

Institut für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz  
Universität für Bodenkultur, Wien

# **Interaktionen zwischen entomopathogenen Pilzen und Produkten der Honigbiene, *Apis mellifera***

Masterarbeit  
**Zur Erlangung des akademischen Grades  
Diplom-Ingenieurin der Universität für Bodenkultur**

Studienrichtung Phytomedizin

vorgelegt von  
Veronika Boschitz, BSc

Wissenschaftliche Betreuung und Begutachtung  
Ao. Univ. Prof. Dr. phil. Rudolf Wegensteiner



Wien, Januar 2017



## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich recht herzlich bei Ao. Univ. Prof. Dr. Rudolf Wegensteiner bedanken. Nicht nur durch seine großartige Betreuung, sondern auch durch sein Engagement als Lehrender wurde mein Interesse an der biologischen Bekämpfung und an der Arbeit mit entomopathogenen Pilzen gefördert. Während meiner Masterarbeit hatte er stets ein offenes Ohr für meine Anliegen.

Ein großer Dank gilt auch Mag. Susanne Mottinger-Kroupa, die mich in die Laborarbeiten einschulte und mir bei Fragen mit Rat und Tat zur Seite stand. Bei Prof. Dr. Cezary Tkaczuk möchte ich mich für die Bereitstellung der Pilzkulturen bedanke. Dem Team des Institutes für Forstentomologie, Forstpathologie und Forstschutz danke ich für die Hilfsbereitschaft.

Ohne die Bereitstellung der Testsubstanzen durch das IBZ-Bienenhof, Bienen- und Naturproduktehandels GmbH (Wien), Michael und Alexander Opitz (Oberösterreich) und Familie Heller (Wien) wäre diese Arbeit erst gar nicht möglich gewesen. Danke dafür!

Amtsrat Ing. Ziehaus, BMLFUW und DI Reisenberger, Land Oberösterreich danke ich vielmals für die finanzielle Unterstützung meiner Arbeit.

Zum Schluss möchte ich noch meiner Familie, meinem Freund und meinen FreundInnen einen herzlichen Dank aussprechen. Sie sind es, die mir in jeder Lebenslage zur Seite stehen und auf die ich mich immer verlassen kann.

# Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	V
Abstract	VI
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Entomopathogene Pilze</b>	<b>1</b>
1.1.1 <i>Beauveria bassiana</i>	4
1.1.2 <i>Beauveria brongniartii</i>	5
1.1.3 <i>Metarhizium anisopliae</i>	6
1.1.4 <i>Metarhizium flavoviride</i>	7
1.1.5 <i>Isaria fumosorosea</i>	7
<b>1.2 Honigbienen</b>	<b>9</b>
1.2.1 Bienenerzeugnisse	11
1.2.2 Bienenmortalität	15
<b>1.3 Ziele der Arbeit</b>	<b>19</b>
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Untersuchung der Testsubstanzen auf Kontaminanten</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Keimungstest</b>	<b>23</b>
2.2.1 Plättchen-Diffusionstest	23
2.2.2 Formulierung der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige)	24
2.2.3 Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat	25
<b>2.3 Hemmhoftest</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Statistische Auswertung</b>	<b>26</b>
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>27</b>
<b>3.1 Untersuchung der Testsubstanzen auf Kontaminanten</b>	<b>27</b>
<b>3.2 Keimungstest</b>	<b>27</b>
3.2.1 Plättchen-Diffusionstest - Vergleich der Bienenerzeugnisse	28
3.2.2 Plättchen-Diffusionstest – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate	57
3.2.3 Formulierung der Konidien mit Gellée Royal, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) – Vergleich der Bienenerzeugnisse	59
3.2.4 Formulierung der Konidien mit Gellée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate	82
3.2.5 Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate	89
<b>3.3 Hemmhoftest – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate</b>	<b>91</b>
3.3.1 Kontrolle	91
3.3.2 Propolis	91
3.3.3 Gelée Royale	95
3.3.4 Lindenhonig	97
3.3.5 Akazienhonig	99
<b>3.4 Hemmhoftest - Vergleich der Bienenerzeugnisse</b>	<b>101</b>
<b>4 Diskussion</b>	<b>103</b>
<b>4.1 Hat Propolis Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate?</b>	<b>105</b>

4.2	Hat Gelée Royale Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate? _____	106
4.3	Haben Linden- und Akazienhonig Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate? _____	108
4.4	Ganzheitliche Betrachtung _____	111
5	Literaturverzeichnis _____	116
	Tabellenverzeichnis _____	127
	Abbildungsverzeichnis _____	130
	Anhang _____	133

## Zusammenfassung

Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln wird zusehends kritisch betrachtet, darum kommt der biologischen Bekämpfung verstärkt Bedeutung zu. Entomopathogene Pilze (EPP), als potentielle Gegenspieler diverser Schadorganismen sind Thema vieler Forschungsarbeiten. Ziel meiner Masterarbeit war es Interaktionen zwischen Produkten der Honigbiene, *Apis mellifera* und den entomopathogenen Pilz-Arten *Beauveria bassiana* (Boden- und Käferisolat), *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* und *Isaria fumosorosea* zu untersuchen. Dadurch sollen negative Auswirkungen auf eines der wichtigsten Nutzinsekten, die Honigbiene vermieden werden.

Der Einfluss von Propolis, Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig auf EPP wurde mittels Keimungs- und Hemmhofstests analysiert. Bei den Keimungstests wurden unterschiedliche Varianten der Applikation von Testsubstanzen angewendet. Gelée Royale zeigte sowohl bei den Plättchen-Diffusionstests, als auch bei den Formulierungen der Konidien mit Gelée Royale den größten hemmenden Einfluss auf die Keimung aller verwendeten EPP. Nach Gelée Royale verringerte Lindenhonig (Plättchen-Diffusionstest und Formulierung mit Honig bei 20 %iger Verdünnung) die Keimungsraten der EPP am stärksten. Bei Verdünnung (50 %) des Honigs war die Keimfähigkeit deutlich erhöht. Bei Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat zeigten *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* nach 24 h Keimungsraten von 80 – 95 % und somit keine Inhibition. Akazienhonig (20 und 50 %ige Verdünnung des Honigs) und Propolis beeinflussten die Keimfähigkeit der EPP am geringsten, trotzdem kam es in den meisten Fällen nach 24 h zu signifikanten Hemmungen im Vergleich zur Kontrolle. Die keimhemmenden Wirkungen waren bis auf Gelée Royale in allen Fällen reversibel.

Die Hemmhofstests zeigten oft konträre Ergebnisse zu den Keimungstests. Obwohl *I. fumosorosea* zum Teil starke Keimhemmungen zeigte, wurde das Wachstum kaum eingeschränkt. Auf die Keimung von *B. bassiana* (Bodenisolat) hatten die Testsubstanzen häufig den geringsten Einfluss, trotzdem war die Wachstumseinschränkung stark ausgeprägt. Hemmhöfe und Wachstumshemmungen waren in wenigen Fällen irreversibel.

Die Bienenerzeugnisse wiesen zum Teil starke antimikrobielle Aktivität auf, wodurch unerwünschte Effekte auf das Bienenvolk durch den Einsatz von geeigneten EPP als unwahrscheinlich anzusehen sind. Die Interaktionen bei Verwendung anderer Isolate und Bienenerzeugnisse, sowie Freilandversuche und Auswirkungen auf geschwächte Bienenvölker sollten durch Folgeversuche geklärt werden.

## Abstract

With the ongoing criticism of the application of pesticides, the biological pest control takes on greater significance. Various studies on entomopathogenic fungi (EPF) acting as potential antagonists of different pest species have been conducted. The aim of my master thesis was to investigate interactions between products of the honey bee, *Apis mellifera* and the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (soil- and beetle isolates), *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* and *Isaria fumosorosea*, in order to avoid negative impacts on one of the most beneficial insects, the honey bee.

The impact of propolis, royal jelly, lime- and acacia honey on EPF was analysed performing tests on germination rates and growth assays. The tests on germination were conducted using different forms of substance application. Royal jelly revealed the strongest inhibiting effect on all EPF used, by using the disk diffusion test and formulation of conidia with royal jelly. The second-strongest inhibition is exhibited by lime honey (disk diffusion test and formulation with honey with a 20 % dilution). With higher dilution rates (50 %) of the honey, germination rates were considerably higher. Using the formulation of the conidia with lime honey-concentrate, *B. bassiana* (soil isolate) and *I. fumosorosea* showed germination rates of 80 – 95 % after 24 h. The weakest inhibition resulted from acacia honey (disk diffusion test, 20 % and 50 % dilution of honey) and propolis, but still the inhibition was significantly after 24 hours in comparison to the control for most cases. The germination-inhibiting effects were reversible for all substances, except royal jelly.

The growth assays revealed contrary results compared with the germination-tests often. Even though *I. fumosorosea* showed strong inhibition of germination, the growth was only marginally constrained. The test substances exhibited the lowest impact on the germination of *B. bassiana* (soil isolate) commonly, nevertheless the growth-restrictions were strongly pronounced. Inhibition-zones and growth-inhibitions were irreversible in few cases.

Bee products showed strong antimicrobial activity partially. Therefore, the undesirable effects on the bee colony coming from the use of suitable EPF are unlikely to appear. The interactions of other isolates and bee products as well as field trials and impacts on weak bee colonies should be clarified in further tests.

# 1 Einleitung

Monokulturen, intensive Bewirtschaftung und globaler Handel führen vermehrt zu höherem Aufkommen von Pathogenen und Schädlingen in der Landwirtschaft (z.B. Maikäfer), Forstwirtschaft (z.B. Borkenkäfer) und im urbanen Bereich (z.B. Asiatischer Laubholzbockkäfer). Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln hat Resistenzbildungen und Nebenwirkungen auf Nicht-Ziel-Organismen und Nutzinsekten zur Folge (Dettner & Zwölfer, 2003). Um den Gebrauch von Pestiziden zu minimieren wird verstärkt im Bereich des biologischen Pflanzenschutzes geforscht. Hierbei werden unter anderem entomopathogene Pilze (EPP) eingesetzt, um den Schädlingsbefall unter eine ökonomische Schadensschwelle zu drücken. 2006 waren weltweit über 100 Mycoinsektizide am Markt (Jaronski, 2010).

Um Nicht-Ziel-Organismen und Nutzinsekten, wie die Honigbiene vor weiteren negativen Folgen durch den Pflanzenschutz zu bewahren, sollten diesbezüglich vor Anwendung von EPP Untersuchungen durchgeführt werden. Kanga et al. (2002) beschreiben die positive Bekämpfung von Varroa-Milben mittels *Hirsutella thompsonii* und *Metarhizium anisopliae*, ohne negative Effekte auf die Honigbiene, *Apis mellifera*. Des Weiteren konnten im humanmedizinischen Bereich bei Studien zu Interaktionen zwischen Honig und Hefepilzen (z.B. *Candida albicans* und *Aspergillus niger*) hemmende Wirkungen festgestellt werden (Katirae et al., 2014).

## 1.1 Entomopathogene Pilze

Von den 100.000 beschriebenen Pilz-Arten (Blackwell, 2011) zählen etwa 750 – 1000 zu den entomopathogenen Pilzen (St. Leger & Wang, 2010), welche in 100 Gattungen (Vega et al., 2012) unterteilt werden. Die wichtigsten Vertreter, wie *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* und *Isaria fumosorosea* sind der Ordnung der Hypocreales, im Stamm der Ascomycota zuzuordnen (Humber, 2012).

### Pathogenese

Die Infektion und Entwicklung entomopathogener Pilze verläuft über eine parasitische und eine

saprophytische Phase. Die parasitische Phase erstreckt sich vom Zeitpunkt der Anlagerung der Spore an die Wirts-Kutikula bis zum Tod des Insekts. Darauf folgt die saprophytische Phase, das Pilzmyzel durchwächst den Wirt und bildet an der Oberfläche Konidien aus. Nach Zimmermann (2007a) kann der Infektionsweg, der meist perkutan erfolgt, in sechs Stufen eingeteilt werden:

1. Die Anlagerung der Spore an die Kutikula erfolgt passiv und wird durch die hydrophobe Oberflächenbeschaffenheit des Insekts und der Konidiospore begünstigt.
2. Damit es zu einer erfolgreichen Infektion kommen kann sind optimale Temperaturen und Feuchtigkeit erforderlich. Das richtige Entwicklungsstadium des Wirtes und somit dessen Anfälligkeit sind ausschlaggebende Faktoren für die Keimung der Spore. Zur besseren Anhaftung können Keimschläuche sogenannte Appressorien ausbilden. Keimungshemmend können dabei Kutikularlipide durch ihre antimikrobielle Aktivität, sowie Aminosäuren und Peptide auf der Kutikula wirken.
3. Die Penetration beginnt nach Ausbildung des Appressoriums und wird durch mechanischen Druck und lytische Enzyme wie Proteasen, Chitinasen und Lipasen ermöglicht.
4. Durch zelluläre und humorale Immunabwehrreaktionen versucht sich der Wirt gegen den eindringenden Pilz zu wehren. Zu den humoralen Mechanismen gehören, die Produktion von Phenoloxidasen, sowie die Melanisierung. Auf zellulärer Ebene wird die Anzahl bestimmter Hämocyten gesteigert. Ebenso werden antifungale Substanzen, Proteaseinhibitoren und Proteine zur Detoxifikation pilzbürtiger Toxine freigesetzt.
5. Nach erfolgreicher Penetration produziert der Pilz Blastosporen zur passiven Verbreitung in der Hämolymphe. Starkes Hyphenwachstum ermöglicht in Gewebe des Insekts vorzudringen, diese durch mechanischen Druck zu zerstören und dem Wirt Nährstoffe zu entziehen. Zusätzlich werden artspezifische Metabolite abgegeben, die zur Vergiftung des Wirts führen. Zum Beispiel das Toxin Beauvericin, welches erstmals aus *B. bassiana* isoliert wurde. Während der Inkubationszeit wird das Schadpotenzial des Wirtstieres bereits stark reduziert. Es kommt zu verminderter Nahrungsaufnahme, Verhaltensänderungen, Gewichtsverlust und Störungen der Häutung (Müller-Kögler, 1965 zit. in Zimmermann 2007a; Ekesi, 2001 zit. in Zimmermann, 2007a; Ouedraogo et al. 2003 zit. in Zimmermann, 2007a).
6. Mit dem Tod des Wirtes beginnt die saprophytische Phase. Unter feuchten Bedingungen beginnt der Pilz mit dem Auswachsen aus dem Wirt. Daraufhin werden an der

Oberfläche des halbfest bis festen Kadavers Konidiosporen gebildet, die der weiteren Verbreitung des Pilzes dienen.

Die Abtötung des Wirtsinsekts erfolgt nach etwa 1-2 Wochen, steht jedoch unter dem Einfluss der Virulenz des Pilzes, der Wirts-Art, dem Entwicklungsstadium des Wirtes und abiotischer Parameter.

### **Infektions- und entwicklungshemmende Umweltfaktoren**

Umwelteinflüsse können entscheidende Auswirkungen auf die Effizienz entomopathogener Pilze gegen Schadorganismen haben. So sind Konidien sehr anfällig auf Schäden durch Sonneneinstrahlung, besonders im Bereich der UVB-Strahlung (285-315 nm) (Inglis et al., 2001). Hierbei ist das Mikrohabitat in dem sich die Pilze befinden entscheidend. Geschützte Lebensräume, wie Böden, Vegetationsdecken oder eine endophytische Lebensweise kann direkte Einstrahlung abschirmen (Inglis et al., 1993). Inglis et al. (2001) beschreiben die Bildung von Melanin und anderen Polyphenolen, die zu erhöhtem Schutz der entomopathogenen Hyphomyceten vor Strahlung führen kann. Dem keimungshemmenden Einfluss durch die Strahlung kann präventiv durch eine Formulierung der Sporen in Öl entgegengewirkt werden (Vega et al., 2012). Mit erhöhter Sonneneinstrahlung ist häufig auch ein Temperaturanstieg verbunden. Im Allgemeinen kann ein Temperaturoptimum von 20 - 25 °C für entomopathogene Hyphomyceten angenommen werden, wobei je nach Pilz-Art bzw. Pilz-Isolat Temperaturen zwischen 15 und 30 °C zu einer Infektion und Krankheit führen können (Inglis et al., 2001).

Bei der Infektion (Roberts & Campbell, 1977 zit. in Inglis et al., 2001) als auch bei der Keimung und der darauffolgenden Sporulation des EPP auf dem Wirtskadaver, spielt die relative Luftfeuchtigkeit eine wichtige Rolle. Das Optimum der relativen Luftfeuchte variiert je nach Pilz-Art (Jaronski, 2010). Abschließend ist zu erwähnen, dass sich auch die Umweltfaktoren je nach Pilz-Art bzw. Isolat unterschiedlich auf einen erfolgreichen Infektions- und Entwicklungsverlauf auswirken (Inglis et al., 2001).

### **Anwendungsstrategien**

Die Anwendung entomopathogener Pilze setzt eine Massenvermehrung von Konidien auf künstlichem Substrat voraus. Es gibt unterschiedliche Anwendungsstrategien, wobei sich eine Kombination der Methoden oft als fördernd erweist (Shah & Pell, 2003). Eilenberg et al. (2001) verweisen auf die gängigsten Methoden, wie die Klassische biologische Bekämpfung, die Inundationsmethode und die Inokulationsmethode (siehe Tab. 1). Vor der Anwendung sollte

jedoch die Virulenz des eingesetzten Pilzes geprüft werden, um eine erfolgreiche Infektion gewährleisten zu können.

Tab. 1: Anwendungsstrategien, Ziele und Methoden der biologischen Bekämpfung (Eilenberg et al., 2001)

Anwendungsstrategie	Ziel	Methode
Klassische biologische Bekämpfung	Permanente Etablierung und Langzeitkontrolle	Vorsätzliche Ausbringung co-evolutiver EPP gegen exotische Schadinsekten
Inundationsmethode	Rasche Verminderung der Schädlingspopulation, keine permanente Etablierung	Massenaussetzung hoch-virulenter Stämme
Inokulationsmethode	Vorübergehende, aber schnelle Vermehrung und Etablierung	Ausbringung einer geringen Anzahl heimischer EPP

Vorwiegend sind es *B. bassiana*, *M. anisopliae* und *I. fumosorosea*, die kommerzielle Anwendung finden (Jaronski, 2010). Neben diesen drei Pilz-Arten werden *Beauveria brongniartii* und *Metarhizium flavoviride* in der vorliegenden Arbeit untersucht.

### 1.1.1 *Beauveria bassiana*

Die Gattung *Beauveria* gehört zur Familie der Cordycipitaceae, wobei *B. bassiana* die am weitesten verbreitete Art dieser Gattung ist. Der Pilz kommt weltweit vor und weist ein weites Spektrum an Habitaten auf, welches von alpinen Böden, Heidegewächsen, Mooren, Böden mit Savannenvegetation, Wald- und Ackerböden, über Sanddünen, Wüstenböden bis hin zu Fließgewässern reicht (Zimmermann, 2007a). *B. bassiana* gilt außerdem als Endophyt verschiedener Pflanzen. So beschreiben etwa Doberski & Tribe (1980, zit. in Zimmermann, 2007a) die Isolierung des Pilzes aus der Borke einer Ulme. Ebenso wurde das natürliche Vorkommen des Pilzes in Monterey-Kiefern (Reay et al., 2010), Mais- (Wagner & Lewis, 2000 zit. in Reay et al., 2010) und Tomatenpflanzen (Ownley et al., 2004) nachgewiesen. So können z.B. mit *B. bassiana* behandelte Tomatensamen die Ausbreitung von *Rhizoctonia solani*, dem Erreger der Wurzelfäule signifikant eindämmen (Ownley et al. 2004). Durch endophytische EPP wird die Entwicklung der Schadorganismen gehemmt und die Pflanze somit vor starkem Schädlingsbefall geschützt (Cherry et al., 2004 zit. in Reay et al., 2010).

1835 konnte erstmals durch Agostino Bassi di Lodi aus Italien, der Nachweis erbracht werden, dass *B. bassiana* eine Infektionskrankheit hervorrufen kann. Isoliert wurde der Pilz aus der Seidenraupe (*Bombyx mori*) und als „white muscardine“ bezeichnet (MacLeod, 1954 zit. in Zimmermann, 2007a). Nach heutigem Wissenstand erstreckt sich der Wirtskreis von *B. bassiana* über 707 Insektenarten in 521 Gattungen, 149 Familien innerhalb von 15 Ordnungen (Li, 1988 zit. in Zimmermann, 2007a). Die wichtigsten Wirte finden sich in den Ordnungen der Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera und vor allem Coleoptera, in der Unterordnung der Heteroptera und in der Klasse der Arachnida (Zimmermann, 2007a). Trotz des weiten Spektrums sind die einzelnen Pilz-Isolate jedoch auf wenige Wirte begrenzt (Vestergaard et al., 2003 zit. in Zimmermann, 2007a).

*B. bassiana* bildet weiße bis gelbliche Kolonien aus, die sich zeitweise auch rötlich färben können (siehe Abb. 1). Die konidiogenen Zellen kommen häufig geklumpt vor, sind an der Basis rund oder abgeflacht mit langen, gezähnten Rhachis an denen sich die Konidien befinden (Humber, 2012). Diese sind kugel- bis ellipsenförmig (2-3 x 2-2,5 µm) und hyalin (Zimmermann, 2007a).



Abb. 1: *B. bassiana* (Käferisolat) in Kultur

### 1.1.2 *Beauveria brongniartii*

Auch *B. brongniartii* ist weltweit verbreitet, tritt jedoch im Vergleich zu *B. bassiana* seltener auf. Isoliert wurde der Pilz bereits aus Sümpfen, alpinen Lebensräumen, Waldböden, Heidegewächsen, Roterde und Sanddünen (Zimmermann, 2007a).

Der Einsatz von *B. brongniartii* gegen den Feldmaikäfer (*Melolontha melolontha*) wurde bereits 1892 von Giard beschrieben. In Europa infiziert der Pilz neben dem Feldmaikäfer vor allem den Waldmaikäfer. Aber auch Arten der Ordnungen Lepidoptera und Hymenoptera, der Unterordnungen Heteroptera und Homoptera und der Klasse der Arachnida zählen zu den Wirten. Die Ordnung der Coleoptera stellt auch für *B. brongniartii* das größte Wirtsspektrum dar (Vestergaard et al., 2003 zit. in Zimmermann, 2007a).

Charakteristisch für diesen Pilz ist die weiße, später gelbe und schließlich rosa bis rote Farbe der Kolonien (Zimmermann, 2007a), welche durch das toxische Pigment Oosporein bedingt ist (Strasser et al., 2000) (siehe Abb. 2). Die konidiogenen Zellen entsprechen denen von *B. bassiana*, bilden jedoch ellipsoide (2,5 x 4,5-6 µm) Konidien aus (Zimmermann, 2007a).



Abb. 2: *B. brongniartii* (Käferisolat) in Kultur

### 1.1.3 *Metarhizium anisopliae*

Neben *Beauveria bassiana* und *B. brongniartii* wird vor allem *M. anisopliae* weltweit als biologisches Schädlingsbekämpfungsmittel eingesetzt (Zimmermann, 2007b). Der Pilz gehört zur Ordnung Hypocreales, in die Familie der Clavicipitaceae (Humber, 2012).

*M. anisopliae* wurde bereits 1879 von Metschnikoff beschrieben. Bekannt wurde die Gattung *Metarhizium* 1883 durch Sorokin, unter dem Namen „green muscardine“. Der Ursprung von *M. anisopliae* scheint Südostasien zu sein, von wo aus sich der Pilz weltweit ausbreitete. (Zimmermann, 2007b). Domsch et al. (1980, zit. in Zimmermann, 2007b) beschreiben die Isolierung des Pilzes aus Zystennematoden, kultivierten Böden, Grasland, Waldböden, Mooren, organischem Detritus, Flusssedimenten, Mangrovensümpfen, Bleiminen, Vogelnestern und den Wurzeln von Erdbeeren. Das Wirtsspektrum von *M. anisopliae* umfasst Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera und Lepidoptera (Goettel et al., 1990). Die Virulenz und das präferierte Wirtsspektrum sind jedoch abhängig vom Genotyp und Isolat (Ferron et al., 1972 zit. in Zimmermann, 2007b).



Abb. 3: *M. anisopliae* (Bodenisolat) in Kultur

*M. anisopliae* bildet dichte weiße, olivfarbene bis braune Kolonien aus (siehe Abb. 3). Die Konidien sind zylindrisch

(8 - 16  $\mu\text{m}$ ) und werden häufig in langen Ketten abgeschnürt (Humber, 2012; Zimmermann, 2007b).

#### 1.1.4 *Metarhizium flavoviride*

*M. flavoviride* wurde 1973 von Gams und Rozsypal beschrieben. Man geht davon aus, dass auch *M. flavoviride* weltweit verbreitet ist, jedoch gibt es bisher wenig Berichte über die Isolierung des Pilzes (Bridge et al., 1993). Dieser Pilz scheint hinsichtlich seines Wirtsspektrums spezifischer zu sein, infiziert werden bevorzugt Coleoptera, Orthoptera und Hemiptera (Bidochka & Small, 2005 zit. in Zimmermann, 2007b).



