

(19)



(10)

**AT 519820 B1 2019-05-15**

(12)

## Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 104/2017  
(22) Anmeldetag: 15.03.2017  
(45) Veröffentlicht am: 15.05.2019

(51) Int. Cl.: **A01N 63/04** (2006.01)

(56) Entgegenhaltungen:  
BlossomProtect™, 5 x 10<sup>9</sup> cfu/g von  
Aureobasidium pullulans DSM 14940 und DSM  
14941 [online, URL: <http://www.biofa-profi.de/de/b/blossomprotecttm.html>  
[heruntergeladen am 28.09.2017]  
[<http://www.biofa-profi.de/de/produkte-von-a-bis-z.html>] - BoniProtect® forte; Botector®  
WO 2016001125 A1  
WO 2014053398 A1  
US 2011257009 A1  
WO 2015011615 A1  
WO 2014086856 A1

(73) Patentinhaber:  
Erber Aktiengesellschaft  
3131 Getzersdorf bei Traismauer (AT)

(74) Vertreter:  
Cunow Patentanwalts KG  
1180 Wien (AT)

(54) **Zubereitung enthaltend wenigstens ein chemisches Fungizid sowie eine Aufbereitung enthaltend Aureobasidium pullulansstämmen**

(57) Bei einer Zubereitung enthaltend wenigstens ein chemisches Fungizid ist zusätzlich zu dem wenigstens einen chemischen Fungizid eine Mischung enthaltend wenigstens die Stämme Aureobasidium pullulans DSM 14940 und DSM 14941 enthalten, wobei das wenigstens eine chemische Fungizid sowie die Mischung der Stämme Aureobasidium pullulans Stämme in synergistisch wirkenden Mengen in der Zubereitung vorliegen sowie Verwendung der Zubereitung und Verfahren zur Prophylaxe oder zur Reduktion der Ausbreitung von wenigstens einer durch einen pilzlichen Pathogen ausgelösten Pflanzenerkrankung.

## Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Zubereitung enthaltend wenigstens ein chemisches Fungizid sowie die Verwendung der Zubereitung und Verfahren zur Prophylaxe oder zur Reduktion der Ausbreitung von wenigstens einer durch einen pilzlichen Pathogen ausgelösten Pflanzenerkrankung.

**[0002]** Um Ernteaussbeuten in der Landwirtschaft so weit wie möglich maximieren zu können, ist es erforderlich, landwirtschaftliche Produkte vor Schädlingsbefall so gut wie möglich zu schützen. Dies ist in allen landwirtschaftlichen Kulturen, insbesondere im Obst- und Gemüseanbau von großer Bedeutung und es ist zum Schutz der Kulturpflanzen vor Befall durch Pathogene üblich, diese mit chemischen Fungiziden zu spritzen bzw. zu behandeln, um eine pflanzenpathogene Infektion zu verhindern bzw. deren Ausbreitung zu reduzieren. Derartige chemische Fungizide haben üblicherweise ein sehr breites Anwendungsspektrum und wirken nicht spezifisch gegen einzelne Pathogene, so dass sie sehr weit verbreitet eingesetzt werden. Ähnlich wie dies von Antibiotika bekannt ist, entwickeln die Pathogene gegen derartige fungizid wirkende chemische Substanzen im Laufe der Zeit Resistenzen bzw. eine verringerte Sensitivität und die Wirkung der für die Behandlung bzw. Vorbeugung gegen Befall mit Pathogenen eingesetzten chemischen Fungizide wird immer geringer, bis die pathogenen Stoffe den Spritzmitteln gegenüber soweit resistent sind, dass eine neue Substanz gesucht werden muss.

**[0003]** Die chemischen Fungizide weisen neben dem Problem, dass im Laufe der Zeit Resistenzen bzw. verringerte Sensitivitäten gegen sie entwickelt werden, auch das Problem auf, dass diese nach Ausbringen auf die zu behandelnden Pflanzen wenigstens teilweise in den Boden gelangen, wodurch es zu Kontaminierungen kommen kann und neben den Kontaminierungen auch weitere Mikroorganismen, deren Behandlung bzw. Vorbeugung im vorliegenden Fall gar nicht beabsichtigt war, ebenfalls gegenüber diesen chemischen Fungiziden resistent werden können. Auf diese Weise tritt der unerwünschte Effekt ein, dass nicht nur die Zielorganismen (Pathogene) resistent werden können, sondern auch Nicht-Zielorganismen, deren Behandlung durch den Einsatz des jeweiligen chemischen Fungizids ursprünglich nicht beabsichtigt war. Dies kann zur Folge haben, dass diese Nicht-Zielorganismen ihrerseits völlig unerkannt Resistenzen bzw. verringerte Sensitivitäten ausbilden, und dann im erforderlichen Fall nicht mit herkömmlichen chemischen Fungiziden behandelt werden können bzw. eine Behandlung nicht den erwünschten Erfolg mit sich bringen wird.

**[0004]** Derartig behandelte Pflanzen, Obst oder Gemüse gelangen in der Folge in den Nahrungskreislauf von Nutztieren und Menschen und können aufgrund der nicht bekannten Belastung mit Fungiziden große Schäden hervorrufen, indem beispielsweise sekundäre Resistenzen ausgebildet werden.

**[0005]** Darüber hinaus steht dem Einsatz von chemischen Fungiziden immer mehr die öffentliche Meinung negativ gegenüber, da die Menschen aufgrund ihres immer größer werdenden Wissens betreffend die Wirkungsweise und die Folgen übermäßiger Verwendung von chemischen Fungiziden, den Einsatz derselben ablehnen und soweit als möglich zurückdrängen wollen, was die Suche nach Alternativen erforderlich macht.

**[0006]** Neben dem Einsatz von chemischen Fungiziden ist es bereits seit einiger Zeit bekannt, biologische Fungizide zum Einsatz zu bringen, welche den Vorteil haben, dass die Pathogene keine Resistenzen gegen diese biologischen Fungizide ausbilden können. Ob und inwieweit die Wirkung von biologischen Agentien jener von chemischen Fungiziden gleichgesetzt werden kann, hängt von dem speziellen eingesetzten, biologischen Mittel bzw. der biologischen Mischung ab und von dem speziellen Pathogen, gegen welchen eine Wirkung erzielt werden soll, so dass für jeden Einzelfall eine Mehrzahl von Tests und Untersuchungen erforderlich ist.

**[0007]** Aus der DE 699 19 762 T2 sind fungizide Zusammensetzungen zur Bekämpfung von phytopathogenen Erkrankungen auf Nutzpflanzen bekannt geworden, bei welchen eine Kombination von zwei fungizid wirkenden Substanzen zum Einsatz gebracht wurde, um auf diese

Weise eine synergistische fungizide Wirkung zu erreichen und dadurch die Gesamtmenge an eingesetzten fungiziden Stoffen absenken zu können.

**[0008]** Weiterhin ist der EP 0 930 824 B1 eine Mischung entnehmbar, welche im Wesentlichen aus einer Aufbereitung der Pflanze *Reynoutria sachalinensis* sowie einen Stickstoffdünger besteht, welche Mischung zur Verhütung des Befalls durch pflanzenpathogene Pilze und zur Bekämpfung von pflanzenpathogenen Pilzen einsetzbar ist. Auch bei dieser Mischung soll die Gesamtmenge an ausgebrachten Wirkstoffen verringert werden.

**[0009]** Der WO 2015/011615 A1 sind Mischungen entnehmbar, welche neben dem eine pestizide Wirkung aufweisenden *Trichoderma harzianum* Stamm SK-55 wenigstens ein weiteres Pestizid, gewählt aus natürlichen und synthetischen Pestiziden, enthält.

**[0010]** Der WO 2014/086856 A1 sind Mischungen eines Quillary-Extrakts zu entnehmen, welche neben diesem Quillary-Extrakt wenigstens ein Biopestizid enthalten.

**[0011]** Der WO 99/62341 ist schließlich eine schützende und heilende Maßnahme zu entnehmen ebenso wie entsprechende Zusammensetzungen, welche Pflanzenerkrankungen biologisch behandeln sollen, wobei die Zusammensetzungen insbesondere für die Verwendung nach der Ernte gedacht sind. Eine derartige Zusammensetzung enthält hierbei wenigstens einen antagonistisch wirkenden Mikroorganismus und ein insbesondere biologisches Antipilzmittel, wie z.B. ein Enzym.

**[0012]** Schließlich haben R. Castoria et al. (Postharvest Biology and Technology 22, Seite 7 bis 17, 2001) die Wirkung von *Aureobasidium pullulans* (LS-30) als einen Antagonisten von pathogenen Stoffen auf Früchten, welche diese nach der Ernte befallen, beschrieben, in welcher festgestellt wurde, dass *Aureobasidium pullulans* eine signifikante antagonistische Wirksamkeit gegen *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus stolonifer* und *Aspergillus niger* bei verschiedenen Pflanzen zeigt. So wurden unter anderem Apfelwunden mit *Aureobasidium pullulans* (LS-30) behandelt und zum Vergleich Wunden nur mit Wasser behandelt. Diese Ergebnisse zeigten, dass *Aureobasidium pullulans* eine gute antagonistische Wirksamkeit gegen pilzliche Apfelfäule-Erreger hat.

