

# Empfindlichkeit des bakteriellen Antagonisten *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* gegen Fungizide

## Swiss Berry Note 27

Oktober 2024

### Inhaltsverzeichnis

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Einleitung .....           | 1 |
| Material und Methoden..... | 2 |
| Resultate .....            | 4 |
| Diskussion.....            | 5 |

### Autoren

Vincent Michel  
Rita Ançay



Die Graufäule kann in der Schweiz mit dem Antagonisten *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* bekämpft werden. Dabei handelt es sich um ein Bakterium und somit sollten Fungizide keine Auswirkung auf diesen Antagonisten haben. Aber ist das wirklich so?

## Einleitung

In der Schweiz sind mehrere Pflanzenschutzmittel mit mikrobiellen Wirkstoffen zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea*, dem Erreger der Graufäule, für die Anwendung im Erdbeeranbau zugelassen. Bei den mikrobiellen Wirkstoffen handelt es sich um Pilze oder Bakterien, die Antagonisten (Gegenspieler, Feinde) von pilzlichen Krankheitserregern sind. Wie die chemischen Produkte verhindern diese mikrobiellen Wirkstoffe, dass der Krankheitserreger *Botrytis cinerea* die Pflanze infizieren kann. Dadurch wird der Krankheitsdruck durch die Graufäule gestoppt oder zumindest verringert. Bei einem dieser Wirkstoffe handelt es sich um das Bakterium *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum*, das im Produkt **Amylo-X** (<https://www.psm.admin.ch/de/produkte/7151>) vorhanden ist. Zum Zeitpunkt der Behandlung gegen die Graufäule, nämlich der Blütenperiode, kann es



allerdings auch zu Behandlungen mit Fungiziden zur Bekämpfung anderer Pilzkrankheiten (echter Mehltau, Lederfäule, schwarze Fruchtfäule) kommen. Da es sich bei *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* um ein Bakterium handelt, sollten diese Produkte eigentlich keine Auswirkungen auf die Wirksamkeit von Amylo-X haben. Eine Ausnahme könnten kupferhaltige Produkte sein, diese sind mit einer Teilwirkung gegen die eckige Blattfleckenkrankheit der Erdbeere, eine durch das Bakterium *Xanthomonas fragariae* verursachte Krankheit, zugelassen. Allerdings gab es in der Vergangenheit bereits fungizide Wirkstoffe, denen eine bakterizide Wirkung nachgesagt wurde. Wie zum Beispiel Tolyfluamid-haltige Produkte (Euparen M WG, Folicur EM WG, beide nicht mehr bewilligt). Aus diesem Grund wurden, wie beim Test der Empfindlichkeit von *Gliocladium catenulatum*, dem im Produkt Prestop enthaltene Pilz (siehe Swiss Berry Note 26 = Agroscope Transfer 534), sämtliche zurzeit im Beerenobst zugelassenen fungiziden Wirkstoffe untersucht.

## Material und Methoden

In der Untersuchung wurde der Einfluss von 23 Wirkstoffen und einer Wirkstoffkombination (Tabelle 1) auf das Wachstum von *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* (Produkt: Amylo-X) in einem flüssigen Nährmedium, das 0,5 % Malzextrakt enthielt, gemessen. Die Wirkstoffe von Produkten mit einer Kombination von Wirkstoffen wurden einzeln untersucht. Nur die Kombination Cyprodinil und Fludioxonil (Produkte Switch, Play, Avatar) wurde zusätzlich getestet.

Es wurden zwei Konzentrationen getestet, unverdünnt und zehnfach verdünnt. Die unverdünnte Konzentration entspricht der Konzentration der Brühe beim Ausbringen auf die Kulturen (zum Beispiel 0,1 % für Azoxystrobin). Die verdünnte Konzentration widerspiegelt die Situation einige Tage nach dem Ausbringen der Fungizide. Dies kann der Fall sein, wenn das Produkt Amylo-X nach der Anwendung von chemischen Fungiziden ausgebracht wird.

Das Wachstum des Bakteriums wurde in 100 ml Erlenmeyerkolben, die 20 ml flüssiges Nährmedium enthielten, gemessen. Die Wirkstoffe wurden gemäss der entsprechenden Schlusskonzentration (unverdünnt, 10fach-verdünnt) zugegeben. Danach wurde ein standardisiertes Volumen einer Suspension von *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* zugegeben und die Erlenmeyerkolben wurden während 24 Stunden bei 28°C mit 120 Umdrehungen pro Minute geschüttelt (Abb. 1). Bei ungestörtem Wachstum vermehren sich die Bakterien und dadurch wird das flüssige Nährmedium getrübt. Je stärker die Trübung, desto stärker haben sich die Bakterien vermehrt. Diese Trübung wurde mit einem Photospektrometer im Absorptionsmodus bei einer Wellenlänge von 600 nm gemessen. Diese Werte wurden mit dem Wachstum des Bakteriums im Nährmedium ohne Zugabe von Wirkstoffen verglichen.