Zimmermann (2007b) beschreibt den Unterschied von *M. flavoviride* und *M. anisopliae* durch die breiteren, grauen bis gelbgrünen Konidien (2,5-5 x 11  $\mu\text{m}$ ), welche ebenfalls in Ketten auf Konidiophoren gebildet werden (siehe Abb. 4).

Abb. 4: *M. flavoviride* (Bodenisolat) in Kultur

#### 1.1.5 *Isaria fumosorosea*

Früher unter dem Namen *Paecilomyces fumosoroseus* bekannt, spricht man heute von *I. fumosorosea* Artenkomplex. Auch dieser Pilz gehört zur Familie der Cordycipitaceae. Erstmals isoliert wurde der Pilz 1904 (Wize), spielte aber lange Zeit eine untergeordnete Rolle in der biologischen Bekämpfung von Schadorganismen. *I. fumosorosea* ist weit verbreitet und wurde vorwiegend aus Lepidoptera-Arten isoliert, kommt aber auch in der Luft, im Wasser, als Endophyt in Pflanzen und in nicht-kultivierten Böden vor (Zimmermann, 2008). Heute wird der Pilz vor allem zur Kontrolle der „Weißen Fliege“ (*Bemisia* spp., *Trialeurodes vaporariorum*) eingesetzt (Lacey et al., 2008). Ebenso werden Diptera, Hemiptera und Hymenoptera infiziert (Zimmermann, 2008).

*I. fumosorosea* ist schnell wachsend und bildet weiße Kolonien, die sich purpurn färben (siehe Abb. 5). Die Phialiden sind flaschenförmig und tragen zylindrische bis spiralförmige, hyaline Konidien (3-4 x 1-2 µm). Eine Hyperparasitierung durch *Syspastospora parasitica* ist möglich (Posada et al., 2004).



Abb. 5: *I. fumosorosea* (Bodenisolat) in Kultur

## 1.2 Honigbienen

Die weitaus wichtigste Rolle spielen Honigbienen in der Bestäubung landwirtschaftlicher Nutzpflanzen und der Erhaltung der Artenvielfalt im Wald (Voigt, 2002). Insgesamt werden etwa 35% der agrarwirtschaftlichen Produktion mit tierischer Bestäubung in Zusammenhang gebracht (Aizen et al., 2008). Honigbienen sind im Anbau großflächiger Monokulturen besonders geeignet. Sie gehören zu den Generalisten und sind somit für fast jede Kultur einsetzbar (Seeley, 1985 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010).

*Apis mellifera*, die Europäische Honigbiene, gehört zu jenen Bienenarten, die weltweit am häufigsten in der Imkerei genutzt werden. Ihr Verbreitungsgebiet erstreckt sich über Europa, Zentralasien und Afrika (Ruttner, 1988 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). Die Gewinnung von Bienenerzeugnissen für den menschlichen Gebrauch und deren Nutzung im medizinischen Bereich dürfen ebenso nicht vernachlässigt werden.

### Entwicklungszyklus

Die Entwicklung vom Ei zum adulten Tier verläuft bei Arbeiterbienen, Königin und Drohnen annähernd ident (siehe Tab. 2). Die aufgenommene Nahrung und die Aufgaben der jeweiligen Morphe unterscheidet sich jedoch klar von einander. In diesem Kapitel wird die Arbeiterbiene genauer vorgestellt, da diese für die Produktion der verwendeten Testsubstanzen verantwortlich ist (Seeley, 1997).

Tab. 2: Entwicklung und Nahrung einer Arbeiterbiene (Seeley, 1997)

<b>Entwicklungsstadium</b>	<b>Dauer</b>	<b>Nahrung</b>	<b>Anmerkung</b>
Ei	3 Tage	Proteinreiches Eigelb	Befruchtetes Ei
Larve	6 Tage	1.-3. Tag Gelée Royale, 3.-6. Tag Mischung aus Honig, Pollen und Gelée Royale	5 Larvenstadien, Kokonbildung, mit Wachsdeckel versiegelte Zelle
Puppe	12 Tage		Nymphe
Adulte Arbeiterbiene	Sommer 6 Wochen, Winter 6 Monate	Pollen, Nektar, Honig, Weiselsekret der Königin	

Die Arbeiterbienen sind mit unterschiedlichen Sinnesorganen ausgestattet, die der Erkennung von mechanischen, optischen und chemischen Reizen dienen. Ebenso ist die Wahrnehmung von Temperaturreizen über die Fühler möglich. Adulte Arbeiterinnen verfügen über vier Arten von Drüsen, die Futtersaftdrüse (Hypopharynxdrüse), die Speicheldrüse (Labialdrüse), die Wachsdrüse und die Duftdrüse (Nasanoffsche Drüse). Über die Futtersaftdrüse scheiden Brutammen proteinreiches Futter für Larven und adulte Bienen aus. Bei Nektarabnehmerinnen und Sammelbienen werden Enzyme zum Abbau der Saccharose im Nektar über diese Drüsen abgegeben. Das abgesonderte Sekret der Speicheldrüse wird zur Reinigung der Königin und zum Erweichen von Wachs verwendet. Außerdem wird das, über die Wachsdrüse ausgeschiedene Bienenwachs zum Bau der Waben mit dem Sekret der Speicheldrüse vermischt. Die Duftdrüse dient der Erzeugung unterschiedlicher flüchtiger Verbindungen, um den Sammelbienen die Lage einer reichhaltigen Futterquelle mit schwachem Eigengeruch bekanntzugeben (Seeley, 1997).

Die Ausscheidung der Drüsensekrete ist abhängig vom Alter der Biene. Junge Arbeiterinnen produzieren Futtersaft, mittelalte Arbeiterinnen Wachs und ältere Bienen wandeln durch Enzyme Nektar in Honig um. Somit ändert sich auch die Aufgabe der Arbeiterinnen im Stock im Laufe ihres Lebens. In den ersten Tagen wird die adulte Biene vor allem zur Reinigung der Zellen und bei der Brutpflege (Ammenbiene) eingesetzt. Später übernimmt sie auch die Aufgabe des Wabenbaus. Im Alter von zwölf Tagen fungiert sie als Nektarabnehmerin und stellt aus dem Nektar Honig her, ebenso bewacht sie den Bienenstock vor Eindringlingen. Den letzten Lebensabschnitt verbringt sie als Sammelbiene. Die Arbeiterin sammelt Nektar, Pollen, Wasser, Kittharz oder eine Komposition der genannten Substanzen. Die Aufgaben und Zeitspanne, in der diese ausgeführt werden, variieren aufgrund der genetischen Unterschiede und den Bedingungen innerhalb und außerhalb des Bienenstocks teilweise sehr stark (Seeley, 1997).

### **Imkerei**

*Apis mellifera* und *Apis indica*, die Indische Honigbiene sind die einzigen zwei Bienenarten, die vom Menschen in Bienenstöcken gehalten werden können. Dies ist vor allem durch ihr natürliches Anlegen vielwabiger Nester in Höhlen von Bäumen und ähnlichen geschützten Plätzen bedingt (Butler, 1957). Unter den österreichischen ImkerInnen wird insbesondere die Rasse *Apis mellifera carnica*, die Kärntner Biene, zur Gewinnung verschiedener Bienenerzeugnisse genutzt (Brodschneider et al., 2010). Dem Österreichischen Imkerbund

zufolge gab es im Jahr 2015 österreichweit 26.063 ImkerInnen, die 347.128 Bienenvölker betrieben (<http://imkerbund2015.netletter.at>). Ein Bienenstaat weist in der Regel 40.000 bis 50.000 Arbeiterinnen, ein paar hundert Drohnen und eine Königin auf (Butler, 1957).

Durch reduzierten Leguminosenanbau und frühzeitiges Mähen wird den Bienen ein wesentlicher Anteil ihrer Nektarquellen entzogen (Bohan et al., 2005). Futterknappheit führt zu krankheitsanfälligeren Bienenvölkern (Gilliam, 1986 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010), die auch empfindlicher auf Pestizide reagieren (Wahl & Ulm, 1983 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). Zusätzlich nimmt bei durchgehenden Regenperioden und kühlen Temperaturen die Produktivität ab, da die Bienen im Stock bleiben (van Engelsdorp & Meixner, 2010). Kühle, feuchte Bedingungen fördern die Ausbreitung von Parasiten, wie *Varroa destructor* (Harris et al., 2003) und Pathogenen, wie *Ascosphaera apis* (Bailey & Ball, 1991 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). Wohingegen bei höheren Temperaturen und genügend Niederschlag die Nektarproduktion steigt (Shuel, 1992 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). Unabhängig von den Außentemperaturen bleibt es im Bienenstock bei konstanten 34 - 35 °C (Seeley & Heinrich, 1981 zit. in Medrzycki et al., 2010). Lediglich im Winter sinkt die Temperatur leicht (~ 25 °C) ([www.imkerverein-buechertal.de/Bienen\\_im\\_Winter.php](http://www.imkerverein-buechertal.de/Bienen_im_Winter.php)). Eine kontrollierte Temperatur zur optimalen Entwicklung der Brut wird durch die Arbeiterbienen gewährleistet (Seeley & Heinrich, 1981 zit. in Medrzycki et al., 2010). Zeitweise Schwankungen werden durch das Fächeln warmer Luft aus dem Stock bzw. Zusammenlagerung der Individuen und Erzeugung metabolischer Wärme reguliert (Jones et al., 2004). Medrzycki et al. (2010) beschreiben eine verkürzte Lebensdauer und eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Dimethoat (Insektizid) bei einer Abweichung der Optimumtemperatur um -2 °C. Andererseits könnten geringere Temperaturen die vorrätige Nahrung, durch reduzierte Assimilation der Inhaltsstoffe, vor Kontaminationen schützen (Petz et al., 2004 zit. in Medrzycki et al., 2010).

## **1.2.1 Bienenerzeugnisse**

### **1.2.1.1 Honig**

Honig wird aus Nektar gewonnen, welcher vor allem aus den Kohlenhydraten Glucose, Fructose und Saccharose besteht. Der Nektar wird von Sammelbienen in der Honigblase gesammelt und so zum Bienenstock transportiert. Der Inhalt der Honigblase kann willkürlich wieder ausgewürgt werden. Die Nektarabnehmerinnen verarbeiten den Nektar zu Honig. Dazu

wird der Nektar 20 Minuten mit den Mundwerkzeugen bearbeitet, um den Wassergehalt zu minimieren. Außerdem wird Speicheldrüsensekret beigegeben, welches die Enzyme Invertase und Glucose-Oxidase enthält. Mittels Invertase wird Saccharose in löslichere Glucose und Fructose gespalten. Um den Honig vor dem Verderb zu schützen, wird die Glucose-Oxidase benötigt, welche Wasserstoffperoxid erzeugt. Der reife Honig hat einen Wassergehalt von 16 – 20 % und ist deshalb hygroskopisch. Bevor der Honig den Larven verfüttert wird, muss er mit dem gesammelten Wasser verdünnt werden. Zur Konservierung des Honigs, werden die vollen Vorratszellen mit nahezu luftdichtem Bienenwachs verschlossen (Seeley, 1997). Die chemische Zusammensetzung (siehe Tab. 3) des Honigs variiert nicht nur nach Rohstoffquelle, sondern auch nach geographischer Lage (Gašić et al., 2014), Jahreszeit und Lagerdauer in der Honigwabe (Singhal et al., 1997 zit. in Bilikova et al., 2015).

Tab. 3: Auflistung der wichtigsten Komponenten von Linden-, Akazien- und Waldhonig (Gašić et al., 2014; Muhammad et al., 2015; <http://www.laves.niedersachsen.de/tiere/bienenkunde/informationmaterial/informationmaterial-des-instituts-fuer-bienenkunde-celle-73963.html>; Bilikova et al., 2015; Pontoh & Low, 2002 zit. in Bilikova et al., 2015; Wahdan, 1998)

<b>Komponenten</b>	<b>Lindenhonig</b>	<b>Akazienhonig</b>	<b>Waldhonig</b>
Rohstoff	Nektar (>Lindenblüten), Honigtau, Pollen	Nektar (>Akazienblüten), Honigtau, Pollen	> Honigtau, Nektar, Pollen
pH-Wert	~ 4,4	~ 4	~ 4,8
Wassergehalt	~ 16 %	~ 18 %	~ 16 %
Kohlenhydrate	Fructose, Glucose, Saccharose, Maltose, Melezitose		
Aminosäuren	Alanin, Prolin, Asparaginsäure, Glycin, Prolin		
Enzyme	Invertase, Glucose-Oxidase, Diastase, $\beta$ -Glucosidase Apalbumin 1		
Phenole, Flavonoide	Pinocembrin, Quercetin, Chrysin, Galangin, Pinobanksin		
	Flavonoid-Glykoside	Kaffeesäure, Kaempferol, Acacetin, Apigenin	
Organische & anorganische Säuren	Glucon-, Zitronen-, Ameisensäure, Wasserstoffperoxid, Milchsäure, Apfelsäure, Linolsäure, Oxalsäure, Phosphorsäure, Zimtsäure		
		Ascorbinsäure, Ferulasäure	
Mineralstoffe, Spurenelemente	K, Na, Ca, Fe, Cr, Cu		
Sonstige Inhaltsstoffe	Aromastoffe, Fettsäuren, Vitamine, Pollen, Gerbstoffe, anorganische Säuren, Phytohormone		

### 1.2.1.2 Gelée Royale

Der Weiselfuttersaft, ist weiß, flüssig und wird über die Futtersaftdrüse abgesondert. Als Rohstoff wird hierbei Pollen und Honig benötigt. Tab. 4 zeigt die wichtigsten Inhaltsstoffe des Gelée Royal. Die Ammenbienen füttern damit die Larven in den Brutzellen, die Menge und Dauer der Futtergabe ist bei Königinnenlarven deutlich höher (Sauerwald et al., 1998 zit. in Nabas et al., 2014).

Tab. 4 Auflistung der wichtigsten Komponenten des Gelée Royale (Stocker et al., 2005 zit in Nabas et al., 2014; Yang et al., 2010 zit. in Nabas et al., 2014; Watanabe et al., 1996 zit. in Nabas et al. 2014; Watanabe et al., 1998 zit. in Nabas et al. 2014; Stein, 1988; Tew, 2014; Bilikova et al., 2015; <http://www.laves.niedersachsen.de/tiere/bienenkunde/informationsmaterial/informationsmaterial-des-instituts-fuer-bienenkunde-celle-73963.html>)

Komponenten	Anteil [%]	
pH-Wert		3,4 – 4,5
Wasser	62 – 68 %	
Kohlenhydrate	10-16%	Fructose, Glucose, Saccharose, Maltose, Erlöse
Aminosäuren	12-15%	Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Met, Pro, Phe, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Glu, Asp, Glu, Arg, Lys, His
Peptide		Jellein, Royalisin, Apisimin, Royalactin, Apalbumin 1
Vitamine	2-3 %	Vitamin B <sub>1</sub> , Vitamin B <sub>2</sub> , Nikotinsäure, Pantothensäure, Vitamin B <sub>6</sub> , Inosit, Biotin, Folsäure, Vitamin B <sub>12</sub> , Vitamin C
Mineralstoffe	2-3%	P, S, Ca, Mg, K, Na, Zn, FE, Cu, Mn, Al, Ba, Sr, Bi, Cd, Hg, Pb, Sn, Te, Tl, W, Wb, Cr, Ni, Ti, V, Co, Mo
Fettsäuren		10-hydroxy-trans-2-decensäure, Sterine

### 1.2.1.3 Pollen

Der Blütenstaub und etwas Nektar werden während des Fluges in sogenannten Pollenhöschchen an den Hinterbeinen der Sammelbienen gespeichert und nach der Rückkehr in den Wabenzellen abgegeben. In den Zellen wird der gesammelte Pollen von den Stockbienen komprimiert, um die Luft herauszudrücken. Der Pollen wird zusätzlich mit Honig vermischt und somit das Auskeimen und der bakterielle Verderb verhindert. Die gefüllten Wabenzellen werden schließlich mit Propolis überzogen, um einen Pilz- und Bakterienbefall zu unterbinden (Seeley, 1997). Durch den aufgenommenen Blütenstaub werden die Honigbienen mit Aminosäuren, Vitaminen und Fetten für die körperliche Entwicklung und den Aufbau der Futtersaftdrüsen

versorgt (Seeley, 1997). Die Qualität des Pollens kann unterschiedlich sein, so können über den Eintrag von Pollen auch Umweltgifte in den Bienenstock gelangen (Tew, 2014).

#### 1.2.1.4 Propolis

Propolis, auch Kittharz genannt, wird aus Pflanzenharzen, meist aus Baumknospen verschiedener Pappelarten (Ristivojević et al., 2015) und Pflanzensäften gewonnen und in Körbchen an den Hinterbeinen zum Stock gebracht. Im Bienenstock werden Speichelsekret, Pollen und Wachs beigemischt (Tew, 2014). Mit dieser klebrigen Substanz werden Risse und Löcher der Nisthöhlen versiegelt, um das Nest vor schlechter Witterung, Predatoren und der Ausbreitung von Krankheiten zu schützen und die Temperatur konstant zu halten. Kittharz wird bei niedrigen Temperaturen (< 20 °C) trocken und hart und eignet sich somit auch zum Glätten der Wandoberflächen von Nisthöhlen (Seeley, 1997).

Über 500 verschiedene Substanzen konnten bisher aus Propolis isoliert und identifiziert werden (Huang et al., 2014) (siehe Tab. 5). Die chemische Komposition ist von der geographischen Herkunft, der Flora, der Jahreszeit und der Bienenart, sowie der Bienenrasse abhängig (Ristivojević et al., 2015).

Tab. 5: Auflistung der wichtigsten Komponenten des Propolis (Huang et al., 2014; Ristivojević et al., 2015)

Komponenten	Anteil [%]	
Flavonoide	Hauptanteil	Flavone, Flavonone, Flavonole, Dihydroflavonole, (Iso-)Flavane, Neoflavonoide, Isodihydroflavone, Isoflavone, (Dihydro-)Chalkone
Phenole		Zimtsäure, Kaffesäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, deren Derivate und Ester, Stilbene, Lignan
Terpenoide	10 %	Monoterpene, Diterpene, Triterpene, Sesquiterpene
Kohlenwasserstoffe		Alkane, Alkene, Alkadiene, Monoester, Diester, aromatische Ester, Fettsäuren, Steroide
Mineralstoffe	< 5 %	Ca, K, Mg, Na, Al, B, Ba, Cr, Fe, Mn, Ni, Sr, Zn, As, Cd, Hg, Pb
Kohlenhydrate		Glucose, Fructose, Saccharose
Sonstige Inhaltsstoffe	< 5 %	Aminosäuren, Vitamine

### 1.2.1.5 Wachs

Im Alter von 13 bis 20 Tagen beginnen die Arbeiterbienen über die Wachsdrüsen Wachs auszuscheiden. Die Produktion hängt vom Brutgeschehen ab, wobei im April und Juli der Bedarf am höchsten ist. Aus dem Bienenwachs werden Brut- und Honigzellen gebaut und verdeckelt (<http://www.laves.niedersachsen.de/tiere/bienenkunde/informationmaterial/informationmaterial-des-instituts-fuer-bienenkunde-celle-73963.html>).

## 1.2.2 Bienenmortalität

Die feuchtwarmen Bedingungen im Bienenstock und das große Angebot an potentiellen Wirten liefern optimale Konditionen für unzählige Parasiten und Krankheitserreger. In diesem Kapitel werden einige der wichtigsten Ursachen für eine erhöhte Mortalitätsrate im Bienenvolk vorgestellt. Eine eindeutige Diagnose der Todesursache fällt oft schwer, da die Faktoren simultan auftreten und sich gegenseitig beeinflussen können oder die Imker den Verlust ihrer Bienenvölker erst spät bemerken (van Engelsdorp & Meixner, 2010).

### 1.2.2.1 Parasiten

Die parasitische Milbe, *Varroa destructor* gehört zu den weltweit schädlichsten Parasiten der Honigbiene. Ein Befall kann zum Absterben der Kolonie innerhalb von zwei bis drei Jahren führen. Ihr ursprünglicher Wirt war die Östliche Honigbiene, *Apis cerana*. Durch den Import von *Apis mellifera* nach Asien kam es zu einer Erweiterung des Wirtskreises (Page et al., 2016). Page et al. (2016) beobachteten einen altruistischen Suizid unter den Bienenvölkern von *A. cerana*. Die Östliche Honigbiene reagiert empfindlicher auf den Parasitenbefall, wodurch befallene Larven früher sterben. Tote Larven werden zusammen mit den Milben aus dem Bienenstock entfernt und somit eine Ausbreitung von *V. destructor* verhindert.

Die adulten Weibchen der *Varroa*-Milbe saugen an der Hämolymphe adulter Honigbienen und Puppen. Zur Reproduktion legen sie ihre Eier in den Brutzellen ab und entwickeln sich bis zum Schlupf der Jungbiene darin (Schulz, 1984). Durch die Saugtätigkeit, kommt es zu Vitalitätsverlusten, verminderter Lernfähigkeit und zu einer verkürzten Lebensdauer (Duay et al., 2002). Zu beachten ist, dass die Drohnenbrut häufiger befallen wird, als die Arbeiterinnenbrut (Schulz, 1984). Der Grund für die selektive Wahl könnten Wirtskairomone sein (Calderone & Lin, 2001).

Neben dem Einsatz von Ameisensäure, Milchsäure, Thymol, oder Oxalsäure (Ritter, 2016), können auch EPP zur Bekämpfung der *Varroa*-Milbe herangezogen werden. Kanga et al. (2002) untersuchten unter anderem *B. bassiana* und *M. anisopliae* als mögliche mikrobielle Kontrollagenzien. Die Mortalitätsraten von *V. destructor* sind abhängig von den verwendeten Pilz-Isolaten und dadurch stark schwankend. Befinden sich die Milben in der gedeckelten Brut, sind sie vor einer Pilzinfektion geschützt.

### 1.2.2.2 Krankheitserreger

Die Ausbreitung von Krankheiten im Bienenvolk wird meist durch infizierte Brutzellen und geschwächte Bienen erkannt. Ist die Anzahl der betroffenen Bienen gering, werden diese von den Arbeiterbienen aus dem Stock entfernt (Ritter, 2016).

#### **Viren**

Ist das Bienenvolk von der *Varroa*-Milbe befallen, kommt es in Folge häufig zu Viruserkrankungen. Für einige der 18 bekannten Honigbienenviren ist *V. destructor* als Vektor bedeutend. Die Viren können zwar bereits vor dem Milbenbefall im Bienenvolk präsent sein, es bleibt jedoch bei einer symptomlosen Infektion (Bowen-Walker et al., 1999). Dieser Zusammenhang ist vor allem bei Infektionen durch das Flügeldeformationsvirus (DWV) und das Akute Bienenparalysevirus (ABPV) deutlich zu erkennen (Anonymous, 2008 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010; [www.ag-bienenforschung.de](http://www.ag-bienenforschung.de)). Die Bienen sind durch ihre Kutikula gut gegen Vireninfectionen geschützt. Durch die Saugtätigkeit der Milben gelangen die Viren schneller in die Hämolymphe der Biene (Ritter, 2016). Dainat et al. (2009) beschreiben eine erfolgreiche Replikation des DWV in *Tropilaelaps mercedesae*, einer ektoparasitischen Milbe der Europäischen Honigbiene. Gründe für erhöhte Mortalität nach einer DWV-Infektion können außerdem eine Immunsuppression durch den Parasitenbefall oder gesteigerte Virulenz sein (Shen et al., 2005). Eine Infektion durch ABPV kann zu Zittern und Lähmungen führen, bis schließlich der Tod einsetzt. Das DWV verursacht Missbildungen der Flügel, wodurch die flugunfähigen Bienen verstoßen werden (Ritter, 2016).

#### **Bakterien**

Unter den bakteriellen Erkrankungen sind die Amerikanische (AFB) und Europäische Faulbrut (EFB) zu erwähnen. Die Amerikanische Faulbrut wird vom gram-positiven Bakterium *Paenibacillus larvae* hervorgerufen. Die gedeckelte Brut wird zersetzt und trocknet ein (Ritter,

2016). Eine Verbreitung der AFB Krankheit kann nur durch Verbrennen der infizierten Waben oder prophylaktische Antibiotikabehandlung gestoppt werden. Probleme beim Gebrauch von Antibiotika können die Bildung resistenter Stämme und Rückstände im Honig sein (Lodesani & Costa, 2005 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). In Europa ist der Gebrauch von Antibiotika in der Imkerei nicht zugelassen (Ritter, 2016).

Die Europäische Faulbrut wird durch das gram-positive Bakterium *Melissococcus plutonius* verursacht. Die Symptome sind hierbei die selben. Laut Voorhies et al. (1933) kann ein Austausch der Dunklen Europäischen Biene (*A. mellifera mellifera*) durch die resistente Italienische Biene (*A. mellifera ligustica*) eine Ausbreitung von EFB verhindern.

