

**Entwicklung und Qualifizierung von
virusbeladenen Partikeln für den biologischen
Pflanzenschutz im Apfelanbau**

Der Technischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades Dr.-Ing.

vorgelegt von

**Matthias Pemsel
aus Nürnberg**

Als Dissertation genehmigt
von der Technischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 6. November 2014
Vorsitzende des Promotionsorgans: Prof. Dr.-Ing. habil. Marion Merklein

Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Eberhard Schlücker
Prof. Dr. Oliver Diwald

Schriftenreihe des Lehrstuhls für Prozessmaschinen und
Anlagentechnik

Band 23

Matthias Pemsel

**Entwicklung und Qualifizierung von
virusbeladenen Partikeln für den biologischen
Pflanzenschutz im Apfelanbau**

D 29 (Diss. Universität Erlangen-Nürnberg)

Shaker Verlag
Aachen 2015

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Erlangen-Nürnberg, Univ., Diss., 2014

Copyright Shaker Verlag 2015

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-3276-5

ISSN 1614-3906

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Prozessmaschinen und Anlagentechnik an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Verschiedene Personen haben dazu beigetragen, diese Arbeit zu einem erfolgreichen Abschluss zu bringen. Hierfür möchte ich an dieser Stelle diesen Wegbegleitern meinen besonderen Dank zum Ausdruck bringen.

An erster Stelle danke ich meinem Doktorvater, Prof. Dr. E. Schlücker, für die Möglichkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter an seinem Lehrstuhl zu promovieren. Sein Vertrauen ermöglichte mir ein selbständiges und eigenverantwortliches Arbeiten. Er stand mir immer mit fachlichem Rat zur Seite und gab mir stets die Gewissheit, auf seinen Rückhalt und seine Unterstützung vertrauen zu können.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Kollegen Stefan Schwab, mit dem ich die letzten Jahre eng an diesem Projekt gearbeitet habe. Vielen Dank für die sehr gute Zusammenarbeit, die fachlichen Diskussionen und das durchstehen von zahlreichen Höhen und Tiefen. Es hat sehr viel Spaß gemacht. Ich möchte dir alles erdenklich Gute bei deiner weiteren Forschung wünschen.

Frau Tina Sedmak und Herrn Gabriel Knop vom Lehrstuhl für Tierphysiologie danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit, die fachlichen Diskussionen und die große Unterstützung bei meiner Forschung am Transmissionselektronen- und am Fluoreszenzmikroskop.

Herrn Viktor Daiker, Herrn Peter Richter und Frau Maria Ntefidou vom Lehrstuhl für Zellbiologie danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit, die fachlichen Diskussionen und die große Unterstützung bei meiner Forschung zur Ermittlung der Verkapselungseffizienz und Virenfreisetzung mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion.

Des Weiteren möchte ich allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Feststoff- und Grenzflächenverfahrenstechnik und des Lehrstuhls für Pharmazeutische

Technologie für die sehr gute Unterstützung und Zurverfügungstellung von verschiedener Messtechnik danken.

Herrn Christian Scheer, Herrn Daniel Hagl, Herrn Martin Trautmann und Herrn Benjamin Pförtner vom Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit und die zahlreichen fachlichen Diskussionen. Weiterhin möchte ich mich für die Durchführung der Freilandtests bei Frau Dr. Urban vom Obsthof am Süßen See in Aseleben und bei Herrn Zingg von der Andermatt Biocontrol AG in der Schweiz bedanken.

Außerdem gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für die sehr gute Arbeitsatmosphäre und die große Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit. Besonderer Dank gilt hierbei den Mitarbeitern der mechanischen und elektronischen Werkstatt. Für ihren außergewöhnlichen Einsatz beim Aufbau der Technikumsanlage möchte ich insbesondere Herrn Wolfgang Christl, Herrn Piotr Reichel-Lesniansik und Herrn Alexander Reichenberg sowie Herrn Tobias Klimczak von der Zentralwerkstatt danken.

Meinen Assistentenkollegen / -innen danke ich zum einen für die wertvollen fachlichen Anregungen und zum anderen für das sehr freundschaftliche Verhältnis.