**[0013]** WO 2008/114304 beschreibt die Anwendung von *Aureobasidium pullulans* Stämmen gemeinsam mit dem Adjuvantien Kalziumpropionat und Kalziumpropionat mit Sojabohnenöl bzw. mit dem Fungizid Procymidone zur Bekämpfung von *Botrytis cinerea* bei Weintrauben. Es wurden allerdings weder eine Kombination aus einzelnen *Aureobasidium pullulans* Stämmen noch aus einem *Aureobasidium pullulans* Stamm mit dem Fungizid Cyprodinil, Fludioxonil bzw. einer Mischung aus Cyprodinil, Fludioxonil getestet.

**[0014]** Trotz dieser Erkenntnisse besteht weiterhin das Erfordernis, wirksame Fungizide bzw. fungizide Mischungen zur Verfügung zu stellen, mit welchen die Einsatzmenge chemischer Fungizide deutlich herabgesetzt werden kann und mit welchen darüber hinaus eine deutliche verbesserte Wirkung gegenüber dem Einsatz einer Einzelsubstanz, und zwar sowohl eines chemischen Fungizides als auch eines biologischen Wirkstoffs erreicht werden kann.

**[0015]** Zur Lösung dieser Aufgabe ist die Zubereitung gemäß der vorliegenden Erfindung im Wesentlichen dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich zu dem wenigstens einen chemischen Fungizid eine Mischung enthaltend wenigstens die Stämme *Aureobasidium pullulans* DSM und DSM 14941 enthalten ist, wobei das wenigstens eine chemische Fungizid sowie die Mischung der Stämme *Aureobasidium pullulans* Stämme in einer Konzentration von  $1 \times 10^5$  bis  $1 \times 10^8$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1 \times 10^6$  bis  $2 \times 10^7$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^6$  bis  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^5$  Zellen/ml Zubereitung vorliegen, wobei das wenigstens eine chemische Fungizid aus Fludioxonil besteht oder dieses beinhaltet und in einer Konzentration von 0,0025 g/l Zubereitung bis 5 g/l Zubereitung, vorzugsweise 0,01 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,125 g/l Zubereitung bis 0,25 g/l Zubereitung enthalten ist.

**[0016]** Indem die Zubereitung zusätzlich zu wenigstens einem chemischen Fungizid eine Mi-

sung enthaltend wenigstens die Stämme *Aureobasidium pullulans* DSM 14940 und DSM in synergistisch wirksamen Mengen enthält, gelingt es, eine bessere fungizide Wirkung zu erzielen, als wenn die Einzelsubstanzen alleine bzw. gesondert eingesetzt worden wären. Schließlich gelingt es mit einer derartigen Vorgangsweise, Resistenzen gegen die chemischen Fungizide, welche bei deren alleinigen Einsatz bereits beobachtet werden, aufzuheben bzw. hintanzuhalten und so die Wirkungsweise der Fungizide in überraschender Weise wieder deutlich zu verbessern. Besonders wirksam ist die Zusammensetzung bei der Prophylaxe von pilzlichen Pathogenen die zumindest eine Resistenz bzw. eine geringere Sensitivität gegenüber wenigstens einem der chemischen Fungizide in der Zubereitung aufweisen. Besonders wirksam bedeutet, dass der Synergismusfaktor der Zubereitung gegenüber den Einzelsubstanzen größer als 1,1 ist.

**[0017]** Indem die *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 jeweils in einer Konzentration von  $1 \times 10^5$  bis  $1 \times 10^8$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1 \times 10^6$  bis  $2 \times 10^7$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^6$  bis  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung, insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung enthalten sind, gelingt es bei Anwendung dieser Zubereitung, Fäulnis, die durch verschiedene pilzliche Pathogene gewählt aus der Gruppe *Neofabraea* spp., insbesondere *Pezicula malicorticis* (DSMZ 62715) und *Botrytis* spp., insbesondere *Botrytis cinerea*, *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Coletotrichum* spp. u.a. sicher und zuverlässig zu unterdrücken, insbesondere die Vergrößerung von Fäulnisflecken, die durch äußere Verletzungen der Früchte bewirkt werden, hintanzuhalten.

**[0018]** Unter dem Begriff „Zubereitung“ wird eine fertige Lösung oder Suspension verstanden, die alle Einzelsubstanzen, nämlich zumindest ein chemisches Fungizid und die beiden *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 beinhaltet und die direkt auf Pflanzen aufgebracht wird. Typischerweise handelt es sich bei Zubereitungen um wässrige Lösungen oder Suspensionen, auch Tankmischungen genannt, die üblicherweise vor Aufbringung auf die Pflanzen abgemischt werden. Dabei werden die Einzelsubstanzen bzw. -komponenten in konzentrierter flüssiger oder fester Form mit Wasser in einem Tank versetzt und gelöst bzw. suspendiert. Dabei ist es unerheblich ob die Einzelsubstanzen bzw. -komponenten separat, oder als eine konzentrierte Vormischung bestehend aus zumindest einem chemischen Fungizid und den beiden *Aureobasidium pullulans* Stämmen DSM 14940 und DSM 14941, in den Tank eingebracht, mit Wasser versetzt und gelöst bzw. suspendiert werden. Die Reihenfolge in der Wasser und die Einzelsubstanzen bzw. -komponenten oder die Vormischung in den Tank eingebracht werden ist dabei unerheblich. Dabei werden die Einzelsubstanzen bzw. -komponenten oder die konzentrierten Vormischungen zum Beispiel um den Faktor 1:10, 1:100, 1:1000 oder 1:10000 im Tank verdünnt, um die wirksame Konzentration in der Zusammensetzung zu erreichen.

**[0019]** Unter dem Begriff „chemisches Fungizid“ wird ein chemischer, fungizider Wirkstoff verstanden, insbesondere Cyprodinil (CAS-Nr. 121552-61-2), Fludioxonil (CAS-Nr. 131341-86-1), Fenhexamid (CAS-Nr. 126833-17-8), Fenpyrazamine (CAS-Nr. 473798-59-3), Pyrimethanil (CAS-Nr. 53112-28-0), bevorzugt Cyprodinil und Fludioxonil.

**[0020]** Unter dem Begriff „pilzlicher Pathogen“ wird hier ein Mikroorganismus verstanden, der in seinem Wirt eine Krankheit verursacht. Pilzliche Pathogene sind hierbei vorzugsweise die Mikroorganismen *Neofabraea* spp., insbesondere *Pezicula malicorticis* (DSMZ 62715) und *Botrytis* spp., insbesondere *Botrytis cinerea*, welche Krankheiten bei Obst-, Wein- und Gemüsekulturen, insbesondere Äpfeln, Weintrauben, Erdbeeren, und Kürbisgewächsen, wie Zucchini und Speisekürbissen hervorrufen.

**[0021]** Eine besonders gute synergistische Wirkung wird dadurch erreicht, dass in der Zubereitung das wenigstens eine chemische Fungizid sowie eine Mischung enthaltend wenigstens die Stämme *Aureobasidium pullulans* DSM 14940 und DSM 14941 in synergistisch wirkenden Mengen enthält. Überraschender Weise hat sich herausgestellt, dass der Einsatz bzw. die Anwendung von einem chemischen Fungizid und der Mischung enthaltend wenigstens zwei voneinander verschiedene *Aureobasidium pullulans* Stämme, nämlich DSM 14940 und DSM

14941, eine deutlich bessere, insbesondere eine synergistische, Wirksamkeit zeigt, im Gegensatz zur Anwendung von nur einem der beiden *Aureobasidium pullulans* Stämme und dem chemischen Fungizid. Das Zellmengenverhältnis der zwei *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 zueinander ist hierbei zwischen 2:1 und 1:2, insbesondere 1:1 gewählt, so dass eine entsprechende Mischung auch einfach herstellbar ist.

**[0022]** Gemäß einer Weiterbildung der Erfindung ist die Zubereitung so ausgebildet, dass das chemische Fungizid gewählt ist aus einer Kombination aus Fludioxonil (CAS-Nr. 131341-86-1) und wenigstens einem zweiten chemischen Fungizid aus der Gruppe Cyprodinil (CAS-Nr. 121552-61-2), Fenhexamid (CAS-Nr. 126833-17-8) und Fenpyrazamine (CAS-Nr. 473798-59-3), Pyrimethanil (CAS-Nr. 53112-28-0).

**[0023]** Insbesondere bevorzugt sind Cyprodinil und Fludioxonil sowie Mischungen aus Cyprodinil und Fludioxonil. Insbesondere Cyprodinil oder Fludioxonil zeigen gegenwärtig bereits eine deutlich eingeschränkte Wirksamkeit gegenüber pilzlichen Pathogenen, da diese bereits Resistenzen gegen diese zwei Wirkstoffe entwickeln. Überraschender Weise konnte gezeigt werden, dass, wenn das chemische Fungizid gewählt ist aus einer Kombination von Cyprodinil und Fludioxonil in einer Zubereitung gemäß der Erfindung eingesetzt ist, die Resistenzen unterdrückt werden können und die Substanzen, selbst wenn sie in geringen Konzentrationen in der Zubereitung enthalten sind, ihre volle Wirkung gegenüber pilzlichen Pathogenen entwickeln können.