### **Mikrosporidien und Pilze**

Die Gattung *Nosema* gehört zu den Mikrosporidien, wobei in der Imkerei besonders die beiden Arten *N. apis* (Zander, 1909 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010) und *N. ceranae* (Fries et al., 1996) von Bedeutung sind. *Nosema*-Infektionen werden horizontal über Ingestion von Sporen übertragen und führen bei Honigbienen zu Entzündungen des Darmepithels und Durchfall. Die Verbreitung erfolgt über Sporen im abgesonderten Kot (van Engelsdorp & Meixner, 2010). Liegt die Stocktemperatur bei 34 °C, fördert dies die Vermehrung beider *Nosema*-Arten. Steigt sie auf 37 °C an, wird die weitere Entwicklung von *N. apis* gestoppt. *N. ceranae* reagiert auf niedrigere Temperaturen mit einem langsameren Entwicklungszyklus (Ritter, 2016).

Unter den Pilzkrankungen der Honigbiene ist der weltweit verbreitete Pilz *Ascosphaera apis* zu erwähnen, der Verursacher der sogenannten Kalkbrut (Chantawannakul et al., 2015). Über Ingestion gelangen Pilzsporen in den Verdauungstrakt der Bienenlarve, wo sie keimen und durch mechanische Schädigung und lytische Enzyme zum Tod der Larve führen können (Aronstein & Murray, 2010). Für eine erfolgreiche Fruchtkörperbildung an der Oberfläche der Larve sind zwei unterschiedliche Myzelstränge (+ und -) nötig (Davis & Ward, 2003). Begünstigt wird die Ausbreitung durch feuchte, kühle Standorte (Dallmann, 1966 zit. in Tutkun et al., 1993). Das Temperaturoptimum von *A. apis* liegt bei 30°C und kann im Stock durch unzureichende Bebrütung durch die Brutammen oder in wachsenden Brutnestern vorkommen (Maurizio, 1934 zit. Davis & Ward, 2003). Die weiß bis schwarz gefärbten „Mumien-Larven“ werden von den Arbeiterbienen aus dem Stock entfernt, um die Ausbreitung der Krankheit zu verhindern (Koenig et al., 1986 zit. in Davis & Ward, 2003). Die Sporen können bis zu 15 Jahre

infektiös bleiben und über kontaminiertes Bienenwachs auf gesunde Bienenstöcke übertragen werden (Bailey & Ball, 1991 zit. in Davis & Ward, 2003; Dallmann, 1966 zit. in Tutkun et al., 1993). Des Weiteren können Bienen Sporen an ihrem Körper transportieren und beim Sammelflug auf Pflanzen übertragen, wodurch diese in die Vorratszellen anderer Bienenstöcke gelangen (Vandenberg et al., 1980).

### **1.2.2.3 Pestizide**

Aktuelle Studien bestätigen eine Kontamination der verschiedenen Bienenerzeugnisse durch Pestizide (Krupke et al., 2012). Durch das Sammeln von Nektar, Pollen und Wasser gelangen die chemischen Stoffe in den Bienenstock (Samson-Robert et al., 2014). Die Anwendung bienentoxischer Pflanzenschutzmittel wurde in Europa durch die European Council Directive 91/414 weitestgehend eingeschränkt, so auch jene der Neonicotinoide (<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:31991L0414>). In den Vordergrund rücken Substanzen mit sub-letalen Effekten, welche nach einer lang- oder kurzzeitigen Exposition auftreten können. Die Folgen können Paralyse, Desorientierung oder Verhaltensänderungen sein (van Engelsdorp & Meixner, 2010). In diesem Zusammenhang beschreiben van Engelsdorp et al. (2009) das Aufkommen sogenannter „entomed pollen“. Der Gehalt an Pestiziden ist hierbei signifikant erhöht.

### **1.2.2.4 Genetisch verändertes Pflanzgut**

Um negative Effekte durch die Anwendung verschiedener Pestizide auf Bestäuber zu minimieren wurden genetisch veränderte Organismen (GVOs) entwickelt. Bedenken, dass GMOs schädigende Wirkung auf Bienen haben könnten wurden bisher nicht verifiziert (Malone & Pham-Delègue, 2001 zit. in van Engelsdorp & Meixner, 2010). So konnte zum Beispiel bei genetisch modifiziertem Bt-Mais keine Steigerung der Mortalitätsrate (Rose et al., 2007) und auch keine Änderung der Mikroflora im Darm (Babendreier et al., 2007) und der Futtersaftdrüse nachgewiesen werden (Malone et al., 2004).

### 1.3 Ziele der Arbeit

Um die Auswirkungen von EPP Sporen im Bienenstock einschätzen zu können, wurden in dieser Studie die Keimung und das Wachstum von *Beauveria bassiana* (Boden- und Käferisolat), *B. brongniartii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride* und *Isaria fumosorosea* unter Einfluss von

- Propolis,
- Gelée Royale,
- Linden- und Akazienhonig untersucht.

Zusätzlich sollte geklärt werden, ob allfällige Hemmungen

- reversibel oder
- irreversibel sind.

## 2 Material und Methoden

Um die Interaktionen zwischen Propolis, Gelée Royale, Linden-, Akazien- und Waldhonig und den sechs Pilzisolaten zu untersuchen wurden Keimungs- und Hemmhoftests durchgeführt. Die verwendeten Pilz-Arten und Isolate stammen aus Sammlungen von R. Wegensteiner und C. Tkaczuk (siehe Tab. 6).

Tab. 6: Herkunft der Pilz-Arten und Isolate für die Durchführung von Keimungstests (Plättchen-Diffusionstest, Formulierung der Konidien mit Gellée Royale, Linden- und Akazienhonig, bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige und Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat) und Hemmhoftests.

<b>Pilz</b>	<b>Isolat</b>	<b>Herkunft</b>	<b>Sammlung</b>
<i>Beauveria bassiana</i>	Boden	Österreich	R. Wegensteiner, IFFF, BOKU
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Scolytinae</i>	Österreich	R. Wegensteiner IFFF, BOKU; C. Tkaczuk
<i>Beauveria brongniartii</i>	<i>Hylobius abietis</i>	Österreich	R. Wegensteiner, IFFF, BOKU; C. Tkaczuk
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Boden	Österreich	R. Wegensteiner, IFFF, BOKU; C. Tkaczuk
<i>Metarhizium flavoviride</i>	Boden	Polen	C. Tkaczuk
<i>Isaria fumosorosea</i>	Boden	Österreich	R. Wegensteiner, IFFF, BOKU

Aufgrund der zum Teil schlechten Keimungsraten einiger Isolate wurden einzelne Keimungstests mit frischen Isolaten wiederholt (siehe Tab. 7).

Tab. 7: Herkunft der Pilz-Arten und Isolate für die Durchführung von Keimungstests (Formulierung der Konidien mit Gellée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) und Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat).

<b>Pilz</b>	<b>Isolat</b>	<b>Herkunft</b>	<b>Sammlung</b>
<i>Beauveria bassiana</i>	Boden	Österreich	R. Wegensteiner, IFFF, BOKU; C. Tkaczuk
<i>Isaria fumosorosea</i>	Boden	Österreich	R. Wegensteiner, IFF, BOKU; C. Tkaczuk

Propolis, Gelée Royale und Akazienhonig wurden vom IBZ-Bienenhof, Bienen- und Naturproduktehandels GmbH (Wien), zur Verfügung gestellt. Bei Propolis handelte es sich um ein naturbelassenes Produkt, welches in einem Glas luftdicht und lichtgeschützt, bei Raumtemperatur ( $22\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ) gelagert wurde. Gelée Royale wurde bei  $4\text{ °C}$  im Kühlschrank aufbewahrt. Der Lindenhonig stammt von Fam. Heller aus Wien und wurde gemäß den Demeter Richtlinien erzeugt. Der Waldhonig kommt von Michael und Alexander Opitz aus Sachsen, Oberösterreich. Die Lagerung aller Honigsorten erfolgte bei Raumtemperatur ( $22\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ). Da durch Lichteinwirkung die Enzymaktivität der Bienenerzeugnisse herabgesetzt werden könnten, wurde auf eine lichtgeschützte Lagerung geachtet. Bei der Auswahl der verwendeten Honige, wurde darauf geachtet, dass die Kristallisierung noch nicht weit fortgeschritten war. Zu starke Kristallisierung würde den Versuchsaufbau erschweren und möglicherweise die Ergebnisse verfälschen. Auf die Verflüssigung der Honige durch ein Wasserbad bei  $40\text{ °C}$  wurde verzichtet, da dies die Wirkung des Naturproduktes bereits geringfügig verändern könnte. Zum Beispiel beschreiben Dold et al. (1937 zit. in Al-Mughrabi, 2003) die Inaktivierung der Glucose-Oxidase durch Erhitzen. Da sowohl Linden- als auch Akazienhonig kaum bzw. sehr spät kristallisieren, fiel die Wahl auf diese Honigsorten. Der Waldhonig war aufgrund des höheren Melezitosegehalts bereits bei Beginn der Untersuchungen stärker kristallisiert. Ein weiteres Kriterium war die Reinheit des Honigs, darum wurden die Honige auf mögliche Kontaminationen durch Pilze und Bakterien untersucht.

Für die Keimungs- und Hemmhofstests wurde Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Lab M Ltd, LAB009) als Nährmedium verwendet. Dazu wurde der Agar für 20 min bei  $121\text{ °C}$  autoklaviert und anschließend in Petrischalen gegossen ( $9\text{ cm } \varnothing$ ).

Die verwendeten Pilzisolat wurden mindestens 3 Wochen vor Versuchsbeginn auf SDA kultiviert, um eine große Anzahl an reifen Konidien sicherstellen zu können. Die sporulierenden Pilze wurden mit steril-filtrierte (Cellulose-Membran-Filter,  $0,2\text{ }\mu\text{m}$ ) Wasser geflutet und die Konidien mittels Glasspatel in Suspension gebracht. Zur besseren Ablösung der Sporen im Wasser wurde ein Tropfen Tween 80 (Merck, 822187) beigegeben. Die Konzentration der Sporensuspension wurde mittels Bürker-Türk-Blutkörperchen-Zählkammer bestimmt, diese betrug  $1\text{ bis }2,9 \times 10^7$  Sporen/ml. Die Suspension wurde mit einem Glasspatel auf dem Nährmedium verstrichen, wobei die aufgebrauchte Menge je Versuchsvariante beibehalten wurde (Keimungstest  $\sim 40\text{ }\mu\text{l}$ , Hemmhofstest  $\sim 80\text{ }\mu\text{l}$ ). Die Petrischalen wurden mit

Parafilm verschlossen und bei 22 °C ( $\pm 1$  °C) und Dunkelheit im Klimaschrank (Memmert ICP 500) inkubiert. Dazu wurden die Petrischalen in einen Karton gestellt und dieser mit einem schwarzen Plastiksack umhüllt. Grund dafür war, annähernd gleiche Lichtbedingungen, wie sie im Bienenstock vorherrschen, zu simulieren. Da der Klimaschrank nicht genügend Platz für alle Petrischalen bot, wurden die Versuche in Einheiten angesetzt.

Da es bei den Hemmhoftests mit *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) starke Wachstumseinschränkungen gab und diese womöglich mit mangelndem Gasaustausch zusammenhängen könnten (Garza-López et al., 2012), wurde bei den weiteren Hemmhoftests auf eine regelmäßige Luftzufuhr geachtet. Dazu wurde der Parafilm ab einer Inkubationszeit von 72 h stellenweise eingeschnitten und der Deckel der Petrischale 2x/Woche leicht angehoben.

## 2.1 Untersuchung der Testsubstanzen auf Kontaminanten

Petrischalen mit Objektträgern wurden mit SDA ausgegossen. Es wurden Propolisplättchen auf den abgekühlten Agar gelegt bzw. Honig und Gelée Royale mittels Glasspatel auf dem Nährboden verstrichen und mit Parafilm verschlossen. Die Lagerung erfolgte im Klimaschrank bei 22 °C ( $\pm 1$  °C) und Dunkelheit. Pro Substanz wurden sechs Petrischalen angelegt.

Zusätzlich wurden Gelée Royale, Linden- Akazien- und Waldhonig auf Objektträgern ohne Agar verstrichen und sofort mikroskopisch untersucht.

Waldhonig als eine der Testsubstanzen zu verwenden wurde nach dem ersten Versuch wieder unterlassen. Es stellte sich heraus, dass die Kristallisation bereits während der Versuche zunahm und somit die Ergebnisse nicht vergleichbar wären. Außerdem konnte beim Versuch mit *B. brongniartii* bei vielen der Agarplatten des Hemmhoftests eine Kontamination ausgehend vom Waldhonig beobachtet werden. Wobei zu erwähnen ist, dass es sich bei *B. brongniartii* möglicherweise um keine Reinkultur handelte und das Wachstum stark gehemmt war. Aus diesem Grund wurde für die weiteren Versuche ein frisches Pilzisolat von *B. brongniartii* verwendet und der Versuch mit Linden- und Akazienhonig, anstelle des Waldhonigs, wiederholt.

## 2.2 Keimungstest

### 2.2.1 Plättchen-Diffusionstest

Mittels Plättchen-Diffusionstest wurde die Keimfähigkeit der Pilzsporen unter Einfluss der Testsubstanzen bestimmt. Dafür wurde ein Objektträger in eine Petrischale gelegt und dieser mit einer dünnen Schicht SDA übergossen. Die hergestellte Sporensuspension wurde mit Hilfe eines Glasspatels auf dem abgekühlten Nährmedium, entlang des Objektträgers, verstrichen (~ 40 µl). Anschließend wurde in die Mitte des Objektträgers je ein Filterplättchen mit der Testsubstanz bzw. ein aus Propolis geformtes Plättchen gelegt. Dazu wurde das Filterplättchen (9 mm Ø) für 1,5 h bei 150 °C im Heizschrank (Heraeus) sterilisiert. War die zu testende Substanz Honig, wurde das sterilisierte Plättchen 2 Tage vor Versuchsbeginn in Honig gelegt und nach 2 h zum Abrinnen des Überschusses in eine sterile Petrischale gegeben (~ 80 mg Honig/Filterplättchen). Das Propolis wurde von Hand (mit einem Einweghandschuh) zu etwa gleich großen runden Plättchen geformt (~ 9 mm Ø, 90 mg). Gelée Royale wurde unmittelbar vor Herstellung der Sporensuspension mittels Spatel auf das Plättchen gestrichen (~ 60 mg). Alle derart vorbereiteten Plättchen wurden in luftdicht verschlossenen Petrischalen und lichtgeschützt aufbewahrt. Als Kontrolle wurden 30 µl steril-filtriertes Wasser auf ein Filterplättchen pipettiert. Pro Pilz-Art und Substanz wurden neun Petrischalen vorbereitet.

Die Keimungsrate wurde nach 24, 48 und 72 h ermittelt. Um nach Ablauf der Inkubationszeit ein weiteres Pilzwachstum zu unterdrücken und die Pilzsporen zu färben wurde Lactophenolblau (Merck, 13741) verwendet. Die Konidien wurden unter dem Durchlichtmikroskop (Reichert-Jung, Polyvar), bei 40facher Vergrößerung auf gekeimten oder nicht gekeimten Zustand untersucht. Um die Keimungsrate zu bestimmen wurden in 0, 5, 10 und 15 mm Abständen vom Plättchen je 100 Sporen ausgezählt und die Anzahl der gekeimten Sporen notiert (siehe Abb. 6).

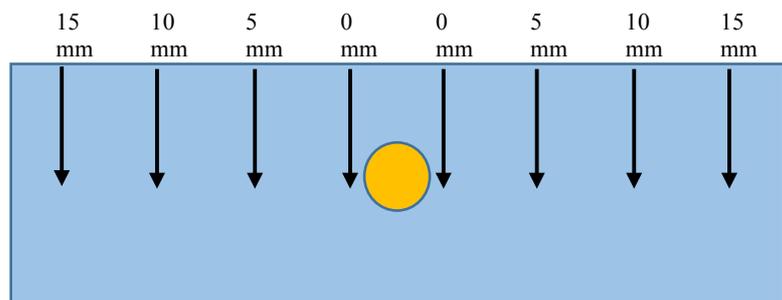


Abb. 6: Darstellung der Zählpunkte beim Plättchen-Diffusionstest (0, 5, 10 und 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen)

Somit ergaben sich pro Abstand zur Testsubstanz und Zeiteinheit sechs Zählpunkte, die zur statistischen Auswertung herangezogen wurden. Durch diese Untersuchung konnte die Sporenkeimung unter Einfluss der Testsubstanzen und in Bezug auf den Abstand zur Substanz getestet werden. Jedoch ist anzumerken, dass eine Diffusion der Testsubstanzen auf dem SDA oder in das Medium nicht analysiert werden konnte.

### **2.2.2 Formulierung der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige)**

Um die direkten Auswirkungen von Bienenerzeugnissen auf die Keimung der Pilzsporen untersuchen zu können, wurde die hergestellte Sporensuspension mit Honig bzw. Gelée Royale vermischt. Da es sich bei Propolis um eine feste Substanz handelt, konnte dieser Versuch nicht durchgeführt werden. Die Pilzplatten wurden mit wenig steril-filtrierte Wasser geflutet, um den Wasseranteil möglichst gering zu halten. Die Sporensuspension wurde anschließend mit Honig bzw. Gelée Royale verdünnt, wobei das Verhältnis von Bienenerzeugnis zu steril-filtrierte Wasser 4:1 betrug. Im Falle von Linden- und Akazienhonig wurden weitere Suspensionen mit einem Verhältnis von 1:1 hergestellt, um den Einfluss des höheren Wassergehaltes auf die Konidien zu detektieren. Zusätzlich wurden die Konidien in Lindenhonig-Konzentrat formuliert (siehe Kapitel 2.2.3 Formulierung der Konidien in Lindenhonig-Konzentrat). Gelée Royale wurde nicht weiter verdünnt, da dieser wie oben bereits erwähnt einen Wasseranteil von etwa 70 % aufweist. Als Kontrolle wurde eine rein wässrige Sporensuspension verwendet. Beim Versuch mit *M. anisopliae* wurden lediglich 4:1 Verdünnungen angefertigt und untersucht, da das Pilz-Isolat bereits bei der Kontrollvariante schlechte Keimungsraten aufwies. Aufgrund der schlechten Keimungsraten, musste der Versuch des Öfteren wiederholt werden.

Die verschiedenen Suspensionen (~ 40 µl) wurden mittels Glasspatel auf dem abgekühlten Nährboden verstrichen, wobei auch hier ein Objektträger mit SDA übergossen wurde. Pro Pilz-Art, Substanz und Verdünnung wurden 12 Petrischalen vorbereitet und im Klimaschrank inkubiert. Die Kontrolle der Keimungsraten erfolgte nach 24, 48 und 72 h. Nachdem die Pilze mittels Lactophenolblau abgetötet und gefärbt worden waren, wurden die Sporen unter dem Durchlichtmikroskop, bei 40facher Vergrößerung auf gekeimten oder nicht gekeimten Zustand untersucht. Die Petrischalen mit Gelée Royale als Testsubstanz wurden nicht mit Lactophenolblau behandelt, da sich durch das Bestreichen, das Gelée Royale vom Nährboden löste und somit die Sporen nicht mehr sichtbar waren.

Die Keimungsrate wurde anhand von vier zufällig ausgewählten Zählpunkten ermittelt, wobei jeweils 100 Sporen ausgezählt wurden. Dadurch ergaben sich pro Testsubstanz, Verdünnung und Zeiteinheit 16 Zählpunkte, die statistisch ausgewertet wurden. Durch diesen Versuch konnte die Sporenkeimung unter direktem Einfluss der Testsubstanzen überprüft werden.

### **2.2.3 Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat**

Ein weiterer Keimungstest wurde mit Lindenhonig durchgeführt, dabei wurde der Honig nicht mit Wasser verdünnt. Der Honig (~ 500 mg) wurde mittels Glasspatel auf dem mit SDA übergossenen Objektträger verstrichen. In diesem Fall wurde keine Sporensuspension hergestellt, sondern die Konidien direkt mit Hilfe einer Glasspatel auf dem mit Honig überzogenen Objektträger verstrichen. Dadurch konnte die genaue Konzentration nicht ermittelt werden, diese war allerdings höher als bei den anderen Versuchen. Es wurde pro Zeiteinheit (24, 48 und 72 h) eine Platte vorbereitet und im Klimaschrank inkubiert. Akazienhonig wurde bei dieser Versuchsreihe nicht verwendet, da dieser zu viele Kontaminanten aufwies. Ebenso wurden nicht alle Pilz-Isolate herangezogen. Der Versuch wurde mit *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat), *B. brongniartii* und *I. fumosorosea* durchgeführt.

Die Keimungsraten wurden unter dem Durchlichtmikroskop, bei 40facher Vergrößerung bestimmt. Es wurden pro Platte vier Zählpunkte gewählt und die Keimzahlen geschätzt, da eine genaue Bestimmung der gekeimten Sporen aufgrund der hohen Konzentration und der Zusammenballung der Sporen nicht möglich war.

## **2.3 Hemmhofstest**

Um eine mögliche Wachstumshemmung des Pilzes unter Einfluss der Testsubstanzen zu ermitteln wurde ein Hemmhofstest angewandt. Hierbei wurden Petrischalen mit einem SDA vorbereitet und die hergestellte Sporensuspension mittels Glasspatel auf dem abgekühlten Nährmedium verstrichen (~ 80 µl). Es wurde versucht, eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Sporen zu gewährleisten. In die Mitte der Petrischale wurde, wie oben beschrieben, je ein Filterplättchen mit der jeweiligen Testsubstanz bzw. ein Propolis-Plättchen gelegt. Als Kontrolle wurde wieder steril-filtriertes Wasser verwendet. Pro Pilz-Art und Substanz wurden 10 Petrischalen angelegt.

Das Wachstum wurde ab dem dritten Tag, in Abständen von 3 bis 4 Tagen kontrolliert. Hierbei wurde bei erkennen eines Hemmhofes, zweimal der minimale und maximale Hemmhofdurchmesser mittels Schiebelehre vermessen. Die Vermessung der Hemmhöfe wurde 2 bis 8 Wochen durchgeführt, bis keine Änderung im Wachstum mehr festgestellt werden konnte oder der Hemmhof zugewachsen war. Da der Klimaschrank nicht genügend Platz für alle Versuchsreihen bot, wurden die Pilze nach zwei Wochen in einen anderen Klimaschrank (Ing. Linder KG) übersiedelt und dort weiterhin bei 22 °C ( $\pm 2$  °C) inkubiert.

Die Petrischalen wurden mit Parafilm verschlossen, dies könnte wie oben bereits erwähnt zu mangelndem Gasaustausch und somit Wachstumseinschränkungen bei *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) geführt haben (Garza-López et al., 2012), darum wurde bei den weiteren Hemmhoftests auf eine regelmäßige Luftzufuhr geachtet. Dazu wurde der Parafilm ab einer Inkubationszeit von 72 h stellenweise eingeschnitten und der Deckel der Petrischale 2x/Woche leicht angehoben.

## 2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS Statistics 21. Die Keimungsraten wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und anschließend mittels Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft. Das Signifikanzniveau lag bei 0,05 und das Konfidenzintervall bei 95 %. Allerdings wurde das Signifikanzniveau für jede Fragestellung mittels Bonferroni-Methode korrigiert, da die Anzahl der durchgeführten Tests miteinbezogen werden muss, um eine  $\alpha$ -Fehler-Kumulierung zu vermeiden. Zum besseren Vergleich der detaillierten Ergebnisse sind die Tabellen der Bonferroni-Korrektur auch im Anhang angeführt (siehe Anh. Tab. 2, Anh. Tab. 50, Anh. Tab. 63 & Anh. Tab. 70).

Getestet wurde auf signifikante Unterschiede der Keimfähigkeit zwischen

- den Versuchen mit Einfluss der Bienenerzeugnisse und der Kontrolle pro Pilz-Isolat
- den sechs Pilz-Isolaten pro Testsubstanz und Kontrolle und
- den verwendeten Testsubstanzen inkl. Verdünnungen pro Pilz-Isolat.

Die Faktoren Zeit (24, 48 und 72 h) und Entfernung (0, 5, 10 und 15 mm) wurden dabei berücksichtigt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Untersuchung der Testsubstanzen auf Kontaminanten

Das folgende Kapitel stellt die Ergebnisse der Kontaminationsuntersuchung der Bienenerzeugnisse dar. Damit sollte sichergestellt werden, dass Propolis, Gelée Royale und die Honige möglichst rein sind und die getesteten EPP nicht durch Verunreinigungen in ihrer Keimung und ihrem Wachstum beeinflusst werden.

Partikel im Akazienhonig waren bereits nach 24 h zu erkennen, jedoch war keine Identifizierung möglich. Nach 48 h wurden Stäbchenbakterien festgestellt. Akazienhonig wies nach 3 Tagen eine Pilzkontamination auf. Die Platten wurden 3 Wochen im Klimaschrank inkubiert, um die Sporenbildung zu fördern und dadurch eine genauere Bestimmung des Pilzes zu ermöglichen. Die Kontaminanten wurden als *Penicillium sp.* und *Aspergillus sp.* diagnostiziert, wobei *Penicillium sp.* deutlich dominierte. Ebenso wurden Hefezellen gefunden. Bei Untersuchung des Lindenhonigs und Propolis wurden nach 4 Tagen lediglich wenige Hefezellen gefunden.

Eine Kontamination des Waldhonigs durch Hefesporen, war bereits nach 48 h und bakterienähnlichen Mikroben nach 72 h zu sehen. Nach 5 Tagen war an zwei weiteren Petrischalen eine Kontamination festgestellt worden. Unter mikroskopischer Betrachtung wurden auch hierbei bakterienähnliche Mikroben und Hefesporen im Honig diagnostiziert.

