

Schubert M, 2006: *In vitro* und *ad planta* Studien zum Einsatz von *Trichoderma*-Arten für die biologische Kontrolle Holz abbauender Pilze an Bäumen, Inauguraldissertation an der Fakultät für Forst- und Umweltwissenschaften der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Setlow P, 2014: *Spore Resistance Properties*. In: *Microbiology Spectrum*. American Society for Microbiology Press

Shi Y, Lou K, Li C, 2010: Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by endophytic bacteria, *Photosynthesis Research* 105(1), 5-13

Sieverding, Ewald, 2017: Möglichkeiten und Grenzen der Nutzung von Mikroorganismen im Gemüsebau. Vortrag am 9.10.2017 in Bamberg

Švec P, Pantůček R, Petráš P, Sedláček I, Nováková D, 2010: Identification of *Staphylococcus* spp. using (GTG)<sub>5</sub>-PCR fingerprinting, *Systematic and Applied Microbiology*, Volume 33, Issue 8, Pages 451-456

Todar K: The genus *Bacillus*, [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net) (15.01.2019)

Van der Knaap Group: Produktinformationen unter <https://www.vanderknaap.info/en/> zuletzt abgerufen am 11.02.2019

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990: Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications, Kapitel 18, S. 315–322

Zuming L et al, 2005: Newly Isolated *Bacillus gibsonii* S-2 Capable of using Sugar Beet Pulp for Alkaline Pectinase Production, [World Journal of Microbiology and Biotechnology](#), Volume 21, [Issue 8–9](#), 1483–1486

## 7. Veröffentlichungen und Vorträge

### Vorträge

Barth, B., Schulz, M.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion" für Erwerbsgärtner, Infoveranstaltung in Bamberg, 26.09.2016

Barth, B.; Schulz, M.: Vorstellung von aktuellen Forschungsvorhaben in Veitshöchheim, 25.11.2016

Barth, B., Schulz, M.: Unterfränkischer Gemüsebautag in Albertshofen, 08.12.2016

Barth, B.: Infoveranstaltung für Gartenbauschüler in Veitshöchheim, 12.12.2016

Barth, B., Schulz, M.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion, Biologische Untersuchungen – Statusbericht", Infoveranstaltung für Erwerbsgärtner in Bamberg, 09.10.2017

Barth, B. : Forschungsprojekt "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion", Vorstellung aktueller Forschungsaktivitäten mit dem StMELF in Veitshöchheim, 05.12.2017

Barth, B.; Kreß, O.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion" Biologische Untersuchungen - Statusbericht, Vorstellung aller laufenden Projekte an der LWG in Veitshöchheim, 07.12.2017

Barth, B., Schulz, M.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion" Biologische Untersuchungen – Statusbericht, Info-Veranstaltung Versuchsbeirat in Bamberg, 08.10.2018

Barth, B., Schulz, M.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion", Vorstellung von aktuellen Forschungsvorhaben an der LWG in Veitshöchheim, 12.11.2018

Barth, B.: "Ressourcenschonender Fruchtgemüseanbau im erdelosen Verfahren im Gewächshaus mit größtmöglicher Rückstandsreduktion", Gemüsebautag Knoblauchsländer in Nürnberg, 28.01.2019