**[0024]** Gemäß einer Weiterbildung der Erfindung ist die Zubereitung hierbei so ausgebildet, dass als synergistisch wirkende Mengen Fludioxonil in einer Konzentration von 0,0025 g/l Zubereitung bis 5 g/l Zubereitung, vorzugsweise 0,01 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,125 g/l Zubereitung bis 0,25 g/l Zubereitung enthalten ist. Die eingesetzte Menge an chemischen Fungiziden hängt vor allem davon ab, ob der pilzliche Pathogen bereits eine Resistenz oder eine verminderte Empfindlichkeit bzw. Sensitivität gegenüber dem chemischen Fungizid aufweist. Wenn die chemischen Fungizide Fludioxonil und Cyprodinil in den angegebenen Mengen in der Zubereitung enthalten sind, können sie trotz der geringen enthaltenen Menge ihre Wirkung gegenüber pilzlichen Pathogenen voll entfalten und überraschender Weise werden von den pilzlichen Pathogenen gegenüber diesen bekannten chemischen Fungiziden in Kombination mit *Aureobasidium pullulans* Stämmen DSM 14940 und DSM 14941 keine bzw. verringerte Resistenzen oder Sensitivitäten gezeigt. Darüber hinaus zeigte die Zubereitung gemäß der Erfindung, welche die Mischung aus *Aureobasidium pullulans* Stämmen DSM 14940 und DSM 14941 enthält, eine synergistische Wirkung, so dass mit einer Einsatzmenge, die deutlich geringer als die Summe der Einsatzmengen von den jeweiligen Einzelsubstanzen bzw. -komponenten, welche für das Erreichen einer ebenso guten Wirkung erforderlich gewesen wären, ist, das Auslangen gefunden wird.

**[0025]** Unter synergistischer Wirkung wird im vorliegenden Fall eine über-additive Steigerung der fungiziden Wirkung einer Kombination von wenigstens einem chemischen Fungizid mit einer Mischung der beiden *Aureobasidium pullulans* Stämmen DSM 14940 und DSM 14941 gegenüber a) der alleinigen Anwendung des wenigstens einem chemischen Fungizids bzw. gegenüber b) der alleinigen Anwendung der Mischung der beiden *A. pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 bzw. gegenüber c) der Anwendung des wenigstens einem chemischen Fungizids gemeinsam mit lediglich einem der beiden *A. pullulans* Stämme DSM 14940 oder DSM 14941 verstanden. Der Einsatz der *A. pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 einzeln in Kombination mit chemischen Fungiziden bzw. der Einsatz von Mischungen von herkömmlicher *A. pullulans* Stämme (AP 241 und AP 298) miteinander oder mit einem der beiden *A. pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 in Kombination mit chemischen Fungiziden zeigte ebenfalls überraschenderweise keine synergistische Wirkung. Zur mathematischen Berechnung der synergistischen Wirkung wird wie in Colby et al. (Weeds 15, Seite 20 bis 22, 1967) vorgegangen, wobei ein Synergismuskfaktor von größer 1 als Bestätigung des Vorliegens einer synergistischen Wirkung gesehen wird.

**[0026]** Die beste Wirkung konnte dadurch erzielt werden, dass eine Zubereitung gemäß der

Erfindung im Wesentlichen dadurch gekennzeichnet ist, dass Cyprodinil und Fludioxonil in einem Gewichtsverhältnis von 2:1 bis 1:2, vorzugsweise von 2:1 bis 1:1, insbesondere von 1,5:1 in der Zubereitung vorliegen. Indem in der Zubereitung neben zwei biologischen Fungiziden (=A. pullulans Stämme DSM 14940 und DSM 14941) auch zwei chemische Fungizide eingesetzt sind, gelingt nicht nur eine Breitbandwirkung gegen pilzliche Pathogene, sondern überraschender Weise hat sich gezeigt, dass die Einsatzmenge der Einzelsubstanz drastisch abgesenkt werden konnte, so dass eine synergistische Wirkung sämtlicher Bestandteile nachgewiesen ist.

**[0027]** Die Erfindung zielt weiterhin auf die Verwendung einer Zubereitung gemäß der vorliegenden Erfindung ab, welche zur Prophylaxe und/oder zur Eindämmung der Ausbreitung von durch pilzliche Pathogene verursachten Pflanzenerkrankungen eingesetzt wird.

**[0028]** Mit einer derartigen Verwendung gelingt es, die Entstehung und/oder Ausbreitung von Pflanzenerkrankungen auf den betroffenen Früchten einzudämmen bzw. vollständig zum Stillstand zu bringen, wodurch eine längere Lagerzeit der Ernte gewährleistet werden kann und insbesondere die Ausbreitung von pilzlichen Pathogenen unterdrückt werden kann.

**[0029]** Insbesondere bevorzugt wird die Zubereitung bei Pflanzenerkrankungen angewandt, die durch die pilzlichen Pathogene gewählt aus der Gruppe *Neofabraea* spp, insbesondere *Pezizula malicorticis*, *Botrytis* spp., *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Coletotrichum* spp. hervorgerufen werden. Bei diesen pilzlichen Pathogenen, insbesondere bei *N. malicorticis* und *B. cinerea*, können die besten Ergebnisse erzielt werden und insbesondere eine Ausbreitung der Pflanzenerkrankung bei betroffenen Pflanzen nahezu vollständig unterdrückt werden und auch eine gute Prophylaxe gegen das Auftreten der Pflanzenerkrankungen zur Verfügung gestellt werden.

**[0030]** Die höchsten synergistischen Effekte werden erzielt, wenn, wie dies einer Weiterbildung der Erfindung entspricht, die Zubereitung derart ausgebildet ist, dass *Aureobasidium pullulans* DSM 14940 und DSM 14941 jeweils in einem Zellmengenverhältnis von  $1 \times 10^6$  bis  $2 \times 10^7$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^6$  bis  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung, insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung und die chemischen Fungizide Fludioxonil oder Cyprodinil in einer Konzentration von vorzugsweise 0,0025 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,125 g/l Zubereitung bis 0,25 g/l Zubereitung für Fludioxonil bzw. 0,00375 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,1875 g/l Zubereitung bis 0,375 g/l Zubereitung für Cyprodinil enthalten sind. Mit einer derartigen Zubereitung können Synergismusfaktoren bis zu 1,5 erzielt werden.

**[0031]** Eine besonders bevorzugte Verwendung gemäß der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass die pilzlichen Pathogene, insbesondere *Botrytis cinerea* sowie *Neofabraea malicorticis* (*Pezizula malicorticis*), gegenüber wenigstens einem chemischen Fungizid eine Resistenz und/oder verringerte Empfindlichkeit bzw. Sensitivität aufweisen. Wenn die pilzlichen Pathogene gegenüber wenigstens einem chemischen Fungizid eine Resistenz oder verringerte Empfindlichkeit aufweisen, kann die Zubereitung gemäß der Erfindung eingesetzt werden, da die pilzlichen Pathogene empfindlich gegenüber der eingesetzten Zubereitung sind und die Pathogene erfolgreich unschädlich gemacht werden. Überraschender Weise konnte hierbei insbesondere auch ein chemisches Fungizid zum Einsatz gebracht werden, gegenüber welchem die Resistenz deutlich ausgebildet war. Es wird damit begründet, dass die Pathogene zur Aufrechterhaltung der Resistenz Energie aufwenden müssen, die sie durch den Einsatz der *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 und deren antagonistische Wirkung als Nahrungskonkurrent nicht aufbringen können, und so das chemische Fungizid wieder uneingeschränkt zur Wirkung gebracht werden kann.

**[0032]** Bevorzugt wird hierbei das wenigstens eine chemische Fungizid sowie wenigstens, eine die *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 enthaltende Mischung in synergistisch wirkenden Mengen eingesetzt. Durch einen derartigen Einsatz kann die Menge an eingesetzten fungiziden Substanzen, und zwar sowohl biologischen als auch chemischen gegenüber den Einzelsubstanzen deutlich herabgesetzt werden, ohne dass die fungizide Wirkung herabgesetzt würde. Auf diese Weise gelingt es einerseits, die Umweltbelastung durch die nicht

unbedenklichen chemischen Fungizide deutlich zu verringern und überdies einen sicheren und zuverlässigen Schutz von Früchten zu erzielen, insbesondere einen Schutz vor pilzlichen Pathogenen, wie *N. malicortcis*, *B. cinerea*, *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Coletotrichum* spp.

**[0033]** Das wenigstens eine chemische Fungizid wird hierbei aus der Gruppe Cyprodinil, Fludioxonil oder einer Kombination aus Cyprodinil und Fludioxonil, insbesondere aus einer Mischung aus Cyprodinil und Fludioxonil in einem Gewichtsverhältnis von 2:1 bis 1:2, vorzugsweise von 2:1 bis 1:1, insbesondere von 1,5:1 gewählt. Indem das chemische Fungizid als Mischung aus Cyprodinil und Fludioxonil in einem Gewichtsverhältnis von 2:1 bis 1:2, insbesondere 1,5:1 eingesetzt wird, kann ein besonders breiter Schutz gegen eine Mehrzahl von pilzlichen Pathogenen erreicht werden.