Gelée Royale wies keine Verunreinigungen durch Pilze oder Bakterien auf.

Bei mikroskopischer Untersuchung des Gelée Royale, Linden-, Akazien- und Waldhonigs auf Objektträgern ohne Agar, wurden nicht-identifizierbare Partikel und Kristalle registriert.

### 3.2 Keimungstest

Um den Einfluss der getesteten Bienenerzeugnisse auf die Keimung unterschiedlicher EPP festzustellen, wurden Keimungstests durchgeführt. Dabei wurden verschiedene Methoden angewendet:

- Plättchen-Diffusionstest
- Formulierung der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige
- Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat

### 3.2.1 Plättchen-Diffusionstest - Vergleich der Bienenerzeugnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Keimung, die mit Plättchen-Diffusionstests ermittelt wurden dargestellt. Bei diesen Versuchen wurden wässrige Sporensuspensionen angefertigt. Die Analyse der Daten erfolgt pro Pilz-Isolat nach den Bienenerzeugnissen. Es wurden prozentuelle Mittelwerte gebildet und die Abweichungen mittels Standardfehler dargestellt. Beim Vergleich der Keimzahlen wurden die Faktoren Zeit, Distanz und Substanz berücksichtigt. Im Text wird auf die signifikanten Unterschiede hingewiesen, dabei wurde zwischen signifikant, hoch signifikant und höchst signifikant unterschieden. Die Werte der Signifikanzniveaus wurden mittels Bonferroni-Korrektur angepasst (siehe Tab. 8). Die zahlenmäßigen Details sind im Anhang aufgelistet.

Tab. 8: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurden die Faktoren Zeit, Distanz und Substanz berücksichtigt.

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte		
		Vergleich der Zeiteinheiten	Vergleich der Distanzen	Vergleich der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,016	< 0,0083	< 0,005
hoch signifikant	< 0,01	< 0,003	< 0,0017	< 0,001
höchst signifikant	< 0,001	< 0,0003	< 0,00017	< 0,0001

#### 3.2.1.1 *Beauveria bassiana* – Bodenisolat

##### 3.2.1.1.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Die Keimungsraten von *B. bassiana* (Bodenisolat) lagen nach 24 h bei 90,8 – 93,0 %. Die 3 %ige Schwankungsbreite, ergab keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,833$ ). Nach 48 h lag die Keimfähigkeit bei 100 % und ergab somit einen höchst signifikanten Anstieg ( $p = 0,000$ ) (siehe Tab. 9, Abb. 7, & Anh. Tab. 2).

Tab. 9: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	91,8	90,8	91,8	93,0
	48	100	100	100	100
	72	100	100	100	100

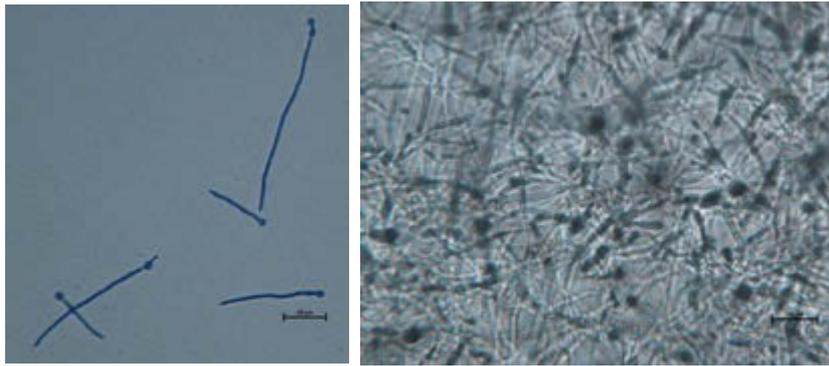


Abb. 7: *B. bassiana* (Bodenisolat) beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.1.2 Propolis

Die Keimfähigkeit von *B. bassiana* war durch den Einfluss von Propolis nach 24 h, bei 0 mm Entfernung im Vergleich zur Kontrolle (siehe Tab. 9) nicht signifikant gehemmt ( $p = 0,180$ ). Lediglich nach 48 h und 0 mm Entfernung gab es eine signifikant geringere Keimung im Vergleich zur Kontrollvariante ( $p = 0,002$ ).

Die Keimungsraten waren nach 48 h, bei den Distanzen 0, 5 und 15 mm signifikant erhöht ( $p < 0,016$ , siehe Anh. Tab. 2) (siehe Abb. 8). Mit dem Abstand von 5 mm zum Propolis-Plättchen konnte sich die Anzahl der gekeimten Sporen nach 24 h signifikant steigern ( $p = 0,004$ ) (siehe Tab. 10).

Tab. 10: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	77,3	92,5	87,5	94,5
	48	80,5	100	100	100
	72	97,5	100	100	100

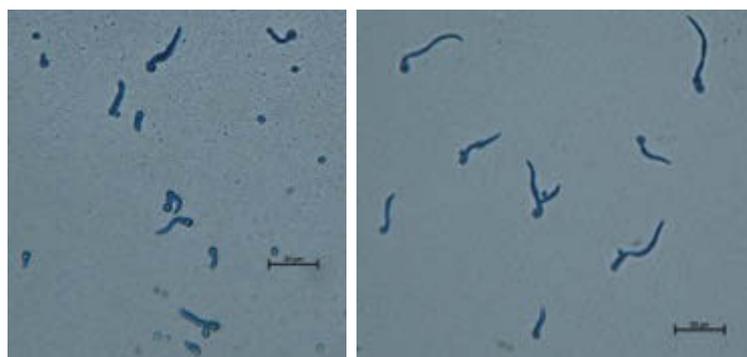


Abb. 8: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.1.3 Gelée Royale

Gelée Royale hatte großen Einfluss auf die Keimfähigkeit von *B. bassiana*. Nach 24 h konnte bei einer Distanz von 0 mm eine zu 40 % geringere Keimung im Vergleich zur Kontrolle (siehe Tab. 9) festgestellt werden. Der Wert war signifikant unterschiedlich ( $p = 0,002$ ). Bei weiterer Entfernung wurden keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt ( $p > 0,005$ , siehe Anh. Tab. 3). Auch nach 48 und 72 h waren die Unterschiede zur Kontrolle bei 0 mm signifikant erniedrigt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ).

Nach 48 h kam es über die gesamte Distanz (0 – 15 mm) zu hoch signifikanten Anstiegen der Keimungsraten (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 9). Außerdem hatte die Entfernung zum Wirkstoff einen Einfluss auf die Keimungsraten, diese waren über die gesamte Versuchsdauer bei 5 mm signifikant erhöht (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 11 & Anh. Tab. 3).

Tab. 11: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	49,2	84,6	83,0	93,8
	48	83,0	100	100	100
	72	84,5	100	100	100

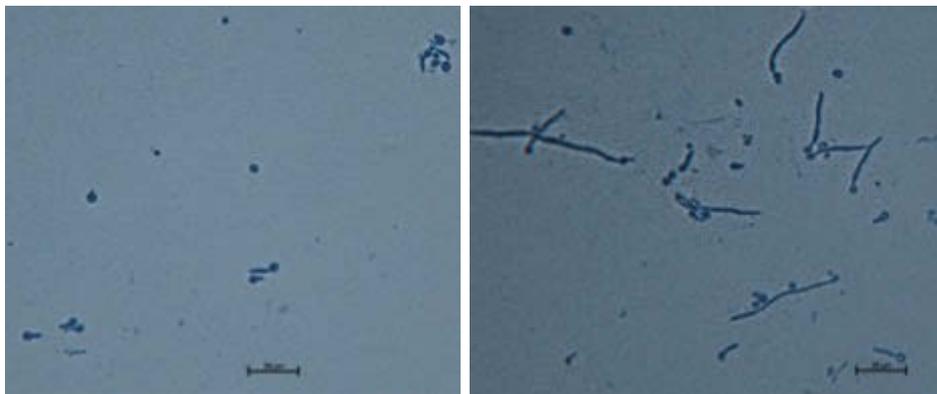


Abb. 9: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.1.4 Honig

Bei den getesteten Honigsorten wiesen sowohl Linden- als auch Akazienhonig im Vergleich zur Kontrolle nach 24 h, bei 0 mm Entfernung signifikant niedrigere Keimfähigkeit von *B. bassiana* auf (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 10). Bei Lindenhonig war dieser signifikante Effekt auch nach 48 h noch ersichtlich ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 9).

Es gab sowohl bei Linden- als auch bei Akazienhonig auf eine Distanz von 0 – 15 mm nach 48 h hoch signifikant erhöhte Keimungsraten (in allen Fällen  $p = 0,003$ ). Mit der Entfernung (5 mm) zum Applikationsplättchen stieg beim Versuch mit Lindenhonig die Keimungsrate nach 24 und 48 h signifikant an (in allen Fällen  $p = 0,004$ ) (siehe Tab. 12 & Anh. Tab. 4 & 5).

Tab. 12: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	55,6	88,0	88,2	86,8
	48	93,3	99,5	99,8	100
	72	99,5	100	100	100
Akazienhonig	24	71,8	84,5	91,3	91,5
	48	99,0	99,5	99,8	99,8
	72	100	100	100	100



Abb. 10: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.1.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Im direkten Vergleich der getesteten Substanzen zeigten sich unterschiedliche Auswirkungen auf die Keimungsrate von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) Konidien (siehe Abb. 11).

Die Keimfähigkeit von *B. bassiana* wurde vor allem durch Gelée Royale, bei einer Entfernung von 0 mm vom Applikationsplättchen, gehemmt. Die Unterschiede zur Kontrolle, Propolis und Akazienhonig waren hierbei nach 24 h signifikant (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Diese signifikanten Unterschiede blieben beim Vergleich von Gelée Royale mit der Kontrolle und Akazienhonig auch nach 48 und 72 h bestehen (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Wobei sich nach 72 h auch Lindenhonig signifikant von Gelée Royale unterschied ( $p = 0,002$ ) und eine um 15 % höhere Keimungsrate aufwies (siehe Anh. Tab. 26).

Trotzdem war die Behandlung mit Lindenhonig nach Gelée Royale die Variante mit der größten negativen Auswirkung auf die Keimungsrate. Wie oben bereits erwähnt wurden nach 24 h, bei 0 mm signifikante Keimhemmungen beim Vergleich von Linden- und Akazienhonig zur Kontrolle festgestellt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Nach 48 h war eine signifikant reduzierte Keimung durch den Einfluss von Propolis und Lindenhonig nachweisbar (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 11 & Anh. Tab. 26 - 29).

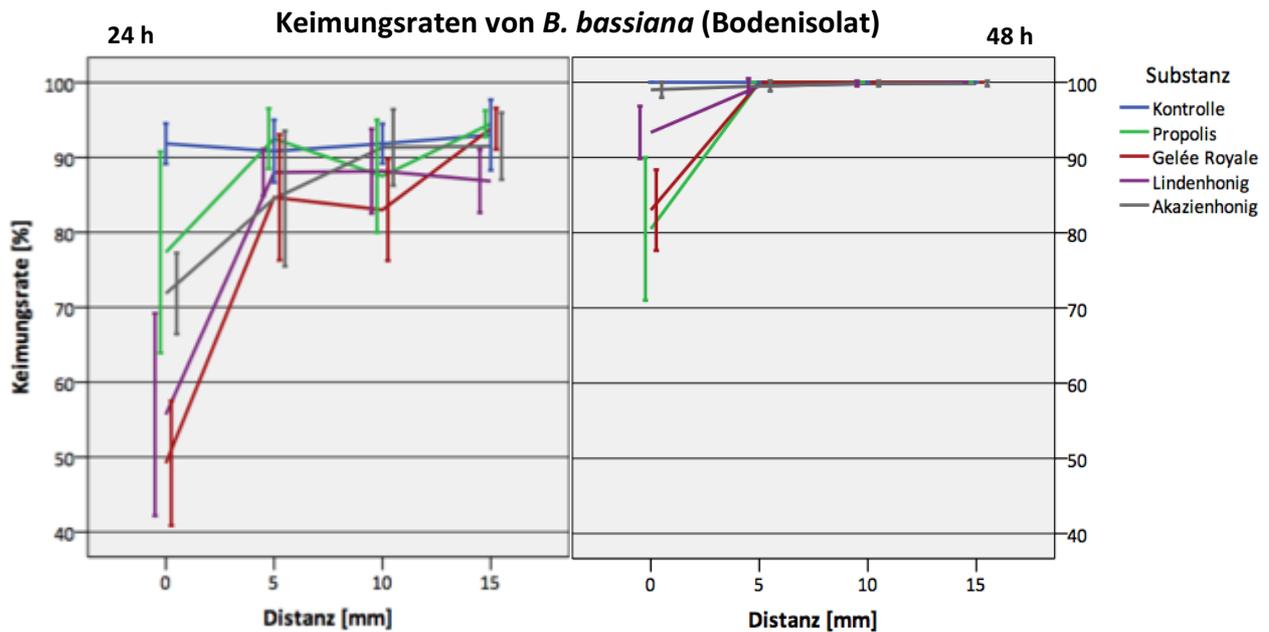


Abb. 11: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.1.2 *Beauveria bassiana* – Käferisolat

#### 3.2.1.2.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Die Keimungsrate von *B. bassiana* (Käferisolat) lag in Abhängigkeit von der Distanz nach 24 h bei etwa 97 %, mit einer Schwankungsbreite von ca. 1 %. Nach 48 h wurde eine Keimfähigkeit von 100 % verzeichnet, die Zunahme war höchst signifikant ( $p = 0,000$ ) (siehe Tab. 13, Abb. 12 & Anh. Tab. 6).

Tab. 13: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	97,2	98,2	98,8	97,7
	48	100	100	100	100
	72	100	100	100	100

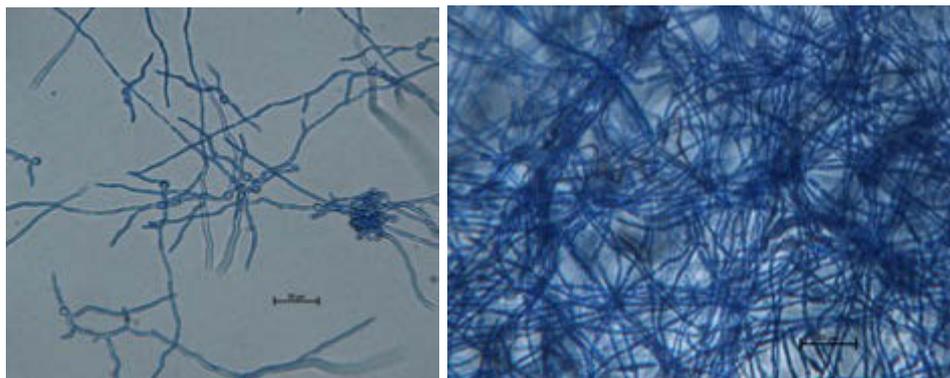


Abb. 12: *B. bassiana* (Käferisolat) beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.2.2 Propolis

Bei einer Entfernung von 0 mm wurde nach 24 h eine Keimungsrate von etwa 80 % beobachtet. Dieser Wert war signifikant niedriger im Vergleich zur Kontrolle ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 13). Die Faktoren Zeit (48 h) und Distanz (ab 5 mm) führten zu signifikant steigenden Keimungsraten ( $p < 0,016$ , siehe Anh. Tab. 6 bzw.  $p = 0,004$ ) (siehe Tab. 14 & Abb. 13).

Tab. 14: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	80,5	95,3	98,2	98,7
	48	96,3	99,8	100	100
	72	96,7	100	100	100

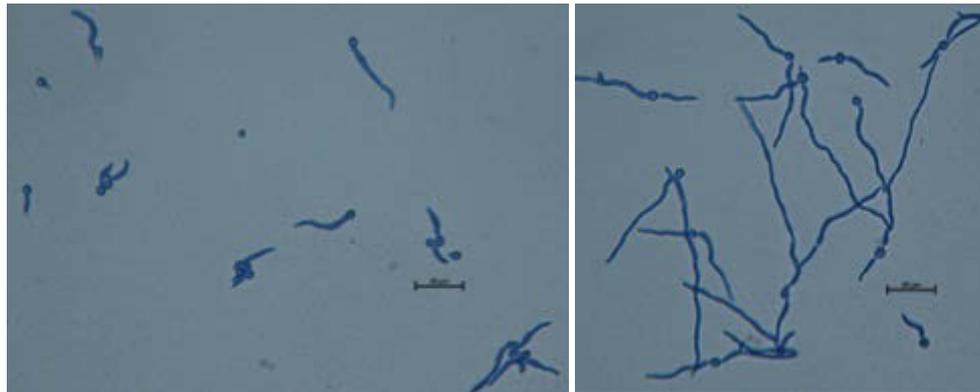


Abb. 13: *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.2.3 Gelée Royale

*B. bassiana* wies starke Keimhemmung bei Vorhandensein von Gelée Royale auf. Die Keimungsrate lag nach 24 h (0 mm) bei etwa 38 % und war somit im Vergleich zur Kontrolle signifikant verringert ( $p = 0,002$ ). Der signifikante Unterschied zur Kontrolle blieb auch nach 48 h und 72 h bestehen (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 13).

Nach 48 h kam es bei allen Distanzen zu hoch signifikanten Steigerungen der Keimungsraten (in allen Fällen  $p = 0,003$ ) (siehe Abb. 14). Die Keimung nahm auch mit der Entfernung (5 mm) zum Applikationsplättchen über den zeitlichen Verlauf (24 – 72 h) weiter zu und zeigte signifikante Unterschiede (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 15 & Anh. Tab. 7).

Tab. 15: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	38,6	86,7	93,8	92,3
	48	81,2	99,7	99,8	100
	72	78,5	100	100	100

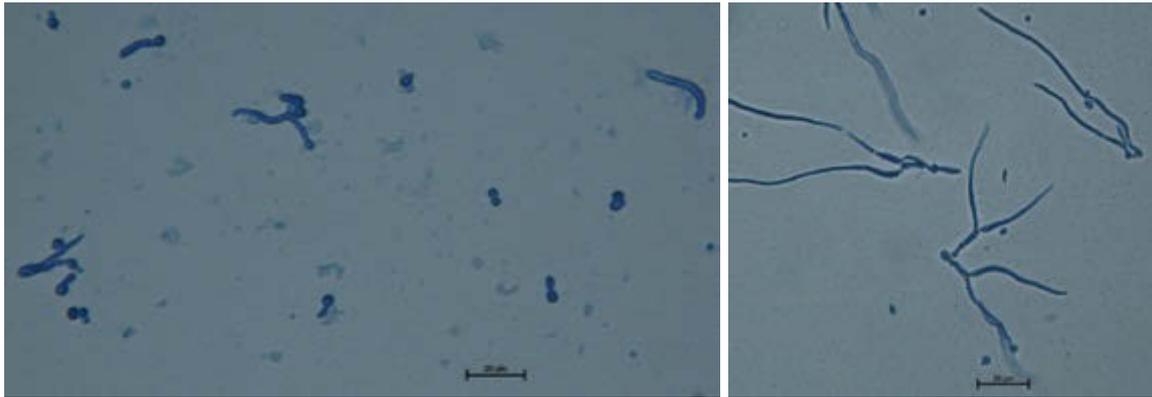


Abb. 14: *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.2.4 Honig

Die Wirkungen der beiden Honigsorten auf die Keimungsrate waren annähernd gleich. Es wurden lediglich nach 24 h und einer Entfernung von 0 mm signifikant verringerte Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle beobachtet (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 13 & Abb. 15).

Linden- und Akazienhonig zeigten nach 48 h auf der gesamten Agarplatte signifikante bis hoch signifikante Erhöhungen der Keimfähigkeit ( $p < 0,016$  bis  $p < 0,003$ , siehe Anh. Tab. 8 - 9). Mit zunehmendem Abstand (5 mm) zu den beiden Testsubstanzen erhöhten sich die Keimungsraten nach 24 h signifikant (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 16).

Tab. 16: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	71,7	94	95,8	96,5
	48	95,5	100	100	100
	72	100	100	100	100
Akazienhonig	24	79,5	96,8	97,2	97,0
	48	100	100	100	100
	72	100	100	100	100



Abb. 15: *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.2.5 Vergleich der Substanzen (Bienenerzeugnisse und Kontrolle)

Die Keimungsrate von *B. bassiana* (Käferisolat) Konidien wurde im Vergleich zur Kontrolle nach 24 h, bei 0 mm Entfernung von allen getesteten Substanzen signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 16 & Anh. Tab. 30).

Beim Vergleich der Testsubstanzen wies vor allem Gelée Royale eine anhaltend hemmende Wirkung auf. Gelée Royale zeigte nach 24 h und einer Distanz von 0 mm signifikant geringere Keimungsraten im Unterschied zur Kontrolle, Akazienhonig, Lindenhonig und Propolis (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Dieser Effekt blieb beim Vergleich zu Akazienhonig, Propolis und der Kontrolle auch nach 48 h und 72 h bestehen. Wobei sich nach 72 h (0 mm) auch Lindenhonig wieder signifikant von Gelée Royale unterschied und eine um etwa 10 % erhöhte Keimungsrate aufwies (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Bei einer Distanz von 5 mm konnte nach 24 h lediglich beim Vergleich von Gelée Royale mit der Kontrolle und Akazienhonig signifikant verringerte Keimfähigkeit verzeichnet werden (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Anh. Tab. 30 - 33).

Mit fortschreitender Versuchsdauer und Entfernung zum Applikationsplättchen waren die Einflüsse nicht mehr ersichtlich (siehe Abb. 16).

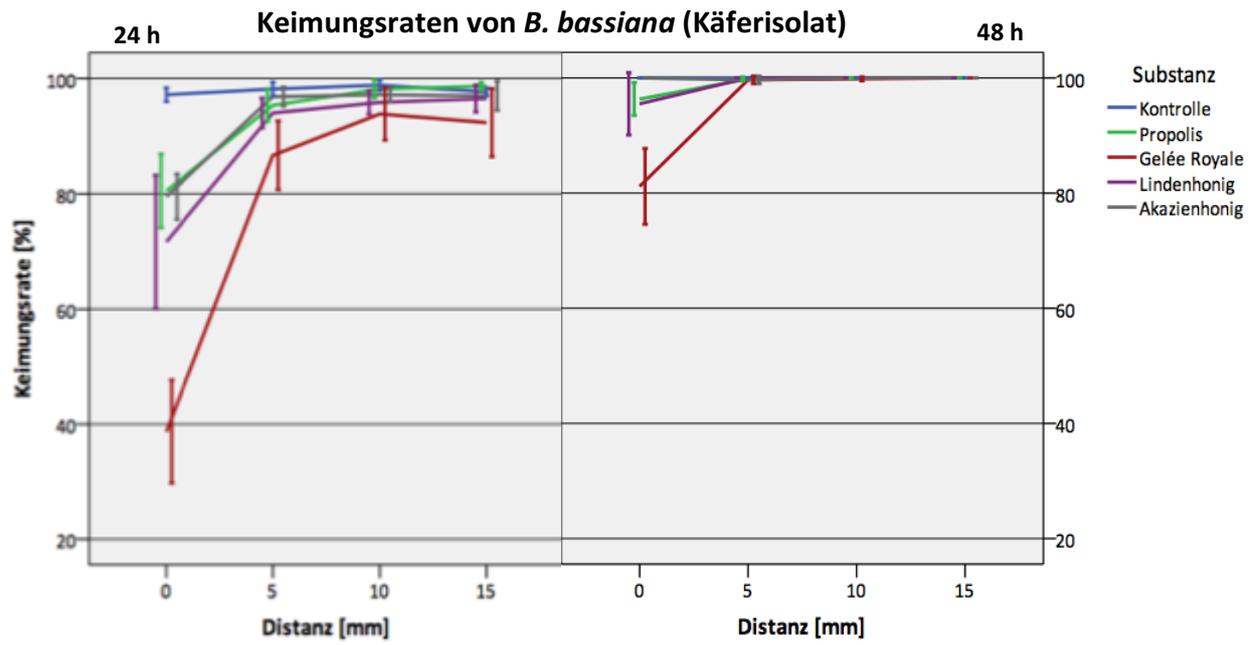


Abb. 16: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.1.3 *Beauveria brongniartii* – Käferisolat

#### 3.2.1.3.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Bei der Kontrolle von *B. brongniartii* (Käferisolat) wurden nach 24 h Keimungsraten von etwa 98 % beobachtet. Die Keimungsraten nahmen mit dem Faktor Zeit signifikant bis höchst signifikant zu und erreichten nach 72 h 100 % ( $p = 0,001$  bis  $p = 0,000$ ) (siehe Tab. 17, Abb. 17 & Anh. Tab. 10).