Nach der Zugabe der Produkte für die unverdünnte Konzentration war die Trübung bei gewissen Produkten bereits so hoch, dass die Messung der durch das Bakterienwachstum verursachten Trübung nicht mehr möglich war. Bei diesen Produkten konnte somit nur die Wirkung der 10fach verdünnten Konzentration gemessen werden.

Jede Wirkstoff-x-Konzentration-Kombination wurde pro Versuch viermal ausgeführt (vier Wiederholungen). Der Versuch wurde zweimal durchgeführt.

**Tabelle 1:** Liste der Wirkstoffe, welche getestet wurden. FRAC = Fungicide resistance action committee (<https://www.frac.info/>)

| Wirkstoff                | Produkt        | Chemische Gruppe (FRAC) | Bemerkungen                                                    |
|--------------------------|----------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Bupirimat                | Nimrod         |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Fluopyram                | Moon Privilege | SDHI                    | Solo-Produkt und kombiniert mit anderem WS                     |
| Fluxapyroxad *           | Cercadis       | SDHI                    | Kombiniert mit anderem WS                                      |
| Boscalid *               | Cantus         | SDHI                    | Kombiniert mit anderem WS                                      |
| Azoxystrobin             | Amistar        | Qol **                  | Solo-Produkt                                                   |
| Kresoxim-Methyl          | Stroby WG      | Qol                     | Solo-Produkt                                                   |
| Trifloxystrobin          | Flint          | Qol                     | Solo-Produkt und kombiniert mit anderem WS                     |
| Cyprodinil *             | Chorus         | AP                      | Kombiniert mit anderem WS                                      |
| Mepanipyrim              | Frupica SC     | AP                      | Solo-Produkt                                                   |
| Pyrimethanil             | Pyrus 400 SC   | AP                      | Solo-Produkt                                                   |
| Fludioxonil              | Saphire        | PP                      | Solo-Produkt und kombiniert mit anderem WS                     |
| Difenoconazol            | Slick          | DMI                     | Solo-Produkt und kombiniert mit anderem WS                     |
| Penconazol               | Topas Vino     | DMI                     | Solo-Produkt                                                   |
| Fenhexamid               | Teldor         | KRI                     | Solo-Produkt                                                   |
| Fenpyrazamin             | Prolectus      | KRI                     | Solo-Produkt                                                   |
| Captan                   | Captan S WG    |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Kupfer [als Oxychlorid]  | Cupro Maag     |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Schwefel                 | Kumulus WG     |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Aluminium-Fosetyl        | Aliette WG     | Phosphonat              | Solo-Produkt                                                   |
| Kaliumphosphanat         | Stamina S      | Phosphonat              | Solo-Produkt                                                   |
| Kaliumbicarbonat         | Armcarb        |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Cyflufenamid*            | Cyflamid       |                         | Kombiniert mit anderem WS                                      |
| Proquinazid***           | Talendo        |                         | Solo-Produkt                                                   |
| Cyprodinil + Fludioxonil | Switch         | AP + PP                 | Kombiniertes Produkt (Wirkstoffe wurden auch einzeln getestet) |

\*Als Solo-Produkt in Beeren nicht zugelassen

\*\* Qol werden auch als Strobilurine bezeichnet



Abb. 1: Wachstum von *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* in 100 ml Erlenmeyerkolben, die 20 ml flüssiges Malzextrakt-Medium enthalten. Die Trübung der Flüssigkeit wird durch das Wachstum des Bakteriums verursacht. Die Kolben wurden 24 Stunden bei einer Temperatur von 28°C mit 120 Umdrehungen pro Minute geschüttelt.

## Resultate

Die meisten Wirkstoffe bewirkten eine komplette Hemmung des Wachstums *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum*, wenn sie unverdünnt, d. h. mit der Standardkonzentration der Brühe beim Ausbringen, getestet wurden (Abb. 2). Eine Messung bei dieser Konzentration der Wirkstoffe Boscalid, Captan, Fenhexamid, Kupfer, Pyrimethanil und Schwefel war nicht möglich, da die Trübung bedingt durch die Produkte eine Messung verunmöglichte.