**[0034]** Die eingesetzte Menge an chemischen Fungiziden kann hierbei noch weiter herabgesetzt werden, wenn die *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 in einer einem Zellmengenverhältnis von 2:1 bis 1:2, vorzugsweise 1:1 eingesetzt werden. Das Zellmengenverhältnis bezieht sich insbesondere auf die eingesetzte Zellzahl.

**[0035]** Die Erfindung betrifft schließlich ein Verfahren zur Prophylaxe oder zur Reduktion der Ausbreitung von wenigstens einer durch einen pilzlichen Pathogen ausgelösten Pflanzenerkrankung, welches im Wesentlichen dadurch gekennzeichnet ist, dass

**[0036]** a) wenigstens ein chemisches Fungizid bestehend aus Fludioxonil oder einer dieses enthaltenden Mischung und

**[0037]** b) eine Mischung enthaltend wenigstens die *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941

**[0038]** gemeinsam in einer Zubereitung gemischt, gelöst oder suspendiert werden wenigstens einmal auf eine Kulturpflanze aufgebracht werden, wobei a) insbesondere 2,5 g/ha bis 5000 g/ha, vorzugsweise 10 g/ha bis 1000 g/ha, insbesondere 125 g/ha bis 250 g/ha Fludioxonil aufgebracht werden und b) pro Anwendung jeweils  $1 \times 10^{11}$  bis  $1 \times 10^{14}$  Zellen/ha, vorzugsweise  $1 \times 10^{12}$  bis  $2 \times 10^{13}$  Zellen/ha Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^{12}$  bis  $3,33 \times 10^{12}$  Zellen/ha Zubereitung insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen/ha der *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 auf der Kulturpflanze, insbesondere durch Versprühen, Vernebeln oder Beregnen aufgebracht werden.

**[0039]** Mit einem derartigen Verfahren gelingt es pilzliche Pathogene, deren Lebensraum oder die von ihm freizuhaltenden Obst-, Wein-, und Gemüsekulturen, insbesondere Äpfel, Weintrauben, Erdbeeren, und Kürbisgewächsen, wie Zucchini und Speisekürbissen durch Aufbringung von wenigstens einem chemischen Fungizid und der beiden *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 unschädlich zu machen. Vorzugsweise wird das Verfahren so geführt, dass eine Zubereitung durch Versprühen, Vernebeln oder Beregnen aufgebracht wird. Mit einem derartigen Verfahren gelingt es trotz, des Einsatzes von geringen Mengen der chemischen Fungizide und biologischen Fungizide eine Wirkzubereitung auf die zu behandelnden Pflanzen, Obst- oder Gemüsesorten, insbesondere Äpfel, aufzubringen, welche sicher und zuverlässig die pilzlichen Pathogene, wie *Neofabraea* spp., *Botrytis* spp., *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Coletotrichum* spp., insbesondere *N. malicortcis* (*Pezicula malicortcis*) und *B. cinerea* abtötet bzw. deren Ausbreitung eindämmt. Wichtig für das Auftreten der synergistischen Wirkung ist, dass die Komponenten a) und b) gemeinsam und zeitgleich auf der Kulturpflanze vorhanden sind. Es ist möglich Komponenten a) und b) getrennt voneinander aufzubringen, oder auch die beiden *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 der Komponente b) getrennt voneinander aufzubringen, solange diese auf der Kulturpflanze zur selben Zeit vorliegen bzw. einwirken. Es ist möglich a) und b) bzw. die einzelnen *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 in separaten Tankmischungen auf die gewünschte Menge bzw. Konzentration einzustellen und entsprechend der gewünschten Ausbringungsmenge pro Hektar (ha) zeitgleich oder zeitlich knapp hintereinander, insbesondere am gleichen Tag bzw. innerhalb von 24 Stunden, auf die Kulturpflanzen aufzubringen. Der Einfachheit halber und aus Kostengründen ist jedoch die gemeinsame Aufbringung der Komponenten a) und b), d.h.

die Komponenten a) und b) liegen in derselben Tankmischung bzw. Zubereitung vor, bevorzugt.

**[0040]** Hierbei wird das Verfahren so geführt, dass a) und b) gemeinsam in einer Zubereitung gemischt, gelöst oder suspendiert werden und dass die Zubereitung auf die Kulturpflanze aufgebracht wird. Mit einer derartigen Verfahrensführung gelingt es unmittelbar eine gebrauchsfertige Lösung, Suspension oder Mischung herzustellen welche unmittelbar auf zu behandelte Kulturpflanzen aufgebracht werden kann.

**[0041]** Besonders gute Ergebnisse können hierbei dadurch erzielt werden, wenn pro Anwendung jeweils  $1 \times 10^{11}$  bis  $1 \times 10^{14}$  Zellen/ha, vorzugsweise  $1 \times 10^{12}$  bis  $2 \times 10^{13}$  Zellen/ha Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^{12}$  bis  $3,33 \times 10^{12}$  Zellen/ha Zubereitung, insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen/ha der einzelnen *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 aufgebracht werden. Durch Aufbringung derartiger Zellzahlen der *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 konnte eine wirkungsvolle Prophylaxe oder deutliche Reduktion der Ausbreitung von durch pilzliche Pathogene verursachten Pflanzenerkrankungen erreicht werden. Weiterhin konnte eine wirkungsvolle Prophylaxe oder deutliche Reduktion der Ausbreitung von durch pilzliche Pathogene verursachten Pflanzenerkrankungen erreicht werden, wenn als chemisches Fungizid Fludioxonil eingesetzt wird, wobei insbesondere 2,5 g/ha bis 5000 g/ha, vorzugsweise 10 g/ha bis 1000 g/ha, insbesondere 125 g/ha bis 250 g/ha aufgebracht werden.

**[0042]** Besonders wirkungsvoll ist, wenn das Verfahren so geführt wird, dass die wenigstens eine Aufbringung des wenigstens einen chemischen Fungizids und der wenigstens beiden *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941, insbesondere der Zubereitung, während der Blütephase der Kulturpflanze erfolgt. Durch eine Aufbringung der Zubereitung während der Blütephase der Kulturpflanze gelingt eine besonders effiziente Prophylaxe oder Reduktion der Ausbreitung von durch pilzliche Pathogene verursachten Pflanzenerkrankungen.

**[0043]** Zur Definition der Blütephase der Kulturpflanze wird in international übliche BBCH-Kodierung der Entwicklungsstadien herangezogen wurden, wobei die Blütephasen der Weinrebe hierin der BBCH-Kodierung 53, 55, 57 sowie 60-69 (Lorenz et al., Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe. Vitic. Enol. Sci. 49, 66-70, 1994) und der Erdbeere hierin der BBCH-Kodierung von 55-59, 60, 61, 65 sowie 67 (Meier et al., Phänologische Entwicklungsstadien des Kernobstes, des Steinobstes, der Johannisbeere und der Erdbeere. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz, 46, 141-153, 1994) entspricht. Ein mehrmaliges Aufbringen der Komponenten a) und b) während der Blütephase bzw. während der Blütephase und in den darauffolgenden Entwicklungsstadien, nämlich der Fruchtentwicklung sowie der Fruchtreife können die synergistische Wirkung weiter steigern.

**[0044]** Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert.

**[0045]** Beispiel 1: *Aureobasidium pullulans* Stämme und chemische Fungizide zur Bekämpfung von pilzlichen Pflanzenpathogenen

**[0046]** Die Wirkung der *Aureobasidium pullulans* Stämme AP 241, AP 268 (die Stämme AP 241 und AP 268 werden bei der DSM hinterlegt), DSM 14940 und DSM 14941 (einzeln bzw. in Kombination) gemeinsam mit den chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil (einzeln bzw. in Kombination) gegen die pilzlichen Pflanzenpathogene Botrytis und Neofabraea wurde in einem Apfeltest bestimmt. Pro Behandlung wurden 12 unbehandelte Äpfel von gleicher Sorte mit einheitlichem Reifegrad und Größe verwendet. Vor dem Test wurden die Äpfel für drei Minuten in 70 % Ethanol oberflächensterilisiert und unter der Sterilbank getrocknet. Pro Apfel wurden in der äquatorialen Ebene zwischen Calyx und Stiel mit einer sterilen Pipettenspitze vier Wunden mit einem Wunddurchmesser von 5 mm in gleichem Abstand gesetzt. Pro Apfel wurden unmittelbar nach Herstellung der vier künstlichen Wunden, jeweils 10 µl von unterschiedlichen Testlösungen (Zubereitungen) aufgebracht. Im Anschluss wurden die Äpfel gelagert. Um die Wunden bildete sich eine Faulstelle, deren Durchmesser ein Maß für die Ausbreitung der Infektion des Pathogens darstellt. Für die Auswertung wurde der Durchmesser der Einstiche von je 0,5 cm vom Faulstellendurchmesser abgezogen.