Tab. 17: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	97,7	98	98,0	98,0
	48	99,3	98,5	99,2	99,2
	72	100	100	100	100

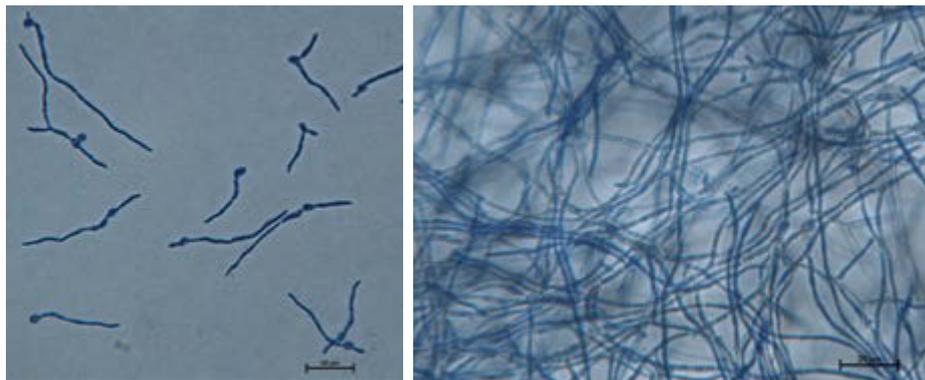


Abb. 17: *B. brongniartii* beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.3.2 Propolis

Propolis konnte die Keimfähigkeit von *B. brongniartii* nach 24 h, bei 0 mm Entfernung stark beeinflussen. Es wurde eine 27,3 %ige Keimungsrate diagnostiziert, die im Vergleich zur Kontrolle signifikant geringer war ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 17).

Nach 48 h lag die Keimungsrate bei 0 mm Abstand im Mittel bei 81,7 % und war somit signifikant erhöht ( $p = 0,004$ ). Ein hoch signifikanter Anstieg konnte nach 72 h verzeichnet werden ( $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 18). Die Entfernung (5 mm) zum Propolis-Plättchen spielte lediglich nach 24 h eine Rolle, die Keimungsrate war signifikant erhöht ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 18 & Anh. Tab. 10).

Tab. 18: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	27,3	96,8	98,7	97,2
	48	81,7	96,3	99,2	100
	72	99,8	100	100	100

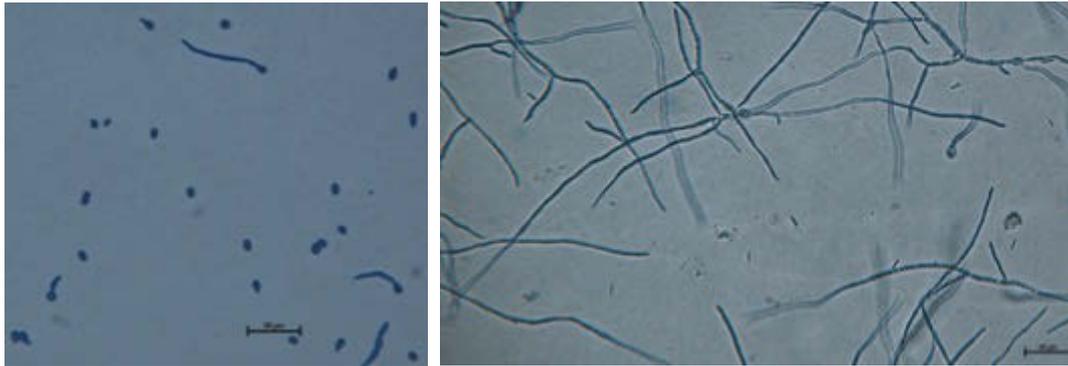


Abb. 18: *B. brongniartii* unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.3.3 Gelée Royale

Gelée Royale hatte im Vergleich zur Kontrolle bei 0 mm Entfernung über die gesamte Versuchsdauer signifikant hemmende Wirkungen auf die Keimfähigkeit von *B. brongniartii* (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 17 & Abb. 19).

Zu beachten ist, dass im Vergleich zu 24 h nach 48 h, bei den Abständen 5 - 15 mm signifikante bis hoch signifikante Erhöhungen festzustellen waren ( $p < 0,016$  bis  $p < 0,003$ , siehe Anh. Tab. 11). Nach 72 h lag die Keimungsrate bei 60,3 % (0 mm) und ergab somit auch einen signifikanten Anstieg ( $p = 0,015$ ). Bei der Entfernung von 5 mm zur Auftragsstelle kam es sowohl nach 24, 48 und 72 h zu einer signifikant erhöhten Keimungsrate (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 19).

Tab. 19: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	28,0	75,5	88,5	91,2
	48	34,2	97,5	99,8	99,2
	72	60,3	100	100	100

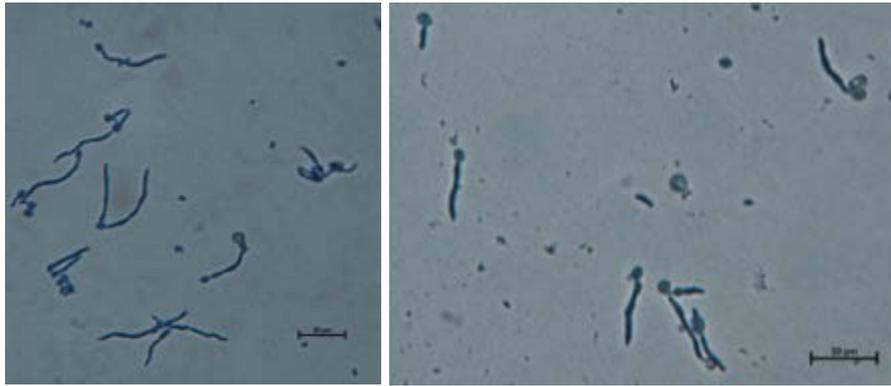


Abb. 19: *B. brongniartii* unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.3.4 Honig

Eine signifikante Hemmung der Keimung von *B. brongniartii* wurde nach 24 und 48 h bei 0 mm Entfernung zum jeweiligen Applikationsplättchen im Vergleich zur Kontrolle beobachtet (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 20). Zusätzlich lagen nach 24 h bei den Entfernungen 5 – 10 mm bei Linden- und Akazienhonig signifikant niedrigere Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle vor (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Diese Auswirkungen waren bei Akazienhonig auch bei einem Abstand von 15 mm noch ersichtlich ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 17).

Hoch signifikante Steigerungen aufgrund des zeitlichen Faktors waren im Fall von Linden- bzw. Akazienhonig bei einer Entfernung von 0 mm nach 72 h gegeben ( $p = 0,001$  bzw.  $p = 0,002$ ). Bei den Entfernungen 5 – 15 mm konnten nach 48 h signifikante bis hoch signifikante Zunahmen der Keimungsraten beobachtet werden ( $p = 0,009$  bzw.  $p = 0,002$ ), mit Ausnahme von Lindenhonig, welcher bei 15 mm Entfernung nach 48 h keinen signifikanten Unterschied zeigte ( $p = 0,026$ ). Die Entfernung von 5 mm zur Testsubstanz führte bei beiden Honigsorten nach 48 h zu einem signifikanten Anstieg ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 20 & Anh. Tab. 12 & 13).

Tab. 20: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	48,0	78,5	85,5	91,3
	48	44,3	97,5	98,5	99,3
	72	94,5	99,0	100	100
Akazienhonig	24	58,5	67,7	97,0	89,2
	48	60,0	97,2	99,5	99,8
	72	98,8	100	100	100

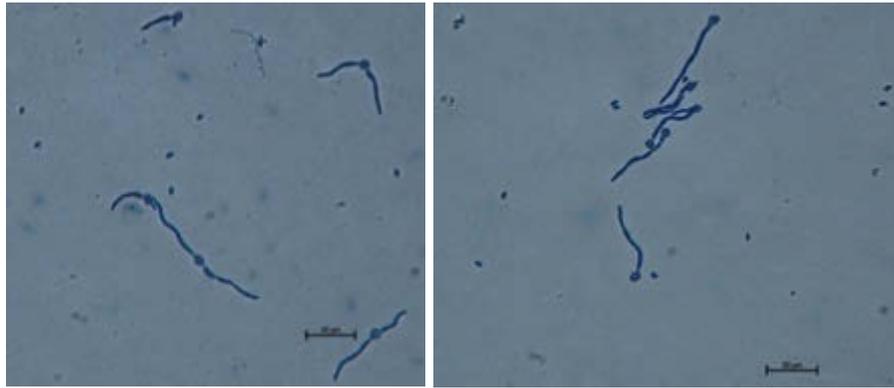


Abb. 20: *B. brongniartii* unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.3.5 Vergleich der Substanzen (Bienenprodukte und Kontrolle)

Die unterschiedlichen Bienenprodukte hemmten die Keimfähigkeit von *B. brongniartii* Konidien vor allem bei einer Entfernung von 0 mm zum Applikationsplättchen (siehe Abb. 21). Im Vergleich zur Kontrolle wurden nach 24 h bei allen Testsubstanzen signifikant reduzierte Keimungsraten beobachtet (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Nach 48 h war diese hemmende Wirkung, mit Ausnahme von Propolis noch immer gegeben ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,009$ ). Gelée Royale wies nach 48 h, bei 0 mm signifikante Unterschiede zur Kontrolle, Propolis und Akazienhonig auf (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) und war somit die Substanz mit dem stärksten keimhemmenden Einfluss. Nach 72 h war dieser Effekt nach wie vor signifikant und zusätzlich zeigten sich signifikant verringerte Keimraten im Vergleich zu Lindenhonig (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Anh. Tab. 34).

Wurde der Faktor Distanz berücksichtigt, erwies sich Akazienhonig als stark hemmende Substanz. Nach 24 h lag die Keimfähigkeit über eine Entfernung von 5 – 15 mm signifikant unter jener der Kontrolle und Propolis (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Bei Lindenhonig waren die signifikant niedrigeren Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle und zum Propolis zusätzlich bei den Kontrollpunkten 5 und 10 mm zu beobachten und bei Gelée Royale bei einem Abstand von 5 mm ( $p < 0,005$ ) (siehe Anh. Tab. 35 & 36).

Nach 48 h wurden ab einer Entfernung von 5 mm zum Applikationsplättchen bei allen Varianten Keimungsraten von 96 - 100 % verzeichnet und dadurch keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt ( $p > 0,005$ , siehe Anh. Tab. 35) (siehe Abb. 21 & Anh. Tab. 34 - 37).

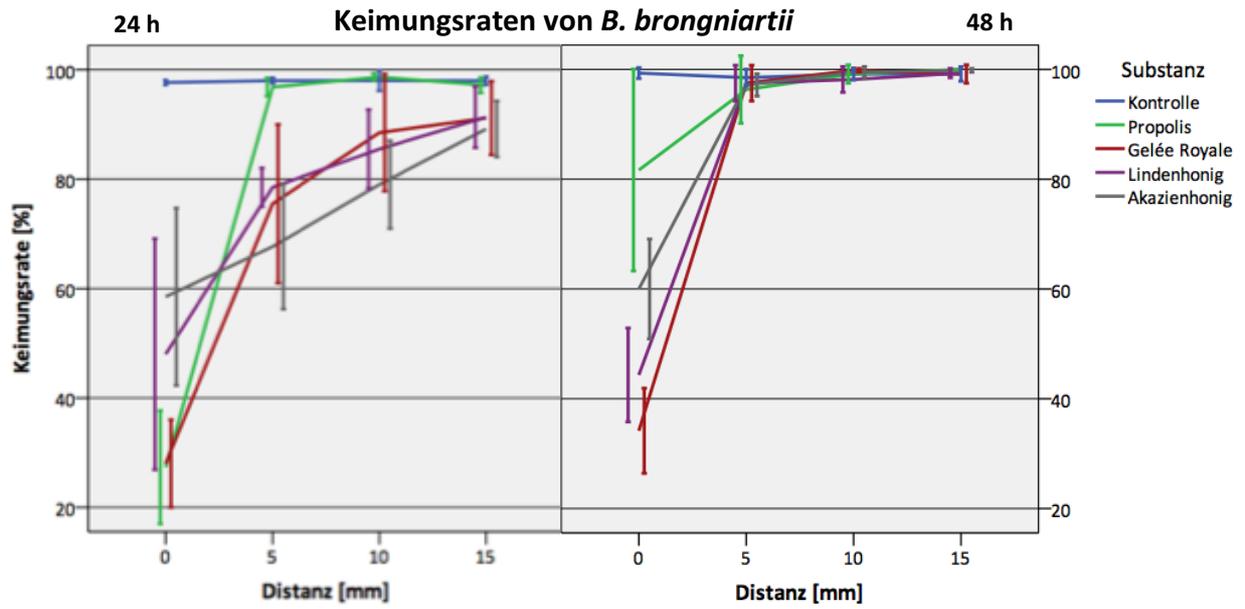


Abb. 21: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.1.4 *Metarhizium anisopliae* - Bodenisolat

#### 3.2.1.4.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Trotz der etwa 9 %igen Schwankungsbreite der Keimungsraten von *M. anisopliae* (Bodenisolat) waren die Ergebnisse nicht signifikant unterschiedlich ( $p < 0,0083$ ). Nach 48 h lagen die Keimungsraten bei 84,3 - 87,7 % und waren somit nicht signifikant erhöht ( $p = 0,056$ ) (siehe Abb. 22). Ein höchst signifikanter Anstieg auf knapp 100 % Keimung konnte nach 72 h verzeichnet werden ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 21 & Anh. Tab. 14).

Tab. 21: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	83,7	74,2	78,3	82,7
	48	85,0	87,7	84,3	84,3
	72	99,7	99,8	100	99,8

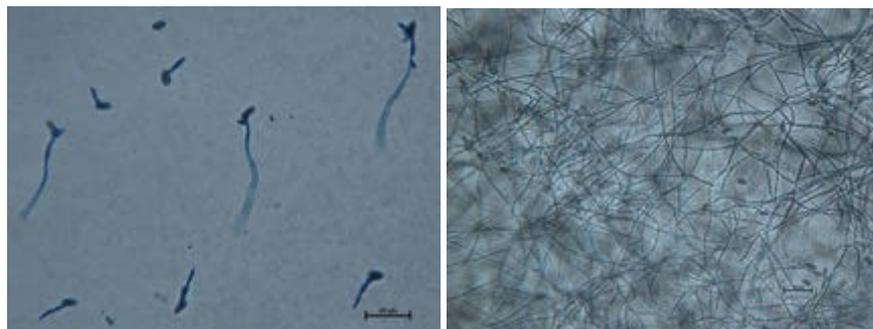


Abb. 22: *M. anisopliae* beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.4.2 Propolis

Die Keimfähigkeit von *M. anisopliae* war nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Propolis-Plättchen im Vergleich zur Kontrolle signifikant gehemmt ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 21).

Nach 48 h, sowie nach 72 h konnten bei allen untersuchten Distanzen (0 -15 mm) hoch signifikante Steigerungen der Keimungsraten festgestellt werden (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 23). Die Entfernung zur Testsubstanz zeigte bei 5 mm keinen signifikanten Einfluss auf die Keimung ( $p > 0,0083$ , siehe Anh. Tab. 14) (siehe Tab. 22).

Tab. 22: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	31,5	51,8	68,7	61,5
	48	74,7	85,5	87,2	85,7
	72	95,0	98,7	99,5	99,7



Abb. 23: *M. anisopliae* unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen (20 µm)

### 3.2.1.4.3 Gelée Royale

Im Vergleich zur Kontrolle waren die Keimungsraten durch den Einfluss von Gelée Royale nach 24 – 72 h bei 0 mm Entfernung signifikant verringert (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Die Keimungsrate betrug nach 24 h, bei 0 mm Abstand lediglich 0,2 %. Die signifikant hemmende Wirkung konnte auch nach 48 h, 5 mm von der Applikationsstelle diagnostiziert werden ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 21).

Bei allen untersuchten Abständen (0 – 15 mm) zur Testsubstanz zeigten sich signifikante bis hoch signifikante Erhöhungen der Keimfähigkeit im zeitlichen Verlauf (24 – 72 h) ( $p = 0,015$  bis  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 24). Die Nähe zu Gelée Royale hatte signifikante Auswirkungen auf die Keimung von *M. anisopliae*. Nach 5 mm Entfernung stieg die Anzahl gekeimter Konidien bei 24 h, 48 h und 72 h signifikant an und erreichte nach 72 h 100 % (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 23 & Anh. Tab. 15).

Tab. 23: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	0,2	57,7	64,3	69,0
	48	26,8	93,5	93,5	91,0
	72	69,3	100	100	100

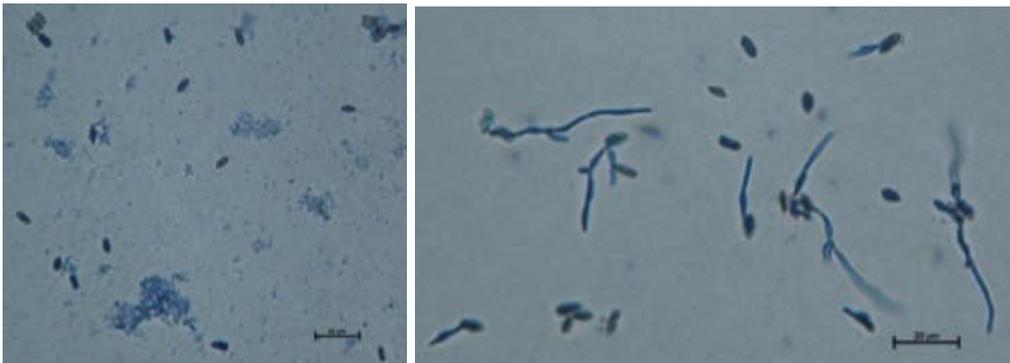


Abb. 24: *M. anisopliae* unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.4.4 Honig

Die Keimfähigkeit von *M. anisopliae* wurde nach 24 und 48h, bei 0 mm Entfernung zum aufgetragenen Linden- bzw. Akazienhonig im Vergleich zur Kontrolle signifikant gehemmt ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ) (siehe Abb. 25). Bei Lindenhonig war dieser signifikante Effekt auch nach 72 h zu beobachten, die Keimungsrate lag hierbei bei 80,5 % ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 21).

Akazienhonig wies im zeitlichen Verlauf (24 – 72 h) bei allen Distanzen (0 – 15 mm) einen hoch signifikanten Anstieg der Keimungsraten auf ( $p = 0,002$ ). Die Keimungsraten bei Behandlung mit Lindenhonig konnten in Bezug auf den Zeitfaktor nach 72 h bei allen Abständen (0 – 15 mm) signifikant bis hoch signifikant gesteigert werden ( $p = 0,009$  bis  $p = 0,002$ ). Bei 10 mm Entfernung war eine hoch signifikant erhöhte Keimung auch nach 48 h gegeben ( $p = 0,002$ ). Mit einer Entfernung von 5 mm zu den Testsubstanzen konnte bei beiden Honigsorten nach 24 h ein signifikanter Anstieg festgestellt werden (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Der signifikante Einfluss der Entfernung vom Applikationsplättchen auf die Keimfähigkeit konnte bei Lindenhonig auch nach 48 h bei 10 mm und nach 72 h bei 5 mm, sowie bei Akazienhonig nach 48 h bei 5 mm beobachtet werden ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ) (siehe Tab. 24 & Anh. Tab. 16 & 17).

Tab. 24: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	18,5	76,0	68,2	74,5
	48	43,8	78,5	90,5	90,2
	72	80,5	99,0	99,8	99,5
Akazienhonig	24	20,7	68,5	66,7	65,5
	48	63,2	83,2	88,8	89,0
	72	96,7	99,8	99,8	100

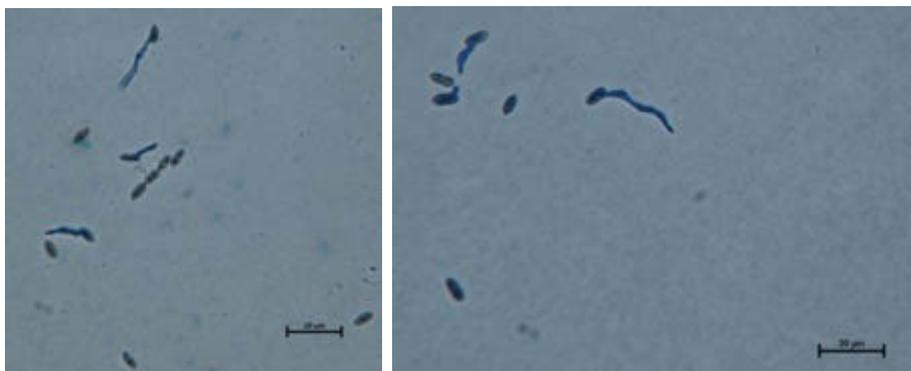


Abb. 25: *M. anisopliae* unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.4.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Die Hemmung der Keimfähigkeit von *M. anisopliae* Konidien war vor allem durch Gelée Royale stark ausgeprägt. Alle getesteten Substanzen wiesen nach 24 h, bei 0 mm Entfernung signifikant reduzierte Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle auf ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ) (siehe Abb. 26). Auch nach 48 h waren diese hemmenden Einflüsse gegeben, lediglich bei Propolis gab es keinen signifikanten Unterschied mehr ( $p < 0,005$  bzw.  $p = 0,041$ , siehe Anh. Tab. 38). Gelée Royale wies nach 24 h, bei 0 mm Entfernung ebenso signifikant verringerte Keimungsraten im Vergleich zu Propolis, Lindenhonig und Akazienhonig auf (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Lindenhonig zeigte nach 24 h bei 5mm und nach 48 h bei 5 mm gehemmte Keimfähigkeit im Vergleich zu Propolis ( $p=0,002$  bzw.  $p=0,004$ ). Nach 72 h lag die Keimungsrate von Gelée Royale bei 0 mm Distanz bei 60,3 %, unterschied sich aber noch signifikant von der Kontrolle, Propolis und Akazienhonig ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ). Die Wirkung der Testsubstanzen wurde mit der Entfernung zum Applikationsplättchen deutlich geringer. Gelée Royale zeigte nach 48 h, bei 5 mm eine signifikante Reduktion der

Keimungsrate im Vergleich zu den anderen Substanzen ( $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 26 & Anh. Tab. 38 - 41).

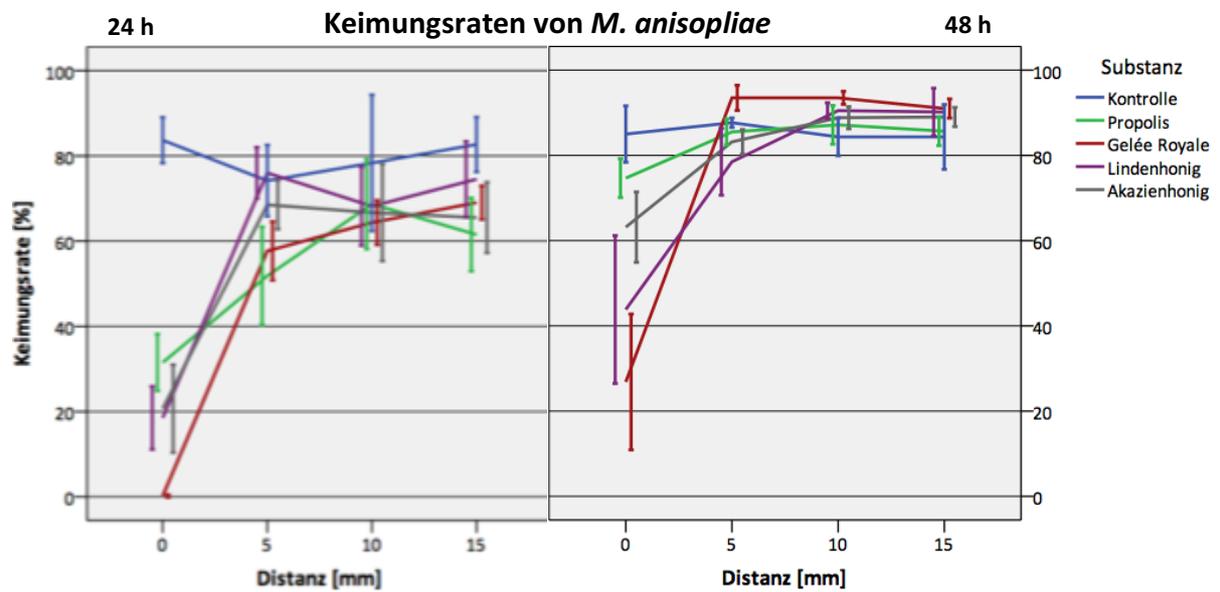


Abb. 26: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.1.5 *Metarhizium flavoviride* – Bodenisolat

#### 3.2.1.5.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Die Keimungsrate von *M. flavoviride* (Bodenisolat) lag nach 24 h zwischen 86,0 % und 94,5 %. Trotz der Schwankungsbreite gab es keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Entfernung zum Applikationsplättchen ( $p < 0,0083$ ). Nach 48 und 72 h konnte eine höchst signifikante Steigerung der Keimfähigkeit beobachtet werden (in allen Fällen  $p = 0,00000$ ) (siehe Abb. 27). Die ermittelte Keimungsrate betrug nach 72 h 100 % (siehe Tab. 25 & Anh. Tab. 18).