Darüber hinaus möchte ich allen Studenten herzlich danken, die zum einen durch wertvolle Ideen, aber auch durch tatkräftige Unterstützung, insbesondere bei den zahlreichen Biotests, einen entscheidenden Beitrag zum erfolgreichen Abschluss dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderen Dank möchte ich meiner Freundin Susi für ihre Unterstützung, ihre Geduld und ihr Verständnis während der arbeitsintensiven Phasen der Promotion aussprechen. Vielen Dank, dass du immer für mich da warst.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Das <i>Cydia Pomonella</i> Granulosevirus im Apfelanbau.....	3
2.1	Der Lebenszyklus des Apfelwicklers <i>Cydia Pomonella</i> L.	3
2.2	Schadwirkung und die Notwendigkeit der Bekämpfung.....	5
2.3	Strategien der Apfelwicklerbekämpfung.....	6
2.3.1	Integriertes Schädlingsmanagement	7
2.3.2	Biologisches Schädlingsmanagement	11
2.3.3	Resistenz: Mechanismus – Monitoring – Management	19
2.3.4	Zugelassene Insektizide gegen den Apfelwickler	23
2.4	Der Lebenszyklus von Baculoviren	25
2.5	Charakterisierung des <i>Cydia Pomonella</i> Granulosevirus	30
2.5.1	Das System Apfelwickler – <i>Cydia pomonella</i> Granulosevirus	30
2.5.2	Letaldosis	31
2.5.3	Letalzeit.....	32
2.5.4	Temperaturabhängige Letalzeit.....	33
2.5.5	Thermische Inaktivierung	33
2.5.6	UV-Persistenz des ungeschützten Granulosevirus	34
2.6	Verfahren und Substanzen zur Minderung der UV-Inaktivierung.....	36
2.6.1	Die Grundlagen der Virusinaktivierung.....	36
2.6.2	Stand der Technik.....	39
2.6.2.1	Zumischung von UV-Schutz zur Spritzbrühe	40
2.6.2.2	Einschlussverfahren für Viren.....	45
3	Entwicklung des biologischen Pflanzenschutzmittels.....	55
3.1	Strategische Produktplanung.....	58
3.2	Produktentwicklung.....	61
3.2.1	Das Anforderungsmodell.....	61
3.2.2	Das Funktionsmodell	69
3.2.3	Das Wirkmodell.....	71
3.2.4	Das Baumodell zur Verlängerung der UV-Beständigkeit	73
3.2.4.1	Zumischung von UV-Schutz zur Spritzbrühe	74
3.2.4.2	Einschlussverfahren für das Virus.....	75
3.2.4.3	Matrixmaterial	86
3.2.4.4	Virusrohmaterial	88

3.2.4.5	UV-Schutz zur Persistenzverlängerung	90
3.2.4.6	Tenside zur Emulsionsherstellung	96
3.2.4.7	Das Baummodell für die Anwendungsformulierung	99
3.3	Entwicklung des Produktionssystems	103
4	Herstellung und Charakterisierung des Pflanzenschutzmittels.....	105
4.1	Statistik.....	105
4.2	Mischen und Probenahme von Pulvern	111
4.3	Stabilisierung der Emulsion.....	113
4.4	Herstellung von Prototypen.....	118
4.5	Schmelzverhalten	121
4.6	Dichte	123
4.7	UV- Schutz des Virus durch die Partikel	125
4.7.1	Partikelmorphologie und Partikelgrößenverteilung.....	126
4.7.2	Absorptionseigenschaften der Matrixformulierung.....	127
4.7.3	Verkapselungseffizienz und Virenfreisetzung	129
4.7.4	Lage des Virus in den Partikeln.....	136
4.8	Herstellung von Formulierungstypen.....	142
4.8.1	Herstellung der Kapselsuspension	142
4.8.2	Herstellung des benetzbaren Pulvers	143
4.9	Test der biologischen Aktivität der Formulierungen	144
4.9.1	Ablauf der Labortests	144
4.9.1.1	Herstellen von Nährmedium	145
4.9.1.2	Herleitung der Spritzbrühenkonzentration für UV-Tests	146
4.9.1.3	Ansetzen der Spritzbrühe aus einer Kapselsuspension	147
4.9.1.4	Ansetzen der Spritzbrühe aus einem benetzbaren Pulver	148
4.9.1.5	Ansetzen der Spritzbrühe aus einer Rohvirusformulierung	148
4.9.1.6	Beschreibung der Applikation	149
4.9.1.7	UV-Tests.....	150
4.9.1.8	Tests zur Ermittlung der mittleren letalen Konzentration.....	157
4.9.1.9	Waschwasserversuche	158
4.9.1.10	Einsetzen und Auswerten.....	158
4.9.2	Freilandversuche	162
5	Ergebnisse aus der Produktentwicklung und Diskussion.....	169
5.1	Prozessauswahl, Anlagenqualifizierung und -validierung.....	170
5.2	Qualifizierung der virusbeladenen Partikel	188

6	Zusammenfassung und Ausblick	225
7	Symbol- und Abkürzungsverzeichnis	229
7.1	Symbolverzeichnis	229
7.2	Abkürzungsverzeichnis	230
8	Literaturverzeichnis	233