[0047] Die 4 Testlösungen die in jeweils eine der 4 Wunden pro Apfel gegeben wurden, waren:

[0048] 1. Pathogen (negative Kontrolle)

[0049] 2. Pathogen und Aureobasidium (einzeln bzw. in Kombination)

[0050] 3. Pathogen und chemisches Fungizid (einzeln bzw. in Kombination)

[0051] 4. Pathogen und Aureobasidium (einzeln bzw. in Kombination) und chemisches Fungizid (einzeln bzw. in Kombination)

[0052] Aus den Faulstellendurchmessern, die am Ende der Lagerung gemessen wurden, wurden für die Testlösungen 2 bis 4 die Wirkungsgrade der Hemmung des Pathogens errechnet. Dieser Wirkungsgrad entspricht der prozentuellen Abnahme des Faulstellendurchmessers im Vergleich zur jeweiligen negativen Kontrolle. Wäre z.B. der Faulstellendurchmesser von Testlösung 1: 5 cm und der der Testlösungen 2, 3 bzw. 4 je 1 cm so wäre der Wirkungsgrad von Testlösung 2 bis 4 jeweils 80 %. Der Wirkungsgrad der negativen Kontrolle ist per Definition Null.

[0053] Aus den Wirkungsgraden (WG) der Einzelkomponenten in den Testlösungen 2 und 3 wurden nach der Colby-Formel (S.R. Colby „Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations“, Weeds 15, Seite 20 bis 22, 1967) Erwartungswerte (E) der Wirkung der Kombination aus Aureobasidium und chemischen Fungizid (Testlösung 4) nach folgender Formel berechnet werden.

[0054]  $E = WG\ X + (WG\ Y / 100) \times (100 - WG\ X)$

[0055] E ... Erwartungswert

[0056] WG X... Wirkungsgrad Einzelkomponente X

[0057] WG Y ... Wirkungsgrad Einzelkomponente Y

[0058] Ist der gemessene Wirkungsgrad der Kombination der Aureobasidium pullulans Stämme und chemischen Fungizid (Testlösung 4) größer als der errechnete Erwartungswert (E), spricht man von einem synergistischen Effekt (die Einzelkomponenten verstärken sich gegenseitig überadditiv). Der Synergismuskoeffizient ist ein Maß für den synergistischen Effekt und wurde berechnet als Quotient aus Wirkungsgrad der Kombination der Substanzen bzw. Komponenten (Testlösung 4) und dem errechneten Erwartungswert (E). Ist der Synergismuskoeffizient größer gleich 1,1 ist die Wirkung der Kombination synergistisch gegenüber der Wirkung der Einzelkomponenten. Wird in diesem Dokument von „Synergismus“ oder „synergistisch wirkend“ oder „Synergistische Wirkung“ oder dergleichen gesprochen, bezieht sich dies immer auf Kombinationen mit einem Synergismuskoeffizient von größer gleich 1,1, im Vergleich zu den Einzelkomponenten der Kombination. Pro Versuchsanordnung, bestehend auf den Testlösungen 1 bis 4, wurden 12 Replikate (12 Äpfel) untersucht.

Getestete pilzliche Pflanzenpathogene:

[0059] Botrytis spp.:

[0060] Botrytis cinerea Bc97

[0061] (der Stamm Botrytis cinerea Bc97 wird bei der DSM hinterlegt)

[0062] Dieser Stamm besitzt Resistenzen gegen die chemischen Fungizide Strobilurin, Boscalid und Cyprodinil sowie eine verringerte Sensitivität gegen Fludioxonil.

[0063] Botrytis cinerea 12/4

[0064] (der Stamm Botrytis cinerea Bc12/4 wird bei der DSM hinterlegt)

[0065] Dieser Stamm besitzt gegenüber chemischen Fungiziden keine bekannten verringerten Sensitivitäten bzw. Resistenzen.

[0066] Neofabraea spp.: Pezicula malicorticis 160622 (DSM 62715)

#### Pathogenlösungen:

**[0067]** Zur Herstellung der Pathogenlösungen wurden von mit Pathogen bei 20 °C bewachsenen ME-Nähragarplatten (ME-Agar: 30 g Malzextrakt, 15 g Agar, 5 g Pepton auf 1000 ml destilliertes Wasser) Konidien von einer Fläche von ca. 1-2 cm mal 2 cm abgenommen und in 10 ml Wasser mit einem Douncer suspendiert. Danach wurde die Konidienkonzentration in der Thomakammer mikroskopisch ausgezählt und mit Wasser auf die gewünschte Konzentration eingestellt.

#### **[0068]** Botrytis

**[0069]** Endkonzentration der Konidien in der Testlösung:  $2 \times 10^5$  Konidien/ml

**[0070]** Konzentration der Konidien in der 2 x konzentrierten Pathogenlösung:  $4 \times 10^5$  Konidien/ml

#### **[0071]** Neofabraea

**[0072]** Endkonzentration der Konidien in der Testlösung:  $1 \times 10^6$  Konidien/ml

**[0073]** Konzentration der Konidien in der 2 x konzentrierten Pathogenlösung:  $2 \times 10^6$  Konidien/ml

#### Aureobasidium pullulans Stämme:

**[0074]** DSM 14940

**[0075]** DSM 14941

**[0076]** AP 241 isolierter Aureobasidium pullulans Stamm

**[0077]** AP 268 isolierter Aureobasidium pullulans Stamm

**[0078]** (die Stämme AP 241 und AP 268 werden bei der DSM hinterlegt)

#### Aureobasidium pullulans Konzentrationen:

**[0079]** Die Aureobasidium pullulans Stämme DSM 14940, DSM 14941, AP 241 und AP 268 wurden auf Nähragarplatten (YM-Agar: 3 g Hefeextrakt, 3 g Malzextrakt, 5 g Pepton, 10 g Glukose und 20 g Agar auf 1000 ml destilliertes Wasser) bei 27 °C kultiviert und die Zellen wurden mit 0,6 %iger NaCl Lösung geerntet. Die Konzentration der Hefezellen wurde in der Thomazählkammer mikroskopisch ausgezählt und mit Wasser auf die gewünschte Konzentration eingestellt. Untersuchungen der Zellviabilität sowie der Koloniebildenden Einheiten ergaben, dass >99,9% der Zellen viabel sind und Kolonien ausbilden können. Somit stehen die Angabe der Zellen insbesondere der Zellen/ml hierin auch synonym für Koloniebildende Einheiten (KBE) und insbesondere für KBU/ml.

**[0080]** 2 x konzentrierte Aureobasidiumlösung:  $1 \times 10^7$  Zellen/ml

**[0081]** 4 x konzentrierte Aureobasidiumlösung:  $2 \times 10^7$  Zellen/ml

#### **[0082]** Endkonzentrationen in der Testlösung (Zubereitung):

**[0083]** DSM 14940, DSM 14941, AP 241 und AP 268:  $5 \times 10^6$  Zellen/ml

**[0084]** AP 1: 1:1 Mischung aus DSM 14940 und DSM 14941:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941

**[0085]** AP 2: 1:1 Mischung aus DSM 14940 und AP 241:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml AP 241

**[0086]** AP 3: 1:1 Mischung aus DSM 14940 und AP 268:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml AP 268

**[0087]** AP 4: 1:1 Mischung aus DSM 14941 und AP 241:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml AP 241

**[0088]** AP 5: 1:1 Mischung aus DSM 14941 und AP 268:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml AP 268

**[0089]** AP 6: 2:1 Mischung aus DSM 14940 und DSM 14941 ( $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $1,67 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941)

**[0090]** AP 7: 1:2 Mischung aus DSM 14940 und DSM 14941 ( $1,67 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941)

Chemische Fungizide:

**[0091]** Es wurden folgende chemische Fungizide mit in den in der Tabelle angegebenen Konzentration eingesetzt:

#	Konzentration des Wirkstoffs des chemische Fungizids in der Testlösung bzw. Zubereitung	2 x konzentrierte chemische Fungizidlösung	4 x konzentrierte chemische Fungizidlösung
A	0,01875 % (w/v) Cyprodinil (= 0,1875 g/l Zubereitung) 0,01250 % (w/v) Fludioxonil (= 0,125 g/l Zubereitung)	0,0375 % (w/v) Cyprodinil 0,0250 % (w/v) Fludioxonil	0,075 % (w/v) Cyprodinil 0,050 % (w/v) Fludioxonil
B	0,01250 % (w/v) Fludioxonil (= 0,125 g/l Zubereitung)	0,0250 % (w/v) Fludioxonil	0,050 % (w/v) Fludioxonil
C	0,01875 % (w/v) Cyprodinil (= 0,1875 g/l Zubereitung)	0,0375 % (w/v) Cyprodinil	0,075 % (w/v) Cyprodinil

Testlösungen pro Wunde:

Wunde/ Testlösung	Ansatz	Zusammensetzung der in die Apfelwunde aufgetragenen Testlösung
1	Pathogenkontrolle	5 µl 2 x konzentrierte Pathogenlösung 5 µl Wasser
2	Pathogen + Aureobasidium	5 µl 2 x konzentrierte Pathogenlösung 5 µl 2 x konzentrierte Aureobasidiums-lösung
3	Pathogen + chemisches Fungizid	5 µl 2 x konzentrierte Pathogenlösung 5 µl 2 x konzentrierte chemische Fungizidlösung
4	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	5 µl 2 x konzentrierte Pathogenlösung 2,5 µl 4 x konzentrierte Aureobasidiums-lösung 2,5 µl 4 x konzentrierte chemische Fungizidlösung