Tab. 25: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	90,2	92,5	86,0	94,5
	48	97,5	99,3	98,0	99,0
	72	100	100	100	100

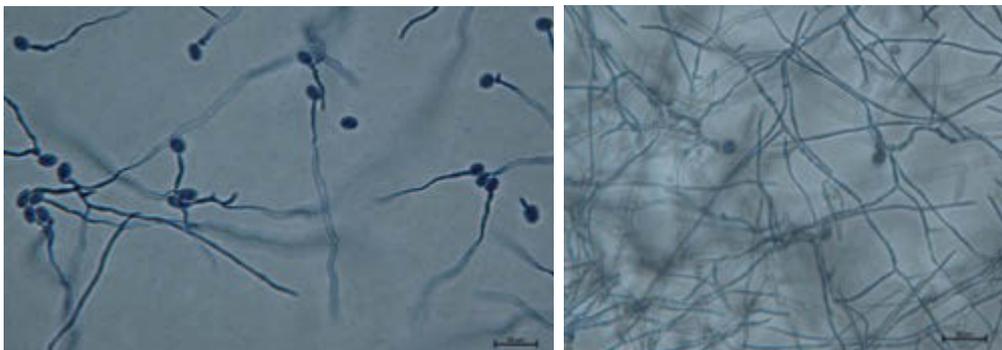


Abb. 27: *M. flavoviride* beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

#### 3.2.1.5.2 Propolis

Mit einer Keimungsrate von 75,5 % nach 24 h, bei einer Distanz von 0 mm konnte im Vergleich zur Kontrolle kein Unterschied verzeichnet werden ( $p > 0,005$ , siehe Anh. Tab. 18) (siehe Tab. 25).

Die Faktoren Zeit und Entfernung hatten beim Versuch mit Propolis kaum einen signifikanten Effekt auf *M. flavoviride* ( $p > 0,016$ ;  $p > 0,0083$ ). Lediglich nach 48 h, bei 0 mm war ein hoch signifikanter Anstieg zu registrieren ( $p = 0,009$ ) (siehe Abb. 28). Die Keimungsraten betragen nach 72 h 97 – 100 % (siehe Tab. 26 & Anh. Tab. 18).

Tab. 26: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	75,5	94,5	97,7	98,0
	48	91,2	98,5	99,3	99,8
	72	97,0	100	100	100

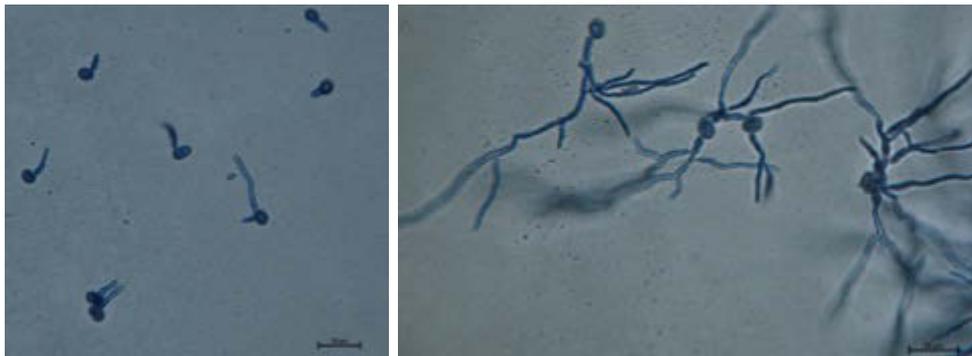


Abb. 28: *M. flavoviride* unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.3 Gelée Royale

Bei Kontakt mit Gelée Royale war die Keimungsrate bei 0 mm im gesamten zeitlichen Verlauf (24 – 72 h) deutlich niedriger als bei der Kontrolle und damit signifikant unterschiedlich (in allen Fällen  $p = 0,005$ ) (siehe Abb. 29). Mit der Entfernung zur Testsubstanz stieg die Keimfähigkeit stark an, die Unterschiede zur Kontrolle waren nicht mehr signifikant ( $p > 0,005$ , siehe Anh. Tab. 19) (siehe Tab. 25).

Nach 24, 48 und 72 h wurden mit der Distanz (5 mm) zum Applikationsplättchen signifikante Steigerungen diagnostiziert (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Hoch signifikante Erhöhungen der Keimung wurden bei 5 – 15 mm nach 72 h festgestellt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Es wurden jeweils 100 % erreicht (siehe Tab. 27 & Anh. Tab. 19).

Tab. 27: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	9,0	96,7	95,3	96,5
	48	29,0	94,7	98,0	99,2
	72	56,5	100	100	100

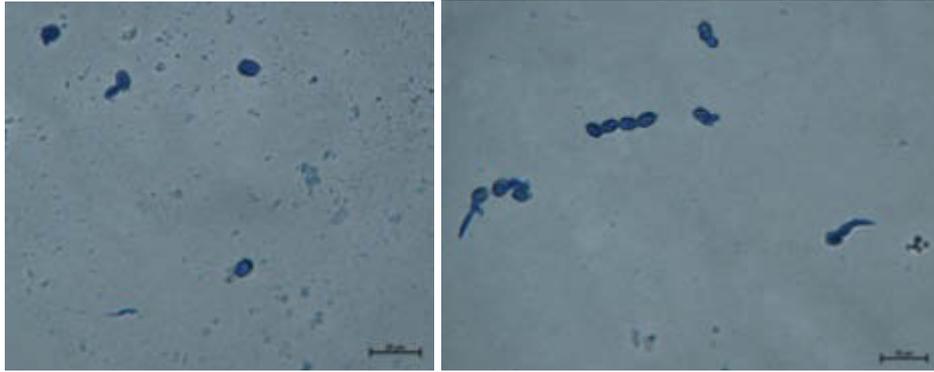


Abb. 29: *M. flavoviride* unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.4 Honig

Die Versuchsvariante mit Lindenhonig zeigte bei einer Entfernung von 0 mm während der gesamten Versuchsdauer (24 – 72 h) signifikante Keimhemmungen im Vergleich zur Kontrolle ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ). Bei Akazienhonig konnte nur nach 24 h, bei 0 mm eine niedrigere Keimfähigkeit und somit ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle beobachtet werden ( $p = 0,0052$ ) (siehe Tab. 25 & Abb. 30).

Signifikante Steigerungen der Keimungsraten von *M. flavoviride* wurden bei beiden Testsubstanzen bei 0 mm nach 48 h festgestellt ( $p = 0,015$  bzw.  $p = 0,002$ ). Akazienhonig wies auch nach 72 h, bei 0 mm Entfernung eine signifikante Erhöhung auf und erreichte 100 % ( $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 28 & Anh. Tab. 20 & 21).

Tab. 28: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	37,0	95,3	98,0	93,8
	48	80,7	98,0	99,7	99,3
	72	87,5	100	100	100
Akazienhonig	24	55,0	95,5	95,3	96,0
	48	97,0	98,5	98,2	98,8
	72	100	100	100	100

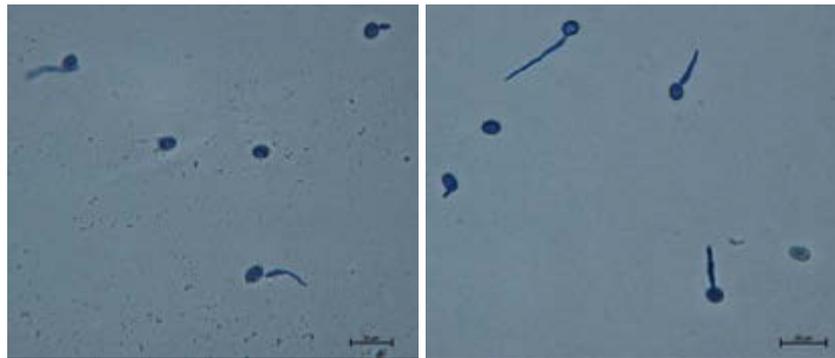


Abb. 30: *M. flavoviride* unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts) nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Wie oben bereits erwähnt wurde die Keimung von *M. flavoviride* Konidien besonders durch Gelée Royale und Lindenhonig gehemmt (siehe Abb. 31). Die Keimfähigkeit war im Vergleich zur Kontrolle, bei 0 mm Entfernung zu den beiden Testsubstanzen, über die gesamte Versuchsdauer signifikant verringert ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ). Nach 48 h stieg die Keimungsrate bei Lindenhonig um etwa 43 % an und war somit signifikant höher als jene von Gelée Royale ( $p = 0,002$ ). Gelée Royale wies zudem nach 24 – 72 h, bei 0 mm Distanz zum Applikationsplättchen signifikante Unterschiede zu Propolis und Akazienhonig auf (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Schlussfolgernd hatten Propolis und Akazienhonig die geringsten Wirkungen auf die Keimung von *M. flavoviride*. Ab einer Entfernung von 5 mm konnten keine signifikanten Einflüsse der getesteten Substanzen auf die Keimfähigkeit mehr festgestellt werden ( $p > 0,005$ , siehe Anh. Tab. 43 - 45) (siehe Abb. 31).

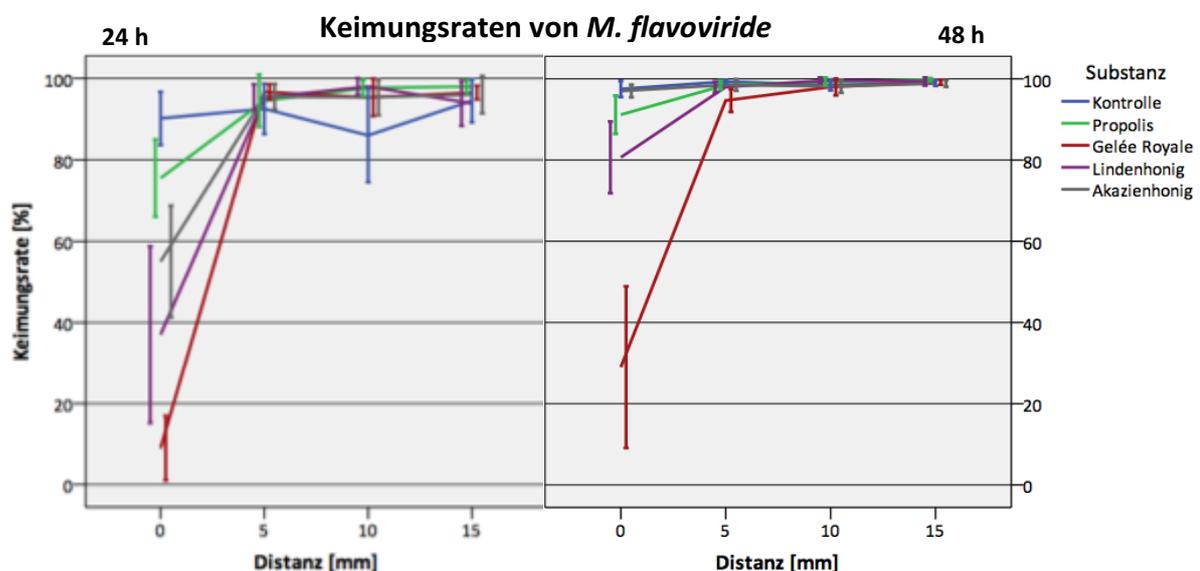


Abb. 31: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.1.5.6 *Isaria fumosorosea* – Bodenisolat

### 3.2.1.5.7 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Die Keimungsrate von *I. fumosorosea* (Bodenisolat) lag nach 24 h in einem Schwankungsbereich von 75,0 – 81,0 %, welcher jedoch keinen signifikanten Unterschied ergab ( $p > 0,0083$ ). Nach 48 h stieg die Keimfähigkeit auf 100 % an und war somit höchst signifikant erhöht ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 29, Abb. 32 & Anh. Tab. 22).

Tab. 29: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Kontrolle	24	81,0	79,0	75,2	75,0
	48	100	100	100	100
	72	100	100	100	100

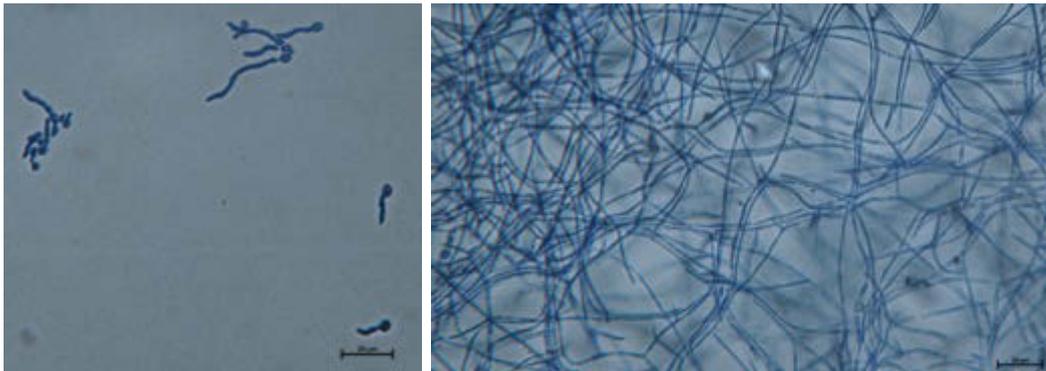


Abb. 32: *I. fumosorosea* beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.8 Propolis

Die Keimfähigkeit von *I. fumosorosea* war durch den Einfluss von Propolis nach 24 h und 48 h, bei 0 mm Entfernung im Vergleich zur Kontrolle signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 29 & Abb. 33).

Der beobachtete Wert lag nach 24 h, bei 0 mm Entfernung bei 6,3 %. Die Keimungsraten konnten sich mit der Entfernung zum Propolis-Plättchen (5 mm) über die Zeitspanne von 24 – 48 h signifikant steigern (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Hoch signifikante Erhöhungen wurden bei 10 und 15 mm nach 48 h festgestellt (in allen Fällen  $p = 0,000$ ) und führten zu 100 %igen Keimungsraten (siehe Tab. 30 & Anh. Tab. 22).

Tab. 30: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Propolis	24	6,3	65,5	76,0	81,5
	48	17,0	88,8	100	100
	72	58,2	100	100	100

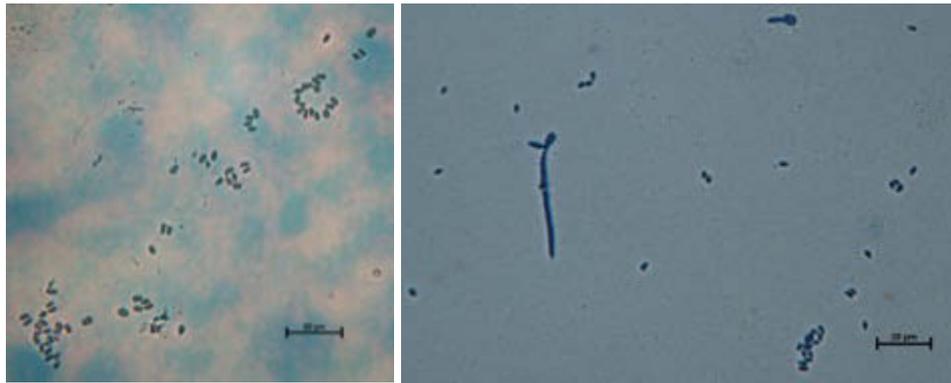


Abb. 33: *I. fumosorosea* unter Einfluss von Propolis nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.9 Gelée Royale

Einen stark hemmenden Einfluss auf die Keimfähigkeit von *I. fumosorosea* hatte Gelée Royale. Im Vergleich zur Kontrolle war die Keimungsrate bei 0 mm über die gesamte Versuchsdauer signifikant reduziert (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Abb. 34). Keimungsraten von 0,5 – 4,3 % wurden registriert. Auch bei einem Abstand von 5 mm wurden nach 24 und 48 h signifikant verringerte Keimzahlen beobachtet ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ) (siehe Tab. 29).

Bei den Entfernungen 5 – 15 mm kam es nach 48 h zu hoch signifikanten Steigerungen der Keimungsraten (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Eine signifikant höhere Keimfähigkeit konnte über den gesamten Zeitraum ab einer Distanz von 5 mm zum Applikationsplättchen diagnostiziert werden (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 31 & Anh. Tab. 23).

Tab. 31: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Gelée Royale	24	1,5	54,8	68,5	79,0
	48	0,5	89,5	98,3	100
	72	4,3	100	100	100

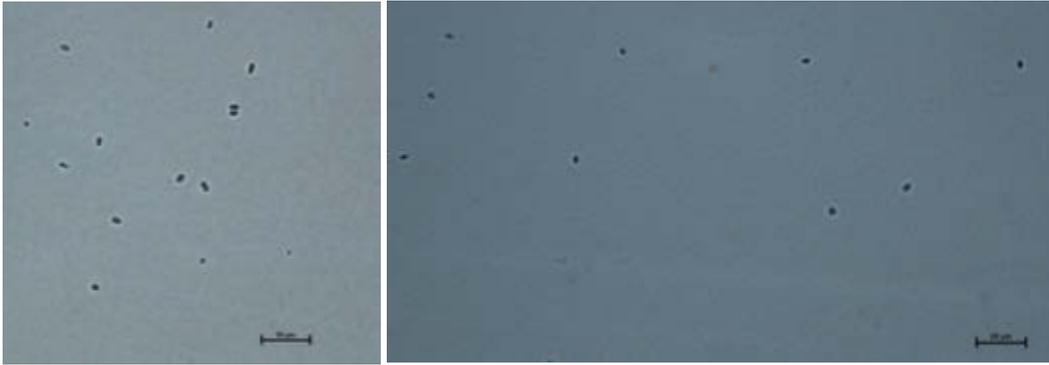


Abb. 34: *I. fumosorosea* unter Einfluss von Gelée Royale nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.10 Honig

Die Honigsorte Linde konnte die Keimfähigkeit von *I. fumosorosea* nach 24 – 72 h, bei 0 mm im Vergleich zur Kontrolle signifikant herabsetzen (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Akazienhonig hemmte die Keimung nach 24 und 48 h, bei 0 mm und bei einer Entfernung von 5 mm nach 24 h signifikant im Vergleich zur Kontrolle (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 29 & Abb. 35).

Lindenhonig wies nach 48 h und 72 h, bei 0 mm eine Erhöhung der Keimungsraten auf, die Unterschiede waren signifikant ( $p = 0,015$  bzw.  $p = 0,004$ ). Hoch signifikante Steigerungen wurden auch bei 10 und 15 mm nach 48 h festgestellt (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Den selben Effekt zeigte Akazienhonig nach 48 h über die Distanzen 5 – 15 mm (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Ebenso wurde nach 72 h, bei 0 mm Entfernung zur Auftragsstelle eine hoch signifikante Erhöhung bei Akazienhonig ermittelt ( $p = 0,002$ ). *I. fumosorosea* zeigte mit der Entfernung (5 mm) zu den beiden Testsubstanzen nach 24 h und 48 h eine signifikant erhöhte Keimfähigkeit ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ). Bei Lindenhonig war dieser Einfluss auch nach 24 h bei 5 mm und nach 72 h bei 0 mm signifikant (in allen Fällen  $p = 0,002$ ) (siehe Tab. 32 & Anh. Tab. 24 & 25).

Tab. 32: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Distanz			
		0 mm	5 mm	10 m	15 mm
Lindenhonig	24	9,0	69,7	73,2	82,3
	48	26,7	96,2	99,8	100
	72	70,0	100	100	100
Akazienhonig	24	18,8	51,7	65,5	74,5
	48	35,3	93,0	100	100
	72	93,3	100	100	100

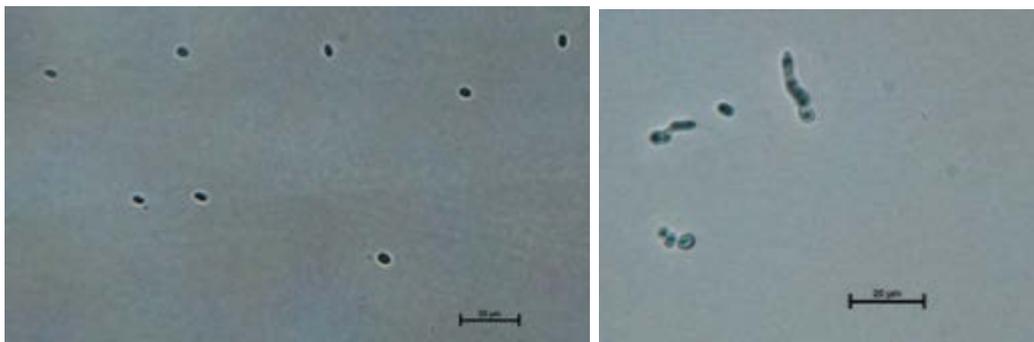


Abb. 35: *I. fumosorosea* unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

### 3.2.1.5.11 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Eine starke Keimhemmung von *I. fumosorosea* Konidien ging von der Variante mit Gelée Royale aus. Die Keimungsraten unterschieden sich bei einer Entfernung von 0 mm über die gesamte Versuchsdauer signifikant von der Kontrolle, Linden- und Akazienhonig (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Auch bei 5 mm war nach 24 bzw. 48 h eine signifikant niedrigere Keimfähigkeit im Vergleich zu den drei genannten Testsubstanzen zu verzeichnen ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,004$ ). Signifikant reduzierende Wirkung hatten auch Propolis, Linden- und Akazienhonig nach 24 und 48 h, bei 0 mm Entfernung im Vergleich zur Kontrolle (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Bei Akazienhonig waren auch nach 24 h, bei 5 mm signifikant hemmende Einflüsse im Vergleich zur Kontrolle und Lindenhonig gegeben (in allen Fällen  $p = 0,002$ ). Es ist zu erkennen, dass die Entfernung zum Applikationsplättchen einen bedeutenden Einfluss hat, da bei 10 mm keine der getesteten Substanzen einen hemmenden oder stimulierenden Effekt auf die Keimung von *I. fumosorosea* hatte (siehe Abb. 36 & Anh. Tab. 46 – 49).

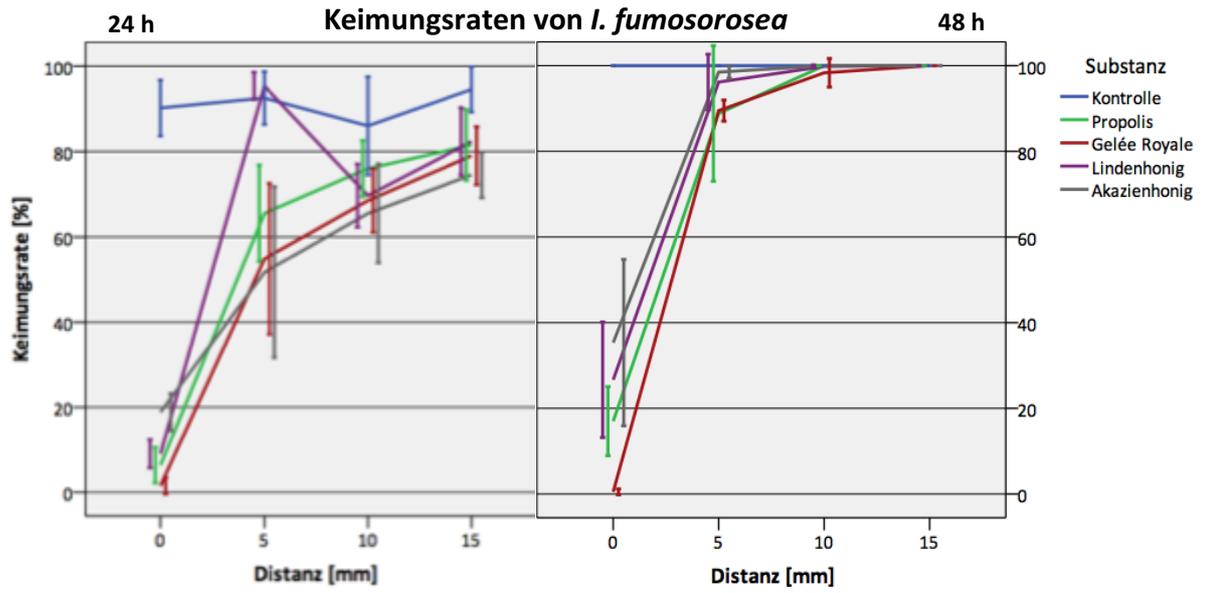


Abb. 36: Keimungsraten von *I. fumosorosea* nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.2 Plättchen-Diffusionstest – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Das nachfolgende Kapitel behandelt die Wirkungen der Substanzen auf die Keimungsraten im Vergleich zwischen den Pilz-Arten bzw. Isolaten. Da neben dem Plättchen-Diffusionstest die Pilzsporen auch direkt mit den Bienenerzeugnissen formuliert wurden, wird hier lediglich der Einfluss von Propolis dargestellt. Die übrigen Vergleiche finden sich unter dem Kapitel 3.2.3 Formulierungen der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate.

Die Mittelwerte wurden auf signifikante Unterschiede geprüft. Die Werte der Signifikanzniveaus wurden auch in diesem Fall mittels Bonferroni-Korrektur angepasst. Die zahlenmäßigen Details sind im Anhang aufgeführt.

Tab. 33: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode.