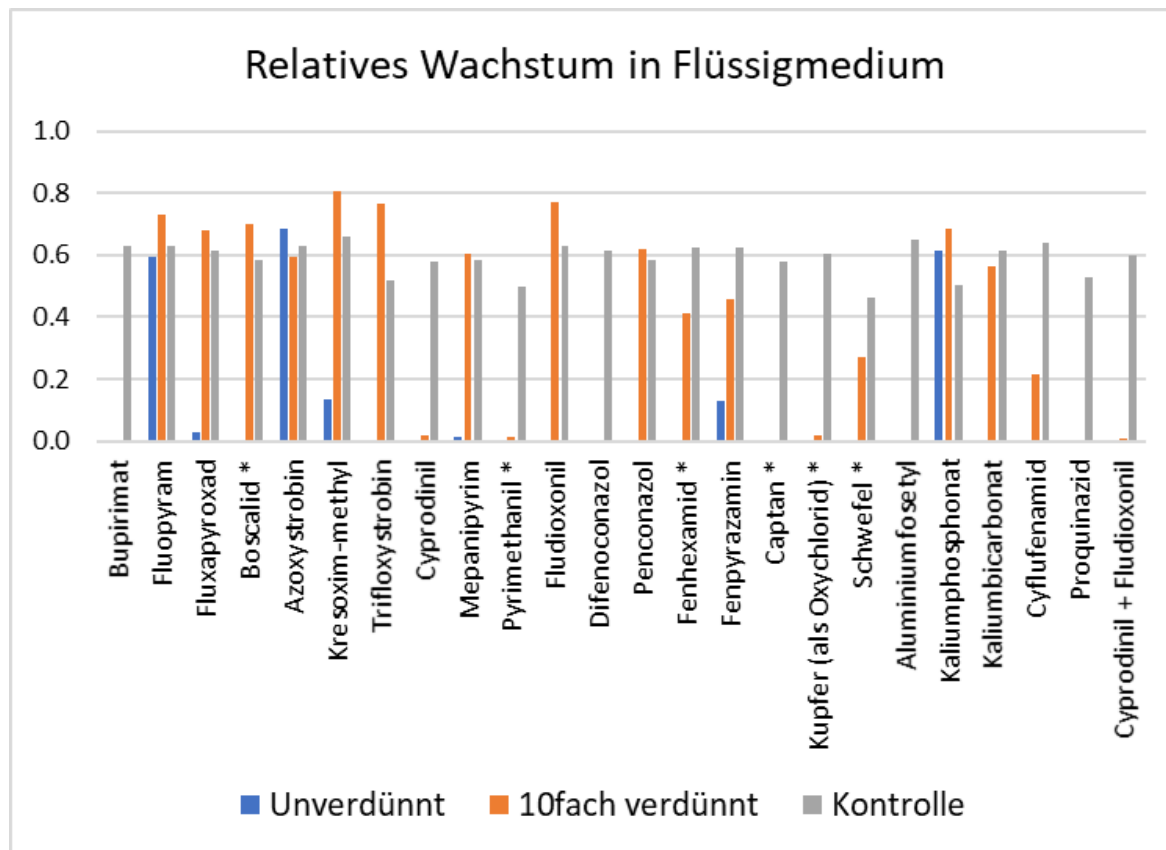


Abb. 2: Relatives Wachstum von *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* in flüssigem Malzextrakt-Medium, das eine Konzentration der Wirkstoffe enthält, die der Standardkonzentration der Brühe vor dem Ausbringen (unverdünnt) oder der zehnfach verdünnten Standardkonzentration der Brühe vor dem Ausbringen entspricht (10fach verdünnt). Die Werte entsprechen den Durchschnittswerten der beiden Versuche. Für die mit einem \* gekennzeichneten Wirkstoffe gibt es keine Daten für das unverdünnte Verfahren. Die Trübung des flüssigen Nährmediums durch das Produkt liess keine Messung der Trübung durch die Bakterien zu.

Die Wirkstoffe Aluminiumfosetyl, Bupirimat, Captan, Cyprodinil, Difenoconazol, Kupfer, Proquinazid, und Pyrimethanil bewirkten auch bei einer 10fachen Verdünnung eine sehr starke Hemmung des Wachstums des Bakteriums (Tab. 2). Die Wirkstoffe Cyflufenamid, Fenhexamid und Schwefel hatten eine teilweise hemmende Wirkung, d. h. eine gewisse Trübung fand statt (Abb. 2). Diese war allerdings statistisch signifikant geringer als die bei den Nährmedien ohne den entsprechenden Wirkstoff.