**[0092]** Ergebnisse

**[0093]** Botrytis cinerea Bc97

**[0094]** Testsystem: Äpfel der Sorte Jonagold Honsel

**[0095]** Lagerungstemperatur: 20 °C; Lagerdauer: 6 Tage

**[0096]** Pathogen: Botrytis cinerea Bc97

**[0097]** Aureobasidium pullulans Stämme: DSM 14940, DSM 14941, AP 241, AP 268

**[0098]** Chemische Fungizide: Fludioxonil, Cyprodinil

	Aureobasidium Stamm	DSM 14940	DSM 14941	AP 241	AP 268
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,125 g/l Fludioxonil			
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,18	3,44	3,03	2,62
	Pathogen + Aureobasidium	3,03	2,65	2,80	2,45
	Pathogen + chemisches Fungizid	0,68	0,28	0,48	0,53
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	0,78	0,40	0,42	0,45
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	4,7	23,0	7,7	6,4
	Pathogen + chemisches Fungizid	78,8	91,8	84,3	79,9
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	75,7	88,4	86,3	82,8
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	79,8	93,7	85,5	81,2
Synergismusfaktor		1,0	0,9	1,0	1,0

	Aureobasidium Stamm	DSM 14940	DSM 14941	AP 241	AP 268
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil			
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,41	3,56	2,95	3,13
	Pathogen + Aureobasidium	3,30	3,45	2,88	2,96
	Pathogen + chemisches Fungizid	2,80	3,14	2,21	2,52
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	2,73	3,04	2,18	2,49
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	3,2	3,1	2,4	5,4
	Pathogen + chemisches Fungizid	17,9	11,8	25,1	19,5
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	19,9	14,6	26,1	20,4
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	20,5	14,5	26,9	23,9
Synergismusfaktor		1,0	1,0	1,0	0,9

	Aureobasidium Stamm	DSM 14940	DSM 14941	AP 241	AP 268
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil 0,125 g/l Fludioxonil			
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,65	3,56	2,95	3,13
	Pathogen + Aureobasidium	1,45	1,77	1,65	1,57
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,73	1,93	1,64	1,82
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	1,54	1,38	1,26	1,25
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	60,3	50,3	44,1	49,8
	Pathogen + chemisches Fungizid	52,6	45,8	44,4	41,9
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	57,8	61,2	57,3	60,1
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	81,2	73,0	68,9	70,8
Synergismusfaktor		0,7	0,8	0,8	0,8

**[0099]** Aus oben stehenden Tabellen ist klar erkennbar, dass die Anwendungen der einzelnen Aureobasidium pullulans Stämme gemeinsam mit den chemischen Fungiziden Fludioxonil bzw. Cyprodinil als auch gemeinsam mit der der Mischung aus Fludioxonil und Cyprodinil keine synergistische Wirkung besitzen.

	Aureobasidium Stamm	AP1: DSM 14940 + DSM 14941		
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil 0,125 g/l Fludioxonil	0,125 g/l Fludioxonil	0,1875 g/l Cyprodinil
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	4,17	4,21	4,17
	Pathogen + Aureobasidium	1,42	1,50	2,33
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,83	1,17	3,63
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	0,33	0,08	1,83
Wirkungsgrad	Pathoenkontrolle	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	66,0	64,4	44,0
	Pathogen + chemisches Fungizid	56,0	72,3	13,0
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	92,0	98,0	56,0
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	85,0	90,1	51,3
Synergismusfaktor		1,1	1,1	1,1

	Aureobasidium Stamm	AP 6: DSM 14940 + DSM 14941		
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil Zubereitung 0,125 g/l Fludioxonil	0,125 g/l Fludioxonil	0,1875 g/l Cyprodinil
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	4,02	4,11	3,89
	Pathogen + Aureobasidium	1,64	1,83	2,29
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,74	1,62	3,51
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	0,41	0,05	1,67
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	59,2	55,5	41,1
	Pathogen + chemisches Fungizid	56,7	60,6	9,8
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	89,8	98,8	57,1
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	82,3	82,4	46,9
Synergismuskoeffizient		1,1	1,2	1,2

	Aureobasidium Stamm	AP 7: DSM 14940 + DSM 14941		
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil 0,125 g/l Fludioxonil	0,125 g/l Fludioxonil	0,1875 g/l Cyprodinil
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,68	3,74	4,00
	Pathogen + Aureobasidium	1,78	1,96	2,51
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,83	2,04	3,38
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	0,32	0,54	1,78
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	51,6	47,6	37,3
	Pathogen + chemisches Fungizid	50,3	45,5	15,5
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	91,3	85,6	55,5
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	75,9	71,4	47,0
Synergismuskoeffizient		1,2	1,2	1,2

**[00100]** Aus oben stehender Tabelle ist klar erkennbar, dass die Anwendung von Mischungen der beiden Aureobasidium Stämme DSM 14940 und DSM 14941 gemeinsam mit den chemischen Fungiziden Cyprodinil bzw. Fludioxonil als auch gemeinsam mit der Mischung aus Cyprodinil und Fludioxonil deutliche synergistische Wirkungen besitzen. Der Wirkungsgrad der Zubereitungen aus DSM 14940 und DSM 14941 mit den chemischen Fungizid(en) (Testgruppen 4) liegen jeweils deutlich über dem errechneten Erwartungswert (E). Der Synergismuskfaktor ist größer gleich 1,1.

**[00101]** In der AP 1 sowie in der AP 6 Gruppe jeweils gemeinsam mit Fludioxonil kam zu nahezu keiner Fäulnisbildung (Durchmesser der Faulstelle von 0,08 cm bzw. 0,05 cm), was die sehr gute prophylaktische Wirkung der erfinderischen Zubereitungen bestätigt. Bei den restlichen Versuchen der Gruppen AP 1, AP 6 und AP 7 zeigten sich deutliche Reduktionen der Fäulnisbildungen, was die Reduktion der Ausbreitung der Pilzerkrankung durch die erfinderischen Zubereitungen zeigt.

	Aureobasidium Stamm	AP 2: DSM 14940+ AP 241	AP 3: DSM 14940+ AP 268	AP 4: DSM 14941 + AP 241	AP 5: DSM 14941+ AP 268
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,125 g/l Fludioxonil			
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,13	3,18	2,99	2,98
	Pathogen + Aureobasidium	2,97	2,83	2,73	2,70
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,61	1,53	1,53	1,34
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	1,54	1,47	1,62	1,52
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	5,1	11,0	8,9	9,5
	Pathogen + chemisches Fungizid	48,5	51,8	48,9	55,1
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	50,7	53,7	45,8	49,1
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	51,1	57,1	53,4	59,3
Synergismuskfaktor		1,0	0,9	0,9	0,8

**[00102]** Die synergistische Wirkung von Mischungen von AP 1, AP 6 und AP 7 mit den beiden chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil gegenüber dem Pathogen Botrytis cinerea Bc97 wurde analog zu obigen Versuchen auch mit unterschiedlichen Konzentrationen an chemischem Fungizid bestätigt.

**[00103]** Für Cyprodinil konnte für allen Konzentrationen, nämlich 0,02 g/l; 0,06 g/l; 0,125 g/l; 0,375 g/l; 0,5 g/l und 1 g/l Zubereitung die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskfaktor größer gleich 1,1), wobei für die Konzentrationen 0,125 g/l und 0,375 g/l jeweils der höchste Synergismuskfaktor bestimmt wurde.

**[00104]** Für Fludioxonil konnte für alle Konzentrationen, nämlich 0,01 g/l; 0,05 g/l; 0,125 g/l; 0,25 g/l; 0,5 g/l und 1 g/l die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskfaktor größer gleich 1,1), wobei für die Konzentrationen 0,125 g/l und 0,25 g/l jeweils der höchste Synergismuskfaktor bestimmt wurde.

**[00105]** Botrytis cinerea 12/4

**[00106]** Testsystem: Äpfel der Sorte Jonagold Honsel

**[00107]** Lagerungstemperatur: 20 °C; Lagerdauer: 7 Tage

**[00108]** Pathogen: Botrytis cinerea 12/4 (keine Sensitivität bzw. Resistenz gegenüber Fludioxonil und/oder Cyprodinil)

**[00109]** Aureobasidium: DSM 14940, DSM 14941 und AP 1

**[00110]** Chemische Fungizide: Fludioxonil, Cyprodinil; es wurde nur 1/50 der oben angegebenen Menge an chemischem Fungizid eingesetzt.

	Aureobasidium Stamm	DSM 14940	DSM 14941	AP 1: DSM 14940 + DSM 14941
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,000375% Cyprodinil (= 0,00375 g/l Zubereitung) 0,00025% Fludioxonil (= 0,0025 g/l Zubereitung)		
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	3,60	3,57	3,63
	Pathogen + Aureobasidium	1,88	2,22	1,64
	Pathogen + chemisches Fungizid	1,45	1,67	1,38
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	1,53	1,58	0,03
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + Aureobasidium	47,8	37,8	54,8
	Pathogen + chemisches Fungizid	59,7	53,2	62,0
	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	57,5	55,7	99,1
Erwartungswert (E)	Pathogen + Aureobasidium + chemisches Fungizid	79,0	70,9	82,8
Synergismuskoeffizient		0,7	0,8	1,2

**[00111]** Aus oben stehender Tabelle ist klar erkennbar, dass nur die Anwendung der Mischung aus beiden Aureobasidium Stämmen DSM 14940 und DSM 14941 gemeinsam mit den chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil (AP 1 Gruppe) eine synergistische Wirkung besitzt. Der Wirkungsgrad der Testgruppe 4 (Mischung der Aureobasidium Stämme + chemisches Fungizid) liegt hierfür deutlich über dem errechneten Erwartungswert (E). Der Synergismuskoeffizient ist größer gleich 1,1. Es kam zu nahezu keiner Fäulnisbildung (Durchmesser der Faulstelle von 0,03 cm), was die sehr gute prophylaktische Wirkung der erfinderischen Zubereitung bestätigt.