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte
		Vergleich der Pilz-Arten bzw. Isolate
signifikant	< 0,05	< 0,0033
hoch signifikant	< 0,01	< 0,00066
höchst signifikant	< 0,001	< 0,00006

#### 3.2.2.1 Propolis

Propolis hatte bei 0 mm den größten Effekt auf *I. fumosorosea*. Die hemmende Wirkung war nach 24 und 48 h signifikant unterschiedlich zu den anderen Pilz-Arten (in allen Fällen  $p = 0,002$ ), mit Ausnahme von *B. brongniartii* nach 24 h ( $p = 0,004$ ). Mit größerer Entfernung zum Applikationsplättchen (5 – 15 mm) nahmen die Keimungsraten zu und erreichten nach 24 h 65,5 – 81,5 %. Zu erwähnen ist, dass auch die Keimung der Kontrolle nach 24 h zwischen 75 und 81 % lag (siehe Tab. 29). *M. anisopliae* zeigte nach 24 und 48 h über die gesamte Distanz verringerte Keimfähigkeit und war somit bis auf wenige Ausnahmen signifikant gehemmt im Vergleich zu den anderen Pilz-Arten und Isolaten ( $p = 0,002$  bzw.  $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 51 - 58). Zu beachten ist jedoch die geringe Keimung von *M. anisopliae* bei der Kontrolle (siehe Tab. 21). Die geringsten Einflüsse hatte Propolis auf *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) und auf *M. flavoviride*. Die Keimfähigkeit betrug nach 24 h bei 0 mm bereits 75,5 – 80,5 %. Nach 72 h wurden bei keiner der getesteten Pilz-Arten und Isolate signifikante Unterschiede festgestellt, die Keimungsraten lagen bei 95 – 100 % (siehe Abb. 37 & Anh. Tab. 59 - 62).

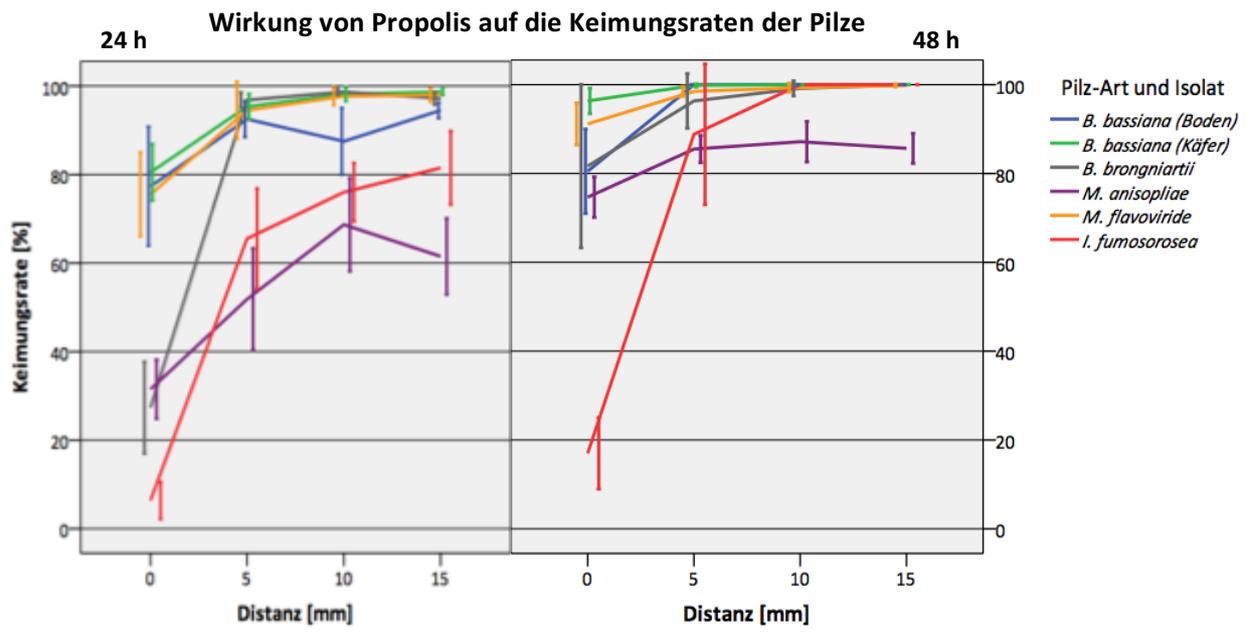


Abb. 37: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate nach 24 und 48 h, unter Einfluss von Propolis

### 3.2.3 Formulierung der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) – Vergleich der Bienenerzeugnisse

In folgendem Kapitel werden die ermittelten Keimungsraten, unter direktem Einfluss der Testsubstanzen – **Mischen der Konidien mit den Bienenprodukten** – dargestellt. Die Wirkung der beiden Honigsorten wurde bei 20 %iger und 50 %iger Verdünnung der Honige getestet, um den Einfluss des höheren Wassergehaltes auf die Keimung der Konidien zu detektieren. Bei Gelée Royale wurde lediglich eine Sporensuspension mit 20 %iger Verdünnung angefertigt, da Gelée Royale bereits einen hohen Wassergehalt hat (ca. 70 %).

Die berechneten Mittelwerte wurden auf signifikante Unterschiede getestet. Beim Vergleich der Keimzahlen wurden die Faktoren Zeit und Substanz berücksichtigt. Die Werte der Signifikanzniveaus wurden mittels Bonferroni-Korrektur angepasst (siehe Tab. 34). Die zahlenmäßigen Details sind im Anhang zu finden.

Zu beachten ist hierbei, dass bei den Versuchen mit *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* (Bodenisolat) frisch angesetzte Isolate verwendet wurden (siehe Kapitel 2 Material und Methoden).

Tab. 34: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurden die Faktoren Zeit und Substanz berücksichtigt.

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte	
		Vergleich der Zeiteinheiten	Vergleich der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,016	< 0,0033
hoch signifikant	< 0,01	< 0,003	< 0,00066
höchst signifikant	< 0,001	< 0,0003	< 0,000006

#### 3.2.3.1 *Beauveria bassiana* – Bodenisolat

##### 3.2.3.1.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

Bereits nach 24 h wurden bei *B. bassiana* (Bodenisolat) Keimungsraten von 98,6 % erreicht. Die Zunahme an gekeimten Konidien war nach 48 h trotzdem signifikant ( $p = 0,0060$ ) (siehe Tab. 35 & Anh. Tab. 64).

Tab. 35: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	96,8	98,8	99,8	99,0	98,6
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

### 3.2.3.1.2 Gelée Royale

Bei direktem Kontakt mit verdünntem Gelée Royale konnte *B. bassiana* nicht keimen. Die Keimfähigkeit lag nach 24 – 72 h bei 0 % und war somit im Vergleich zur Kontrolle (siehe Tab. 35) höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 36 & Anh. Tab. 64).

Tab. 36: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20%)	24	0	0	0	0	0
	48	0	0	0	0	0
	72	0	0	0	0	0

### 3.2.3.1.3 Lindenhonig

Verdünnter Lindenhonig konnte die Keimung des Pilz-Isolates kaum hemmen. Lediglich bei der Variante mit 20 %iger Verdünnung lag nach 24 h die Keimungsrate höchst signifikant unter jener der Kontrolle ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 35 & Abb. 38). Wobei zum Teil starke Schwankungen zwischen den vier Agarplatten zu beobachten waren (54,3 – 93,5 %). Nach 48 h lag die Keimungsrate bei 100%, die Steigerung war höchst signifikant ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 37).

Wurde der Honig mit 50 % Wasser verdünnt kam es bereits nach 24 h zu Keimungsraten von 97,3 %, dadurch war kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrolle gegeben ( $p = 0,0100$ ) (siehe Tab. 35, Tab. 37, Abb. 37 & Anh. Tab. 64).

Tab. 37: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	54,3	92,3	93,5	88,0	82,0
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100
Lindenhonig (50 %)	24	97,6	95,8	97,3	98,3	97,3
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

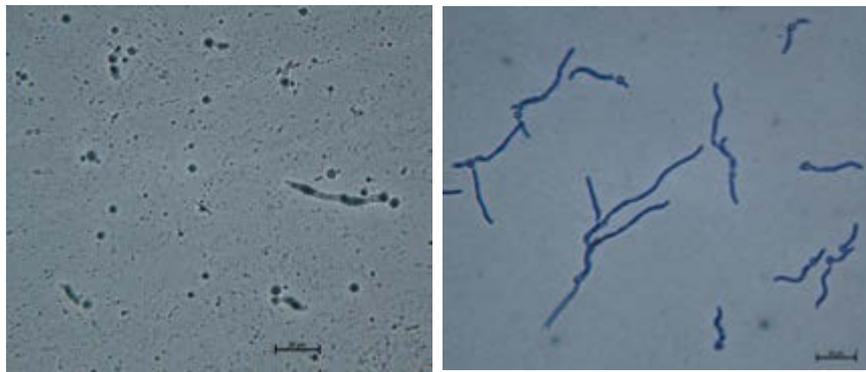


Abb. 38: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

#### 3.2.3.1.4 Akazienhonig

Die Varianten mit Akazienhonig (20 und 50 % Verdünnung) hatten im Vergleich zur Kontrolle keine signifikanten Einflüsse auf die Keimfähigkeit von *B. bassiana* ( $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 64) (siehe Tab. 35 & Abb. 39). Nach 24 h waren im Mittel 96,9 % bzw. 99 % gekeimt, die Steigerungen der beiden Verdünnungen (20 und 50 %) waren nach 48 h hoch signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0010$ ) (siehe Tab. 38 & Anh. Tab. 64).

Tab. 38: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	92,5	98,8	99,8	96,5	96,9
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100
Akazienhonig (50 %)	24	98,8	98,8	99,0	99,3	99,0
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

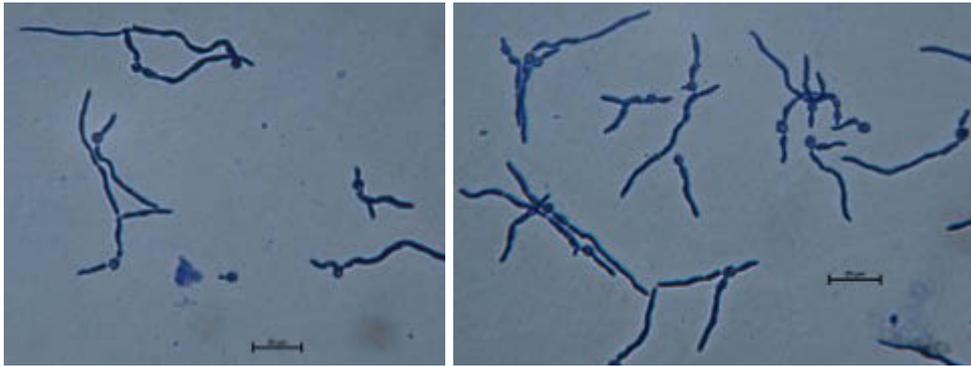


Abb. 39: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

### 3.2.3.1.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Höchst signifikante Keimhemmungen von *B. bassiana* (Bodenisolat) Konidien konnten nur bei Behandlung mit Gelée Royale und Lindenhonig (20 % Verdünnung) festgestellt werden. Gelée Royale konnte die Keimungsrate über die gesamte Versuchsdauer im Vergleich zu den anderen Substanzen höchst signifikant verringern (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 40).

Lindenhonig bei 20 %iger Verdünnung hatte nur nach 24 h hemmenden Einfluss, der sich hoch bis höchst signifikant von der Kontrolle und den übrigen Bienenenerzeugnissen unterschied ( $p = 0,0002$  bzw.  $p = 0,0000$ ). Akazienhonig (20 und 50 % Verdünnung) und Lindenhonig bei 50 %iger Verdünnung haben die Keimung von *B. bassiana* Konidien nicht beeinflusst (siehe Abb. 40 & Anh. Tab. 64).

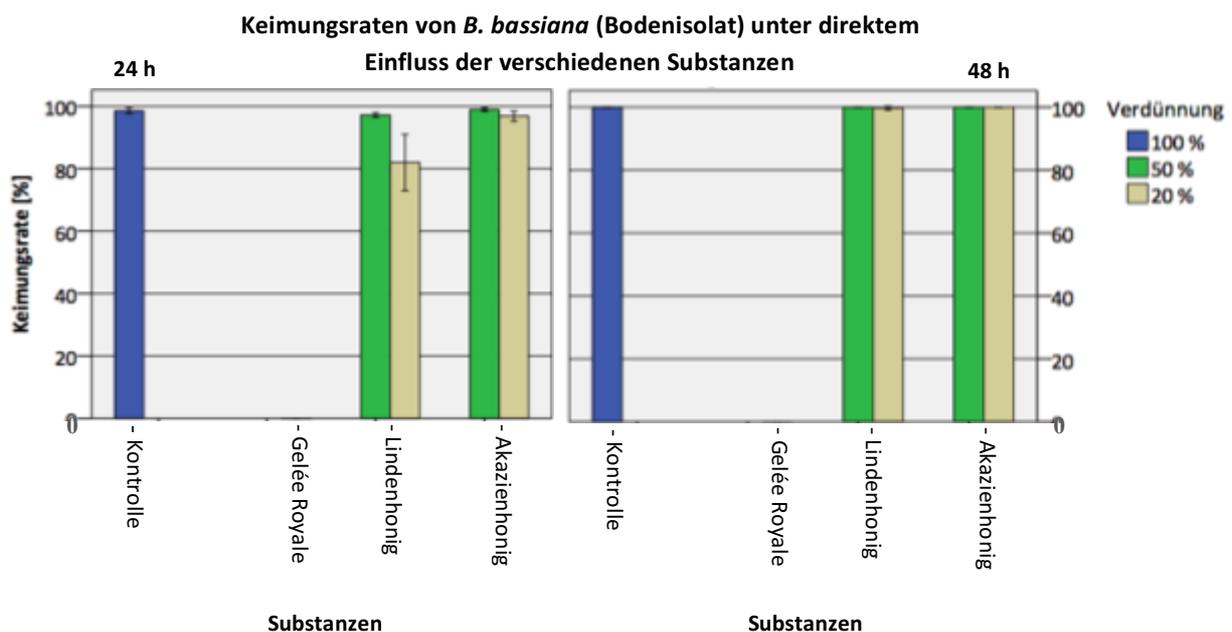


Abb. 40: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Bodenisolat) nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.3.2 *Beauveria bassiana* – Käferisolat

#### 3.2.3.2.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

Die Keimungsraten von *B. bassiana* (Käferisolat) lagen nach 24 h im Mittel bei etwa 87 % und konnten sich nach 48 h höchst signifikant auf 100 % erhöhen ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 39 & Anh. Tab. 65).

Tab. 39: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	86,0	93,3	90,3	81,3	87,7
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

#### 3.2.3.2.2 Gelée Royale

Verdünntes Gelée Royale hemmte die Keimung von *B. bassiana* über die gesamte Versuchsdauer sehr stark. Der Unterschied zur Kontrolle war nach 24 – 72 h höchst signifikant (in allen Fälle  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 39). Selbst nach 72 h war eine Keimungsrate von 0 % zu verzeichnen (siehe Tab. 40 & Anh. Tab. 65). Eine der Platten wies eine Keimungsrate von 0,3 % auf, der Grund für die leicht erhöhte Keimung ist jedoch unklar.

Tab. 40: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20%)	24	0,0	0,3	0,0	0,0	0,1
	48	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	72	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

#### 3.2.3.2.3 Lindenhonig

Bei Lindenhonig mit 20 %iger Verdünnung wurde nach 24 h eine Keimungsrate von etwa 16 % festgestellt. Aufgrund der hemmenden Wirkung konnten höchst signifikante Unterschiede zur Kontrolle diagnostiziert werden ( $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 41). Die Keimung stieg nach 48 und 72 h hoch bis höchst signifikant an und erreichte bei Versuchsende beinahe 100 % ( $p = 0,0000$  bzw.  $p = 0,0020$ ). Trotzdem war die Keimungsrate auch nach 48 h im Vergleich zur Kontrolle hoch signifikant reduziert ( $p = 0,0006$ ) (siehe Tab. 39, Tab. 41 & Anh. Tab. 65).

Die Variante mit 50 %iger Verdünnung des Honigs führte zu höheren Keimungsraten. Ein Vergleich mit der Kontrolle ergab jedoch höchst signifikant verringerte Keimung nach 24 h ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 39 & Abb. 41). Nach 48 h kam es zu einer höchst signifikanten Steigerung der Keimfähigkeit (siehe Tab. 41 & Anh. Tab. 65).

Tab. 41: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	13,8	16,3	19,0	15,5	16,2
	48	92,3	92,3	96,3	84,0	91,2
	72	100	100	100	98,5	99,6
Lindenhonig (50 %)	24	51,3	71,5	54,3	69,5	61,7
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

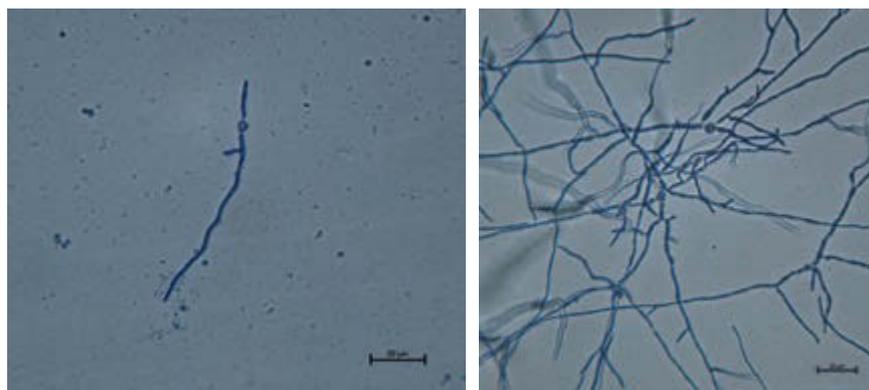


Abb. 41: *B. bassiana* (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

#### 3.2.3.2.4 Akazienhonig

Bei 20 %iger Verdünnung wurden nach 24 h höchst signifikante Hemmungen im Vergleich zur Kontrolle ermittelt ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 39 & Abb. 42). Dieser Effekt war nach 48 h nicht mehr gegeben, da es zu einem höchst signifikanten Anstieg der Keimungsrate kam ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 42 & Anh. Tab. 65).

Akazienhonig mit 50 %iger Verdünnung zeigte kaum Auswirkungen. Es wurden über den gesamten zeitlichen Verlauf keine signifikanten Einflüsse auf die Keimfähigkeit beobachtet ( $p < 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 65) (siehe Tab. 42 & Abb. 42).

Tab. 42: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	64,0	60,5	42,5	61,8	57,2
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100
Akazienhonig (50 %)	24	83,3	86,8	89,0	83,0	85,5
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

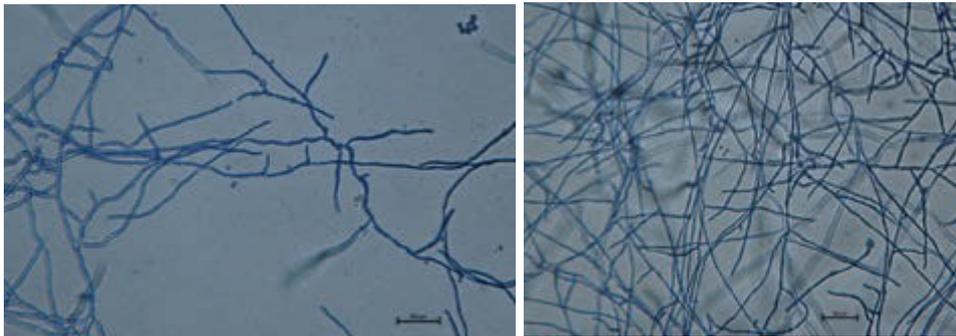


Abb. 42 *B. bassiana* (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

### 3.2.3.2.5 Vergleich der Substanzen (Bienenprodukte und Kontrolle)

Gelée Royale hatte mit Abstand den größten Einfluss auf die Keimungsrate von *B. bassiana* (Käferisolat) Konidien. Die Hemmung war über die gesamte Versuchsdauer etwa gleichbleibend (Keimungsrate 0 – 0,3 %) und die Unterschiede zu den anderen Substanzen höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 43 & Anh. Tab. 65).

Nach Gelée Royale reagierte *B. bassiana* am sensitivsten auf Lindenhonig (20% Verdünnung). Nach 24 h waren höchst signifikante Unterschiede zur Kontrolle, Lindenhonig mit 50 %iger Verdünnung und den beiden Varianten mit Akazienhonig zu verzeichnen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Dieser hemmende Effekt war nach 48 h noch gegeben, der Unterschied war hoch signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0006$ ).

Die Wirkungen von Akazienhonig (20 % Verdünnung) und Lindenhonig (50 % Verdünnung) waren in etwa ident. Die Keimungsraten betragen nach 24 h 57,2 – 61,7 % und waren somit höchst signifikant unterschiedlich zu den übrigen Versuchsvarianten (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Nach 48 h konnten keine hemmenden Interaktionen mehr beobachtet werden. Die Wirkung von Akazienhonig (50 % Verdünnung) kann vernachlässigt werden, da diese zu keiner

Zeit einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle zeigte ( $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 65) (siehe Abb. 43).

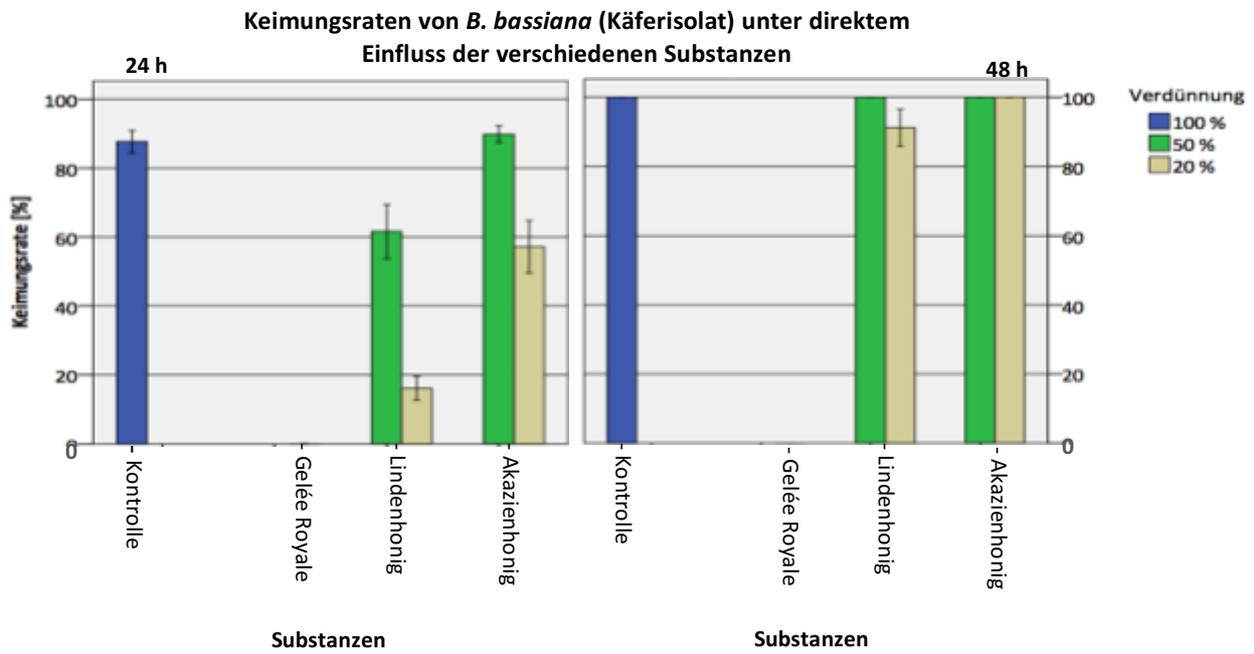


Abb. 43: Keimungsraten von *Beauveria bassiana* (Käferisolat) nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.3.3 *Beauveria brongniartii* – Käferisolat

#### 3.2.3.3.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

*B. brongniartii* (Käferisolat) wies nach 24 h eine Keimungsrate von 96 % auf, diese steigerte sich nach 48 h höchst signifikant ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 43).

Tab. 43: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	96,8	95,8	94,5	97,0	96,0
	48	99,8	99,5	100	99,8	99,8
	72	100	100	100	100	100

#### 3.2.3.3.2 Gelée Royale

Das Pilz-Isolat konnte in Gelée Royale (20%ige Verdünnung) kaum keimen, die Keimungsraten lagen bei 0,0 – 0,8 %. Daraus resultiert ein höchst signifikanter Unterschied zur Kontrolle in Bezug auf die gesamte Versuchsdauer (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 43, Tab. 44 & Anh. Tab. 66).

Tab. 44: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20%)	24	0,0	0,3	0,0	0,0	0,1
	48	0,0	0,8	0,0	0,3	0,3
	72	0,0	0,5	0,0	0,5	0,3

#### 3.2.3.3.3 Lindenhonig

Lindenhonig mit einer 20 %igen Verdünnung konnte die Keimfähigkeit stark herabsetzen. Sowohl nach 24 h als auch nach 48 h waren Keimungsraten von etwa 14 % zu verzeichnen (siehe Abb. 44). Somit waren die hemmenden Wirkungen im Vergleich zur Kontrolle höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Nach 72 h stieg die Zahl gekeimter Konidien zwar höchst signifikant an ( $p = 0,0000$ ), jedoch war der Unterschied zur Kontrolle noch immer höchst signifikant ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 43 & Anh. Tab. 66). Wie in Tab. 45 zu sehen ist, wurden bei diesem Versuch stark schwankende Ergebnisse zwischen den vier Platten beobachtet.