**Tabelle 2 :** Auswirkung der fungiziden Wirkstoffe auf das Wachstum von *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum*, dem Wirkstoff des Produktes Amylo-X. Eine Hemmung ist vorhanden, wenn die Trübung des Nährmediums mit dem Wirkstoff (unverdünnt oder 10fach verdünnt) signifikant geringer ist als im Nährmedium ohne Wirkstoff (Kontrolle).

| Wirkstoff                | Chemische Gruppe (FRAC) | Hemmung des Wachstums |                 |
|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|
|                          |                         | Un-verdünnt           | 10fach-verdünnt |
| Bupirimat                |                         | ja                    | ja              |
| Fluopyram                | SDHI                    | nein                  | nein            |
| Fluxapyroxad             | SDHI                    | ja                    | nein            |
| Boscalid                 | SDHI                    | kD*                   | nein            |
| Azoxystrobin             | QoI                     | nein                  | nein            |
| Kresoxim-methyl          | QoI                     | ja                    | nein            |
| Trifloxystrobin          | QoI                     | ja                    | nein            |
| Cyprodinil               | AP                      | ja                    | ja              |
| Mepanipyrim              | AP                      | ja                    | nein            |
| Pyrimethanil             | AP                      | kD                    | ja              |
| Fludioxonil              | PP                      | ja                    | nein            |
| Difenoconazol            | DMI                     | ja                    | ja              |
| Penconazol               | DMI                     | ja                    | nein            |
| Fenhexamid               | KRI                     | kD                    | ja              |
| Fenpyrazamin             | KRI                     | ja                    | nein            |
| Captan                   |                         | kD                    | ja              |
| Kupfer (als Oxychlorid)  |                         | kD                    | ja              |
| Schwefel                 |                         | kD                    | ja              |
| Aluminiumfosetyl         | Phosphonat              | ja                    | ja              |
| Kaliumphosphonat         | Phosphonat              | nein                  | nein            |
| Kaliumcarbonat           |                         | ja                    | nein            |
| Cyflufenamid             |                         | ja                    | ja              |
| Proquinazid              |                         | ja                    | ja              |
| Cyprodinil + Fludioxonil | AP + PP                 | ja                    | ja              |

\*: kD = Keine Daten, die Trübung des flüssigen Nährmediums durch das Produkt liess keine Messung der Trübung durch die Bakterien zu.

## Diskussion

Wie erwartet hatte der Wirkstoff Kupfer (als Oxychlorid getestet) eine vollständig hemmende Wirkung auf das Wachstum des Bakteriums. Doch auch ein Grossteil der anderen 22 Wirkstoffe hemmten das Wachstum auch signifikant. Dies war der Fall bei 14 von 17 Wirkstoffen mit unverdünnter Konzentration (bei 6 Wirkstoffen konnte die Trübung nicht gemessen werden). Bei der 10fach verdünnten Konzentration fand eine komplette Hemmung immer noch bei 11 von 23 Wirkstoffen statt. Eine klare Zuordnung der hemmenden Wirkung zu den chemischen Wirkstoffgruppen ist nicht gegeben.

Wie weit die Fungizide mit einer stark hemmenden Wirkung das Bakterium *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* tatsächlich abtöten, wenn die Produkte auf den Pflanzen angewendet werden, ist hingegen nicht bekannt. Die Wirkung in einem komplett künstlichen Umfeld (Messung in flüssigen Nährmedien in kontrollierten Laborbedingungen) kann nicht einfach direkt mit der Wirkung im Feld verglichen werden. Der Wirkstoff Kupfer, der in beiden Versuchen bei einer 10fachen Verdünnung das Wachstum des Bakteriums völlig gehemmt hat, ist gegen

verschiedene Bakterienkrankheiten mehrheitlich nur mit einer Teilwirkung zugelassen. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die Wirkstoffe mit einer hemmenden Wirkung in den Versuchen die Wirksamkeit von Amylo-X in der Praxis nur beschränkt beeinträchtigen. Es wäre sicherlich von grossem Nutzen, wenn Angaben zur Kombination von Amylo-X mit Fungiziden und anderen Pflanzenschutzmitteln vorliegen würden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Berichtes sind solche Informationen auf der Internet-Seite des Vertreibers von Amylo-X nur in beschränktem Ausmass verfügbar. Angaben zur Mischbarkeit mit chemisch-synthetischen Pflanzenschutzmitteln sind dabei keine vorhanden. Dies ist mit dem zunehmenden Einsatz von biologischen Mitteln durch nicht Bio-Produzenten ein Mangel, welcher durch die Vertreiber von biologischen Mitteln möglichst bald behoben werden sollte.

**Impressum**

|             |                                                                                                             |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Herausgeber | Agroscope<br>Route des Eterpys 18<br>1964 Conthey<br><a href="http://www.agroscope.ch">www.agroscope.ch</a> |
| Auskünfte   | <a href="mailto:vincent.michel@agroscope.admin.ch">vincent.michel@agroscope.admin.ch</a>                    |
| Copyright   | © Agroscope 2024                                                                                            |
| ISSN        | 2296-7206 (Print),<br>2296-7214 (Online)                                                                    |

**Haftungsausschluss**  
Agroscope lehnt jede Verantwortung im Zusammenhang mit der Umsetzung der hier aufgeführten Informationen ab. Es gilt die aktuelle Schweizer Rechtsprechung.