**[00112]** Die synergistische Wirkung von Mischungen von AP 1, AP 6 und AP 7 mit den beiden chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil gegenüber dem Pathogen Botrytis cinerea 12/4 wurde analog zu obigen Versuchen auch mit unterschiedlichen Konzentrationen an chemischem Fungizid bestätigt.

**[00113]** Für Cyprodinil konnte für allen Konzentrationen, nämlich 0,001 g/l; 0,00375 g/l; 0,005 g/l; 0,01 g/l; 0,05 g/l; 0,1 g/l und 0,1875 g/l Zubereitung die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskoeffizient größer gleich 1,1).

**[00114]** Für Fludioxonil konnte für alle Konzentrationen, nämlich 0,001 g/l; 0,0025 g/l; 0,005 g/l; 0,01 g/l; 0,05 g/l; 0,1 g/l und 0,125 g/l Zubereitung die synergistische Wirkung bestätigt werden.



(Synergismusfaktor größer gleich 1,1).

**[00115]** Da die eingesetzten Mengen an chemischen Fungiziden vom Pathogen selbst, insbesondere aber von seinen Resistenzen bzw. verminderten Sensitivitäten gegenüber den einzelnen chemischen Fungiziden abhängt, ist davon auszugehen, dass für manche Pathogene auch eine höhere oder geringere Einsatzmenge des chemischen Fungizids ausreicht, um mit der *Aureobasidium pullulans* Mischung aus DSM 14940 und DSM 14941 synergistisch zu wirken.

**[00116]** *Neofabraea* spp:

**[00117]** Testsystem: Äpfel der Sorte Eistar Fuchshof

**[00118]** Lagerungstemperatur: 20 °C; Lagerdauer: 16 Tage

**[00119]** Pathogen: *Pezicula malicorticis* 160622 (DSM 62715)

**[00120]** *Aureobasidium*: DSM 14940, DSM 14941 und AP 1 (anders als oben angegeben war hier die Gesamtkonzentration der eingesetzten *Aureobasidium pullulans* Stämme bei  $1 \times 10^7$  Zellen/ml)

**[00121]** Chemische Fungizide: Fludioxonil, Cyprodinil

	Aureobasidium Stamm	AP 1 (DSM 14940 + DSM 14941)		
	Chemisches Fungizid (w/v)	0,1875 g/l Cyprodinil 0,125 g/l Fludioxonil	0,125 g/l Fludioxonil	0,1875 g/l Cyprodinil
Mittlerer Durchmesser Faulstellen (cm)	Pathogenkontrolle	1,90	1,84	1,94
	Pathogen + <i>Aureobasidium</i>	1,30	1,23	1,44
	Pathogen + chemisches Fungizid	0,94	1,91	1,61
	Pathogen + <i>Aureobasidium</i> + chemisches Fungizid	0,33	1,09	0,83
Wirkungsgrad	Pathogenkontrolle	0,0	0,0	0,0
	Pathogen + <i>Aureobasidium</i>	31,6	33,2	25,8
	Pathogen + chemisches Fungizid	50,5	-3,8	17,0
	Pathogen + <i>Aureobasidium</i> + chemisches Fungizid	82,6	40,8	57,2
Erwartungswert (E)	Pathogen + <i>Aureobasidium</i> + chemisches Fungizid	66,8	30,6	38,4
Synergismusfaktor		1,1	1,3	1,5

**[00122]** Aus oben stehender Tabelle ist klar erkennbar, dass die Anwendung der beiden *Aureobasidium* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 gemeinsam mit den chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil eine deutliche synergistische Wirkung besitzen. Der Wirkungsgrad der Pathogen + *Aureobasidium* + chemisches Fungizid (Testgruppe 4) liegt jeweils deutlich über dem errechneten Erwartungswert (E). Der Synergismusfaktor ist größer gleich 1,1.

**[00123]** Weiterhin wurden auch die Einzelstämme in einer Konzentration von  $1 \times 10^7$  Zellen/ml in der Testlösung mit den chemischen Fungiziden Cyprodinil (0,01875 % (w/v) = 0,1875 g Cyprodinil pro l Zubereitung) und Fludioxonil (0,01250 % (w/v) = 0,125 g Fludioxonil pro l Zubereitung) einzeln und in Kombination (0,01875% (w/v) Cyprodinil; 0,01250 % (w/v) Fludioxonil) getestet. Der Synergismusfaktor war dabei kleiner gleich 1,0 und somit ist die Anwendung der

chemischen Fungizide mit nur einem *Aureobasidium pullulans* Stamm nicht synergistisch.

**[00124]** Die synergistische Wirkung von Mischungen von AP 1, AP 6 und AP 7 mit den beiden chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil gegenüber dem Pathogen *Pezizula malicorticis* 160622 wurde analog zu obigen Versuchen auch mit unterschiedlichen Konzentrationen an chemischem Fungizid bestätigt.

**[00125]** Für Cyprodinil konnte für allen Konzentrationen, nämlich 0,02 g/l; 0,06 g/l; 0,125 g/l; 0,375 g/l; 0,5 g/l und 1 g/l Zubereitung die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskfaktor größer gleich 1,1), wobei für die Konzentrationen 0,125 g/l und 0,375 g/l jeweils der höchste Synergismuskfaktor bestimmt wurde.

**[00126]** Für Fludioxonil konnte für alle Konzentrationen, nämlich 0,01 g/l; 0,05 g/l; 0,125 g/l; 0,25 g/l; 0,5 g/l und 1 g/l die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskfaktor größer gleich 1,1), wobei für die Konzentrationen 0,125 g/l und 0,25 g/l jeweils der höchste Synergismuskfaktor bestimmt wurde.

**[00127]** Beispiel 2: Feldversuche

**[00128]** In Freilandversuchen (Feldversuchen) konnte bei der Bekämpfung von *Botrytis* spp., im Wesentlichen von *Botrytis cinerea*, beim Wein (Tafeltrauben) und bei Erdbeeren gezeigt werden, dass die Tanksprühmischung (Zubereitung) von *Aureobasidium pullulans* DSM 14941 und DSM 14940 gemeinsam mit den chemischen Wirkstoffen Cyprodinil und Fludioxonil den Wirkungsgrad auf den Pathogen synergistisch steigern konnten.

**[00129]** TESTSYSTEM A: Tafeltrauben (*Vitis vinifera*)

**[00130]** Ort: Italien

**[00131]** Dauer: 11. September bis 11. November 2014

**[00132]** Anzahl / Art der Aufbringung der Tanksprühmischungen: 5 identische Behandlungen zu je 1.000 l/ha. Die Tankmischungen wurden durch Sprühen aufgebracht. Die Sprühanwendung erfolgte jeweils entsprechend der BBCH-Kodierung der phänologischen Entwicklungsstadien der Weinrebe (Lorenz et al., Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe. Vitic. Enol. Sci. 49, 66-70, 1994) in folgenden Entwicklungsstadien:

**[00133]** BBCH 53: «Gescheine» (Infloreszenzen) deutlich sichtbar

**[00134]** TESTSYSTEM B: Erdbeeren (*Fragaria ananassa*)

**[00135]** Ort: Österreich

**[00136]** Dauer: 9. Mai bis 10. Juni 2016

**[00137]** Anzahl / Art der Aufbringung der Tankmischungen: 6 identische Behandlungen mit je 1.000 l/ha. Die Tankmischungen wurden durch Sprühen aufgebracht.

**[00138]** Die Sprühanwendung erfolgte jeweils entsprechend der BBCH-Kodierung der phänologischen Entwicklungsstadien der Erdbeere (Meier et al., Phänologische Entwicklungsstadien des Kernobstes, des Steinobstes, der Johannisbeere und der Erdbeere. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz., 46, 141-153, 1994) in folgenden Entwicklungsstadien:

**[00139]** BBCH 55: Erste Blütenanlagen werden am Rosettengrund sichtbar

**[00140]** Es wurden dabei in den jeweiligen Versuchsgruppen folgende Sprühmischung direkt auf die Feldfrüchte aufgetragen:

**[00141]** Gruppe 1: unbehandelte Kontrolle

**[00142]** Gruppe 2: mit Cyprodinil und Fludioxonil behandelt; Konzentrationen in der Tankmischung: 0,1875 g/l Cyprodinil und 0,125 g/l Fludioxonil. Somit wurden pro Hektar (ha) 187,5 g Cyprodinil und 125 g Fludioxonil auf die Pflanzenkulturen aufgebracht.

**[00143]** Gruppe 3: mit AP 1 behandelt; *Aureobasidium pullulans* Konzentrationen in der Tank-

Mischung:  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941. Somit wurden pro Hektar (ha)  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen DSM 14940 und  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen DSM 14941 aufgebracht.

**[00144]** Gruppe 4: mit Cyprodinil und Fludioxonil sowie mit AP 1 behandelt; Konzentrationen in der Tankmischung (= Zubereitung): 0,1875 g/l Cyprodinil und 0,125 g/l Fludioxonil sowie  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941. Somit wurden pro Hektar (ha) 187,5 g Cyprodinil und 125 g Fludioxonil auf die Pflanzenkulturen sowie  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen DSM 14940 und  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen DSM 14941 aufgebracht.

Synergie von AP 1+ Mischung Cyprodinil und Fludioxonil	Feldfrucht	Tafeltraube	Erdbeere
Anteil der vom Pathogen befallenen Früchte [%]	Gruppe 1	27,30	62,30
	Gruppe 2	9,80	27,60
	Gruppe 3	15,10	45,80
	Gruppe 4	2,30	10,10
Wirkungsgrad	Gruppe 1	0,0	0,0
	Gruppe 2	64,1	55,7
	Gruppe 3	44,7	26,5
	Gruppe 4	91,6	83,8
Erwartungswert (E)	Gruppe 4	80,1	67,4
Synergismuskoeffizient		1,1	1,2

Berechnung des Wirkungsgrads: z.B. für Gruppe 4: Wirkungsgrad =  $[1 - (2,30/27,30)] \times 100$

**[00145]** Aus obiger Tabelle die synergistische Reduktion der Ausbreitung des Pathogens durch die gemeinsame Anwendung der AP 1 Mischung mit den chemischen Fungiziden deutlich zu erkennen. Der Synergismuskoeffizient ist jeweils größer gleich 1,1.

**[00146]** Analog zur obigen Tabelle wurden in den Feldversuchen (Tafeltraube und Erdbeere) auch weitere Gruppen folgende Gruppen getestet:

**[00147]** Gruppe 5: mit Cyprodinil behandelt; Konzentration von Cyprodinil in der Tankmischung: 0,1875 g/l; Ausbringung: 1.000 l/ha

**[00148]** Gruppe 6: mit Fludioxonil behandelt; Konzentration von Fludioxonil in der Tankmischung: 0,125 g/l; Ausbringung: 1.000 l/ha

**[00149]** Gruppe 7: mit Cyprodinil sowie mit AP 1 behandelt; Konzentrationen in der Tankmischung: 0,1875 g/l Cyprodinil sowie  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941; Ausbringung: 1.000 l/ha

**[00150]** Gruppe 8: mit Fludioxonil sowie mit AP 1 behandelt; Konzentrationen in der Tankmischung: 0,125 g/l Fludioxonil sowie  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14940 und  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml DSM 14941; Ausbringung: 1.000 l/ha

**[00151]** Bei analoger Auswertung der Gruppen 1, 3 und 5 bis 8 wurde auch für die Anwendung der AP 1 Mischung gemeinsam mit nur einem der beiden chemischen Fungizide jeweils im Vergleich zur Einzelanwendung (chemische Fungizid bzw. AP 1 Mischung) eine synergistische Wirkung festgestellt, d.h. ein Synergismuskoeffizient von größer gleich 1,1 erzielt.

**[00152]** Die synergistische Wirkung von Mischungen von AP 1 mit den beiden chemischen Fungiziden Cyprodinil und Fludioxonil gegenüber Pathogenen wurde analog zu obigen Feldversuchen auch mit unterschiedlichen Konzentrationen an chemischem Fungizid bestätigt.

**[00153]** Für Cyprodinil konnte für allen Ausbringungsmengen, nämlich 20 g/ha; 100 g/ha; 187,5 g/ha; 375 g/ha, 500 g/ha und 1000 g/ha, die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismuskoeffizient größer gleich 1,1), wobei für die Ausbringung von 187,5 g/ha und 375 g/ha jeweils

der höchste Synergismusfaktor bestimmt wurde.

**[00154]** Für Fludioxonil konnte für alle Ausbringungsmengen, nämlich 10 g/ha; 50 g/ha; 125 g/ha; 250 g/ha; 500 g/ha und 1000 g/ha die synergistische Wirkung bestätigt werden (Synergismusfaktor größer gleich 1,1), wobei für die Ausbringung von 125 g/ha und 250 g/ha jeweils der höchste Synergismusfaktor bestimmt wurde.

## Patentansprüche

1. Zubereitung enthaltend wenigstens ein chemisches Fungizid, **dadurch gekennzeichnet**, dass zusätzlich zu dem wenigstens einen chemischen Fungizid eine Mischung enthaltend wenigstens die Stämme-Aureobasidium pullulans DSM 14940 und DSM 14941 enthalten ist, wobei das wenigstens eine chemische Fungizid sowie die Mischung der Stämme Aureobasidium pullulans Stämme in einer Konzentration von  $1 \times 10^5$  bis  $1 \times 10^8$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1 \times 10^6$  bis  $2 \times 10^7$  Zellen/ml Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^6$  bis  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung vorliegen, wobei das wenigstens eine chemische Fungizid aus Fludioxonil besteht oder dieses beinhaltet und in einer Konzentration von 0,0025 g/l Zubereitung bis 5 g/l Zubereitung, vorzugsweise 0,01 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,125 g/l Zubereitung bis 0,25 g/l Zubereitung enthalten ist.
2. Zubereitung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Aureobasidium pullulans Stämme DSM 14940 und DSM 14941 in einem Zellmengenverhältnis von 2:1 bis 1:2, vorzugsweise 1:1 in der Zubereitung vorliegen.
3. Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass das chemische Fungizid gewählt ist aus einer Kombination aus Fludioxonil und wenigstens einem zweiten chemischen Fungizid aus der Gruppe Cyprodinil, Fenhexamid, Fenpyrazamine und Pyrimethanil.
4. Zubereitung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass das chemische Fungizid gewählt ist aus einer Kombination von Cyprodinil und Fludioxonil.
5. Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass Cyprodinil und Fludioxonil in einem Gewichtsverhältnis von 2:1 bis 1:2, vorzugsweise von 2:1 bis 1:1, insbesondere von 1,5:1 in der Zubereitung vorliegen.
6. Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass Aureobasidium pullulans DSM 14940 und DSM 14941 jeweils in einem Zellmengenverhältnis von  $1 \times 10^6$  bis  $2 \times 10^7$  Zellen/ml Zubereitung, insbesondere von  $1,67 \times 10^6$  bis  $3,33 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung, insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^6$  Zellen/ml Zubereitung und die chemischen Fungizide Fludioxonil oder Fludioxonil und Cyprodinil in einer Konzentration von vorzugsweise 0,0025 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,125 g/l Zubereitung bis 0,25 g/l Zubereitung für Fludioxonil bzw. 0,00375 g/l Zubereitung bis 1,0 g/l Zubereitung, insbesondere 0,1875 g/l Zubereitung bis 0,375 g/l Zubereitung für Cyprodinil enthalten sind.
7. Verwendung einer Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Prophylaxe oder zur Reduktion der Ausbreitung von durch pilzliche Pathogene verursachten Pflanzenerkrankungen.
8. Verwendung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die pilzlichen Pathogene gewählt sind aus der Gruppe Neofabraea spp. und Botrytis spp.
9. Verwendung nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass die pilzlichen Pathogene gegenüber wenigstens einem chemischen Fungizid eine Resistenz und/oder verringerte Sensitivität aufweisen.
10. Verfahren zur Prophylaxe oder zur Reduktion der Ausbreitung von wenigstens einer durch einen pilzlichen Pathogen ausgelösten Pflanzenerkrankung, **dadurch gekennzeichnet**, dass
  - a) wenigstens ein chemisches Fungizid bestehend aus Fludioxonil oder einer dieses enthaltenden Mischung und
  - b) eine Mischung enthaltend wenigstens die Aureobasidium pullulans Stämme DSM 14940 und DSM 14941gemeinsam in einer Zubereitung gemischt, gelöst oder suspendiert werden wenigstens einmal auf eine Kulturpflanze aufgebracht werden, wobei a) insbesondere 2,5 g/ha bis

5000 g/ha, vorzugsweise 10 g/ha bis 1000 g/ha, insbesondere 125 g/ha bis 250 g/ha Fludioxonil aufgebracht werden und b) pro Anwendung jeweils  $1 \times 10^{11}$  bis  $1 \times 10^{14}$  Zellen/ha, vorzugsweise  $1 \times 10^{12}$  bis  $2 \times 10^{13}$  Zellen/ha Zubereitung, vorzugsweise  $1,67 \times 10^{12}$  bis  $3,33 \times 10^{12}$  Zellen/ha Zubereitung insbesondere bevorzugt von  $2,5 \times 10^{12}$  Zellen/ha der *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941 auf der Kulturpflanze, insbesondere durch Versprühen, Vernebeln oder Beregnen aufgebracht werden.

11. Verfahren nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass die wenigstens eine Aufbringung des wenigstens einen chemischen Fungizids und der Mischung enthaltend wenigstens die *Aureobasidium pullulans* Stämme DSM 14940 und DSM 14941, insbesondere der Zubereitung, während der Blütephase der Kulturpflanze erfolgt.

**Hierzu keine Zeichnungen**