Die stärker verdünnte Variante (50 % Wasser) zeigte, mit Ausnahme einer Schale, geringe Wirkung auf die Keimfähigkeit, trotzdem war nach 24 h eine höchst signifikante Reduzierung im Vergleich zur Kontrolle gegeben ( $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 44). Nach 48 h war die Keimungsrate höchst signifikant erhöht und lag bei 97,8 % ( $p = 0,0000$ ), der Unterschied zur Kontrolle war hoch signifikant ( $p = 0,0002$ ). Signifikante Steigerungen und Unterschiede zur Kontrolle konnten nach 72 h nicht mehr festgestellt werden (siehe Tab. 43, Tab. 45 & Anh. Tab. 66).

Tab. 45: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	3,8	18,8	5,0	29,0	14,2
	48	5,5	25,3	7,8	16,5	13,8
	72	91,5	83,0	46,8	81,8	75,8
Lindenhonig (50 %)	24	33,5	78,8	81,8	75,0	67,3
	48	96,8	98,0	99,3	97,0	97,8
	72	99,8	81,3	92,8	99,8	93,4

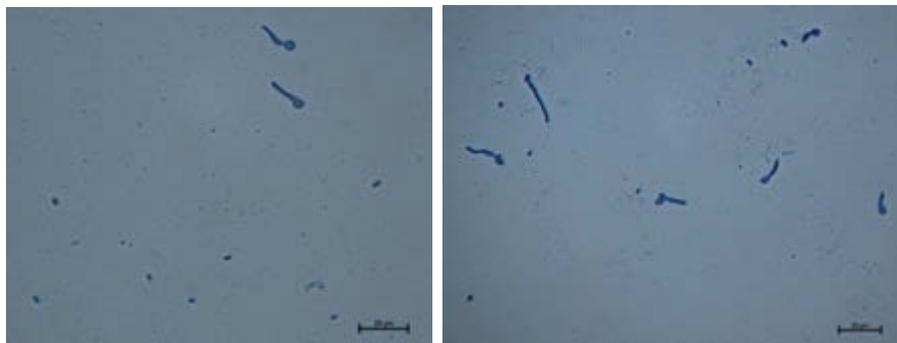


Abb. 44: *B. brongniartii* unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

#### 3.2.3.3.4 Akazienhonig

Die Keimung von *B. brongniartii* konnte bei Kontakt mit Akazienhonig (20 % Verdünnung) im Vergleich zur Kontrolle nach 24 und 48 h höchst signifikant verringert werden (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 45). Nach 72 h wurde eine Keimungsrate von 99,2 % beobachtet und dadurch kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle gegeben ( $p = 0,0730$ ) (siehe Tab. 43). Die Zunahme an gekeimten Konidien war nach 48 und 72 h höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 46 & Anh. Tab. 66). Eine der Platten wies nach 48 h starke Kontaminationen auf und konnte somit nicht ausgewertet werden.

Akazienhonig mit 50 %iger Verdünnung zeigte während des gesamten Versuchs keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollvariante ( $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 66) (siehe Tab. 43). Die Keimungsrate betrug nach 24 h im Mittel 93,3 % und war nach 48 h signifikant erhöht ( $p = 0,0010$ ) (siehe Tab. 46 & Abb. 45).

Tab. 46: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	59,5	68,5	58,3	60,0	61,6
	48	89,0	81,8	80,3	Kontamination	83,7
	72	99,5	99,5	99,8	98,0	99,2
Akazienhonig (50 %)	24	93,8	91,0	91,5	96,8	93,3
	48	100	99,5	92,5	99,5	97,9
	72	100	100	100	100	100

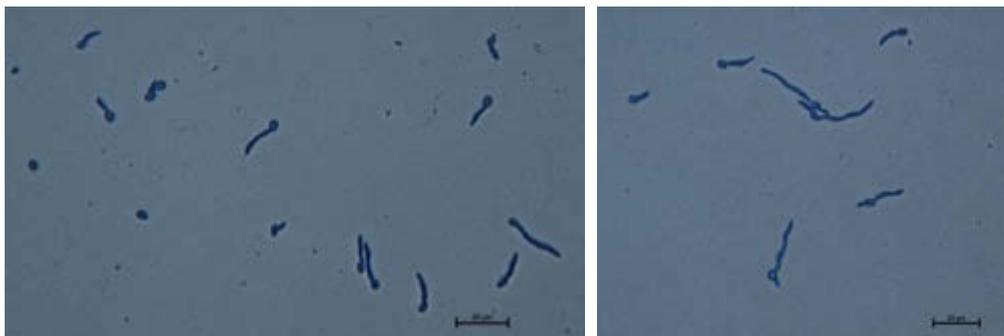


Abb. 45: *B. brongniartii* unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

### 3.2.3.3.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Beim Vergleich der Bienenenerzeugnisse ist klar ersichtlich, dass Gelée Royale die Keimfähigkeit von *B. brongniartii* Konidien am stärksten verringerte (siehe Abb. 46). Die höchst signifikant niedrigere Keimung im Vergleich zu den anderen Testsubstanzen war über den gesamten Versuchsverlauf gegeben (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Anh. Tab. 66).

Darauf folgte Lindenhonig (20 % Verdünnung), welcher ebenfalls signifikant bis höchst signifikant reduzierte Keimraten im Vergleich zu den restlichen Varianten, mit Ausnahme von Gelée Royale aufwies ( $p = 0,002$  bzw.  $p = 0,0000$ ). Zu beachten ist jedoch, dass Lindenhonig nach 72 h bereits eine Keimungsrate von etwa 75 % aufwies.

Den geringsten Einfluss auf die Keimung hatte Akazienhonig (50 % Verdünnung). Bei dieser Variante wurden bereits nach 24 h über 90 %ige Keimungsraten verzeichnet (siehe Abb. 46).

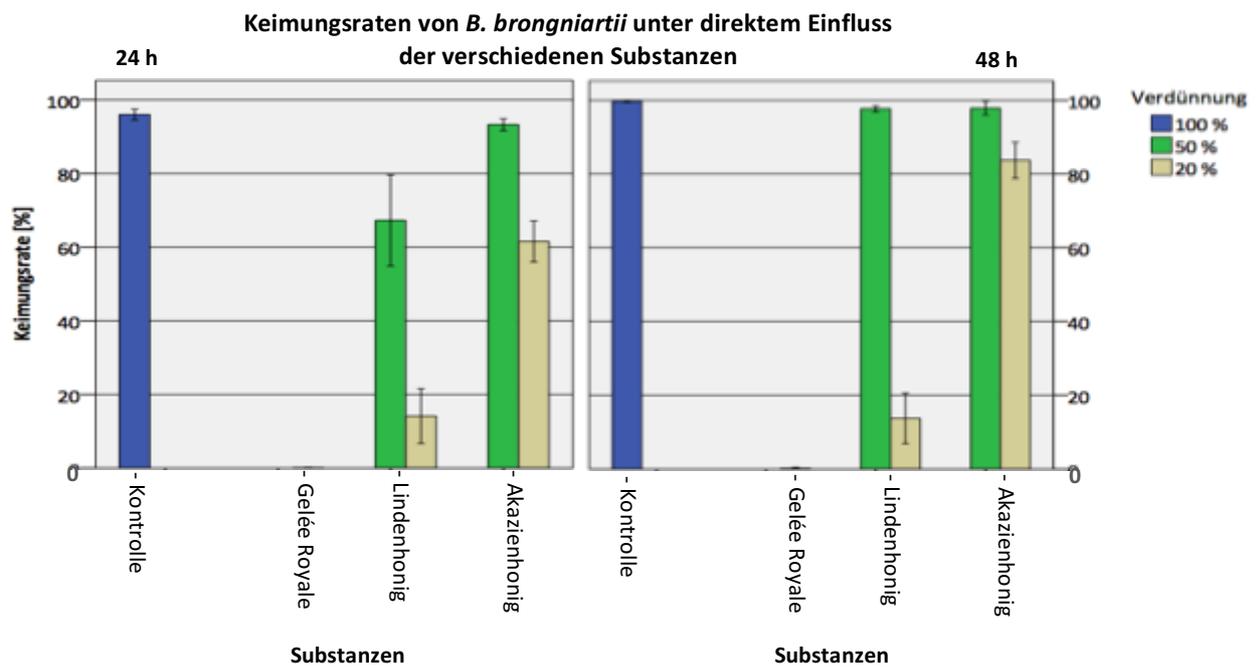


Abb. 46: Keimungsraten von *Beauveria brongniartii* nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.3.4 *Metarhizium anisopliae* – Bodenisolat

#### 3.2.3.4.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

*M. anisopliae* (Bodenisolat) zeigte nach 24 h Keimungsraten von 72 %. Höchst signifikante Steigerungen konnten nach 48 und 72 h festgestellt werden (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ), wodurch die Keimung bei Versuchsende beinahe 100 % erreichte (siehe Tab. 47 & Anh. Tab. 67).

Tab. 47: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	72,3	81,3	66,0	68,5	72,0
	48	88,3	88,3	92,5	92,3	90,4
	72	100	99,3	99,5	99,5	99,6

#### 3.2.3.4.2 Gelée Royale

Gelée Royale (20 %ige Verdünnung) wies nach 24 h eine Keimfähigkeit von 0,0 – 0,3 % auf. Ein höchst signifikant hemmender Einfluss im Vergleich zur Kontrolle war über die gesamte Versuchsdauer gegeben (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 47).

Mit dem Faktor Zeit nahm die Keimungsrate jedoch höchst signifikant zu und erreichte nach 72 h im Mittel 43,7 % (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 48 & Anh. Tab. 67).

Tab. 48: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20%)	24	0,0	0,0	0,3	0,3	0,2
	48	16,3	17,3	22,5	10,8	16,7
	72	34,3	41,3	56,8	42,3	43,7

#### 3.2.3.4.3 Lindenhonig

Wie bereits erwähnt wurde bei den Versuchen mit *M. anisopliae* bei der Variante mit Lindenhonig nur eine 20 %ige Verdünnung angefertigt, da das Isolat auch bei der Kontrollvariante schlechte Keimung aufwies und der Versuch des Öfteren wiederholt werden musste. Die Keimungsraten waren im Vergleich zur Kontrolle nach 24 – 72 h höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 47 & Tab. 48).

Die Keimungsrate lag nach 24 h im Mittel bei 11,3 % und konnte sich nach 48 und 72 h höchst signifikant erhöhen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Anh. Tab. 67). Zu beachten sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Platten, nach 24 h keimten 3,8 – 25 % der Konidien (siehe Tab. 49).

Tab. 49: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	8,5	25,0	3,8	7,8	11,3
	48	40,5	27,3	24,5	26,0	29,6
	72	48,3	59,8	57,5	76,5	60,5

#### 3.2.3.4.4 Akazienhonig

Auch bei dieser Honigsorte wurde lediglich eine 20 %ige Verdünnung hergestellt. Die Unterschiede der Keimungsraten waren im Vergleich zur Kontrolle nach 24 und 48 h höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 47 & Anh. Tab. 67).

Durch die höchst signifikante Erhöhung der Keimzahlen war nach 72 h eine Keimungsrate von über 97 % zu verzeichnen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 50).

Tab. 50: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	16,3	15,3	28,8	22,0	20,6
	48	74,5	63,8	68,0	69,3	68,9
	72	96,0	100	99,0	94,8	97,5

#### 3.2.3.4.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Die Keimfähigkeit von *M. anisopliae* Konidien wurde vor allem durch Gelée Royale herabgesetzt. Gelée Royale konnte über 72 h höchst signifikant hemmende Wirkungen im Vergleich zur Kontrolle und Akazienhonig (20 % Verdünnung) erzielen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 47 & Anh. Tab. 67).

Bei Kontakt mit Lindenhonig (20 % Verdünnung) war die Keimfähigkeit im Vergleich zur Kontrolle und Akazienhonig ebenfalls höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Die Keimungsraten waren jedoch etwas höher als jene von Gelée Royale und unterschieden

sich nach 24 und 48 h hoch bis höchst signifikant ( $p = 0,0017$  bzw.  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 47 & Anh. Tab. 67).

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass Gelée Royale den größten und Akazienhonig den geringsten hemmenden Effekt in Bezug auf die Keimungsrate hatte.

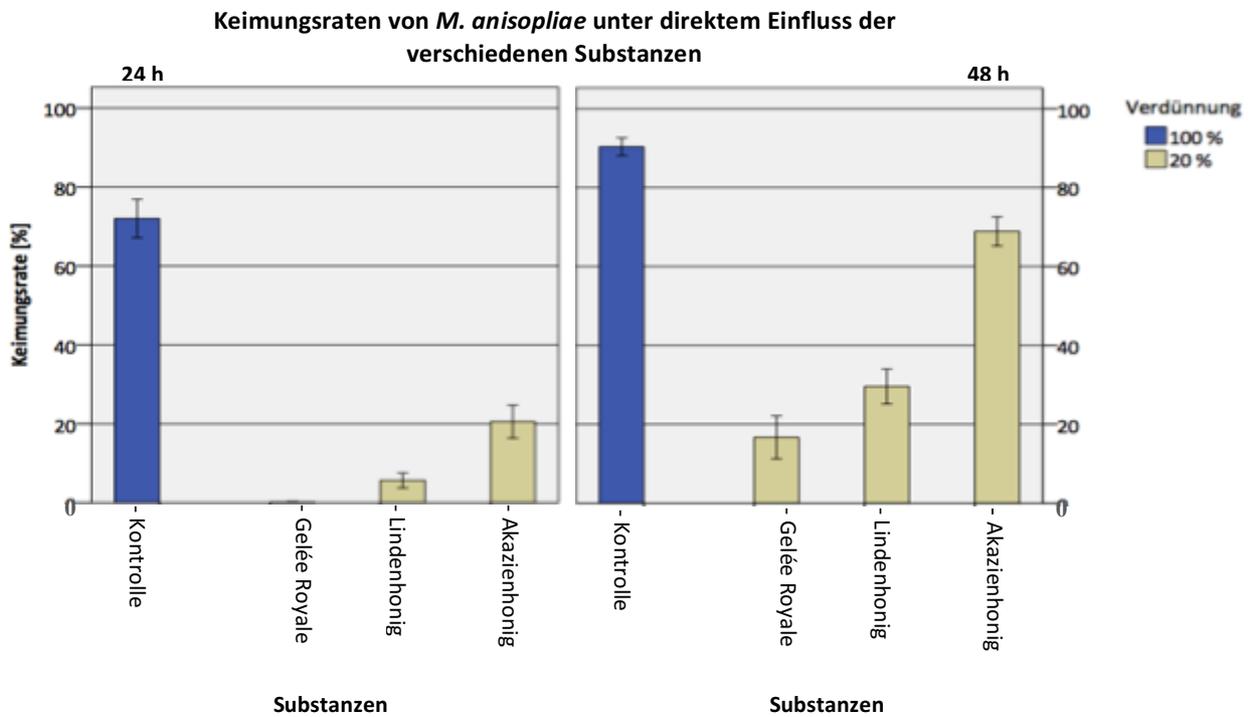


Abb. 47: Keimungsraten von *Metarhizium anisopliae* nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.3.5 *Metarhizium flavoviride* – Bodenisolat

#### 3.2.3.5.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

Beim Kontrollversuch konnte bei *M. flavoviride* (Bodenisolat) nach 24 h eine Keimungsrate von 85,7 % beobachtet werden. Nach 48 h kam es zu einem hoch signifikanten und nach 72 h zu einem höchst signifikanten Anstieg ( $p = 0,0010$  bzw.  $p = 0,0000$ ). Die Keimfähigkeit lag schließlich bei 100 % (siehe Tab. 51 & Anh. Tab. 68).

Tab. 51: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	84,57	81,3	89,5	87,3	85,7
	48	90,0	90,0	90,8	95,5	91,6
	72	100	100	100	100	100

#### 3.2.3.5.2 Gelée Royale

Eine Keimfähigkeit von 0,0 – 1,3 % wurde nach der Behandlung mit Gelée Royale diagnostiziert (20 %ige Verdünnung). Über die gesamte Versuchsdauer war die die Anzahl gekeimter Sporen höchst signifikant geringer im Vergleich zur Kontrolle (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 51).

Der Faktor Zeit hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Keimungsraten ( $p > 0,016$ , siehe Anh. Tab. 68) (siehe Tab. 52).

Tab. 52: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter direktem Einfluss von Gelée Royale bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20 %)	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	48	0,0	0,5	0,0	0,3	0,2
	72	0,0	4,8	0,3	0,0	1,3

#### 3.2.3.5.3 Lindenhonig

Beide Versuchsvarianten des Lindenhonigs (20 und 50 % Verdünnung) zeigten über den ganzen zeitlichen Verlauf höchst signifikante Hemmungen der Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 51 & Abb. 48).

Die Zunahme der Keimfähigkeit war bei beiden Verdünnungen nach 48 und 72 h höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Anh. Tab. 68), erreichte nach 72 h im Mittel jedoch nur 12,0 bzw. 15,5 % (siehe Tab. 53).

Tab. 53: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	0,5	1,3	0,8	0,3	0,7
	48	3,3	6,5	1,0	2,8	3,4
	72	14,0	13,8	17,8	16,3	15,5
Lindenhonig (50 %)	24	1,0	2,5	0,8	1,0	1,3
	48	2,3	3,5	1,5	2,5	2,5
	72	8,5	7,8	15,3	16,5	12,0

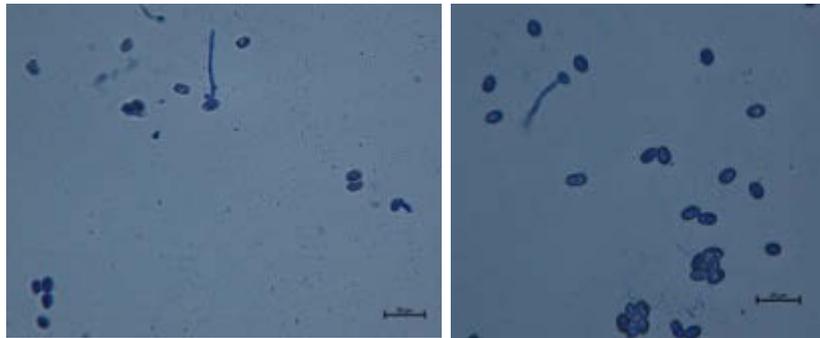


Abb. 48: *M. flavoviride* unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

#### 3.2.3.5.4 Akazienhonig

Akazienhonig (20 und 50 % Verdünnung) konnte die Keimungsraten von *M. flavoviride* nach 24 – 72 h im Vergleich zur Kontrolle höchst signifikant reduzieren (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 51 & Abb. 49).

Bei der Variante mit der 20 %igen Verdünnung lag die Keimung nach 48 h bei 34,2 % und war somit im Vergleich zu 24 h hoch signifikant erhöht ( $p = 0,0010$ ). Nach 72 h konnten bei beiden Verdünnungsvarianten höchst signifikante Steigerungen festgestellt werden (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ), die Keimungsraten betragen 73,6 – 83,9 % (siehe Tab. 54 & Anh. Tab. 68).

Tab. 54: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	27,8	9,8	27,8	11,0	19,1
	48	26,8	38,8	32,7	38,3	34,2
	72	64,5	70,5	81,0	78,5	73,6
Akazienhonig (50 %)	24	17,0	14,0	25,0	8,5	16,1
	48	13,5	16,8	14,8	12,5	14,4
	72	72,8	77,3	91,8	93,8	83,9

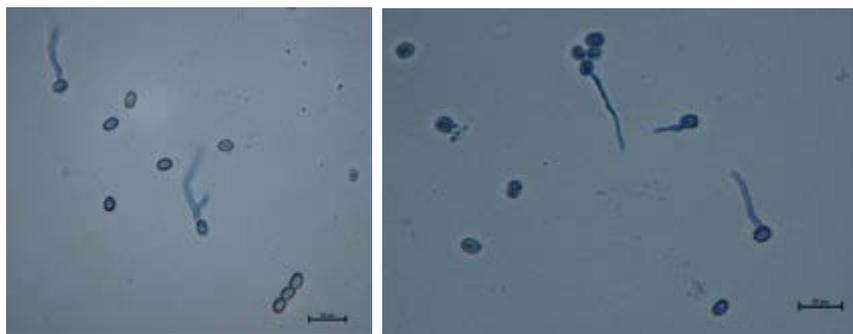


Abb. 49: *M. flavoviride* unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

### 3.2.3.5.5 Vergleich der Substanzen (Bienenprodukte und Kontrolle)

*M. flavoviride* Konidien wurden durch die getesteten Substanzen stark in der Keimfähigkeit gehemmt. Vor allem Gelée Royale hatte stark reduzierende Wirkung. Die Keimhemmung war im Vergleich zu den anderen Testsubstanzen über den gesamten Verlauf meist höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Lediglich im Vergleich zu Lindenhonig (20 und 50 % Verdünnung) zeigten sich nach 24 h keine bis signifikante Unterschiede ( $p = 0,0150$  bzw.  $p = 0,0060$ ) (siehe Abb. 50 & Anh. Tab. 68).

Nach Gelée Royale konnte Lindenhonig die Keimungsrate von *M. flavoviride* am stärksten verringern. Beide Varianten (20 und 50 % Verdünnung) waren im Vergleich zu den restlichen Substanzen über den gesamten Versuchsverlauf höchst signifikant niedriger (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Ebenso wiesen die beiden Varianten des Akazienhonigs nach 24 – 72 h höchst signifikant reduzierte Keimungsraten im Vergleich zur Kontrolle auf (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Ein höchst signifikanter Unterschied zwischen den beiden Verdünnungen konnte nach 48 h festgestellt werden ( $p = 0,6420$ ), diese Divergenz war nach 72 h nicht mehr ersichtlich (siehe Abb. 50 & Anh. Tab. 68).

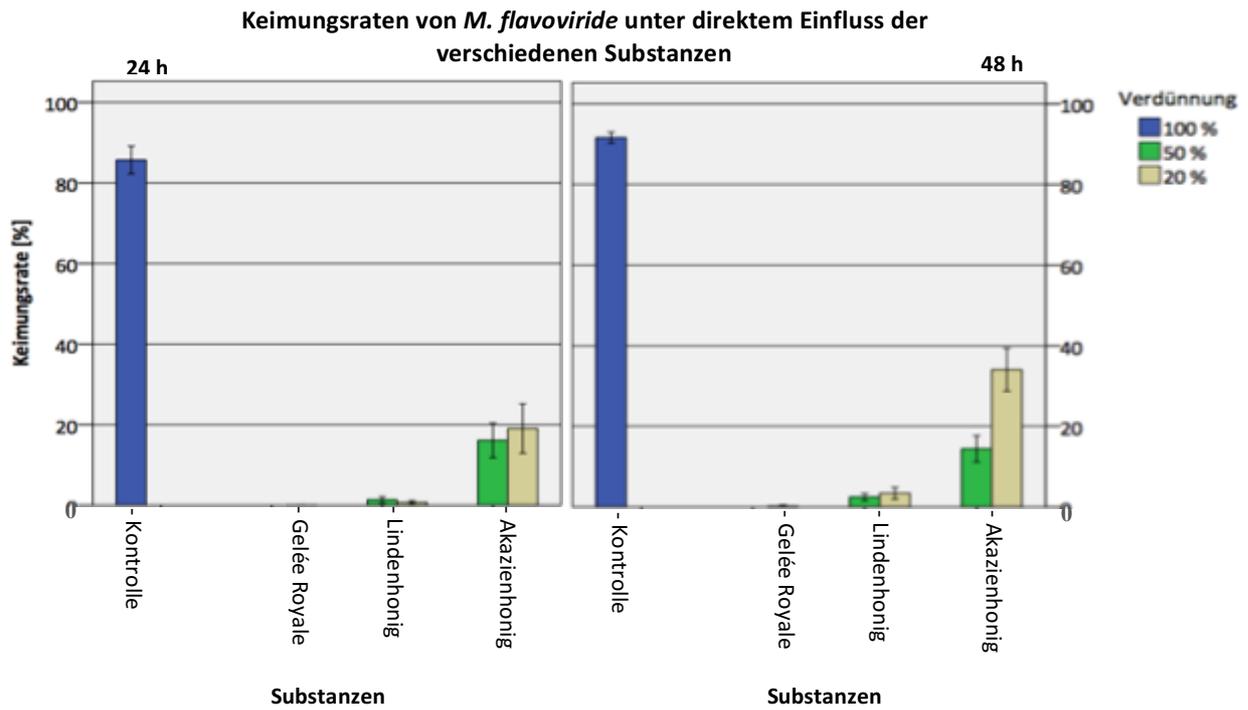


Abb. 50: Keimungsraten von *Metarhizium flavoviride* nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.3.6 *Isaria fumosorosea* – Bodenisolat

#### 3.2.3.6.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

*I. fumosorosea* (Bodenisolat) wies nach 24 h im Mittel eine Keimungsrate von 92,7 % auf und erreichte bereits nach 48 h 100%, die Zunahme war höchst signifikant ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 55 & Anh. Tab. 69).

Tab. 55: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Kontrolle	24	94,5	92,8	93,0	90,3	92,7
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

#### 3.2.3.6.2 Gelée Royale

Über die gesamte Versuchsdauer war eine starke Keimhemmung durch verdünntes Gelée Royale zu erkennen. Die Keimungsraten lagen bei 0,0 – 1,8 %, somit waren die Unterschiede zur Kontrolle nach 24 – 72 h höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 55, Tab. 56 & Anh. Tab. 69).

Tab. 56: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Gelée Royale (20 %)	24	1,8	0,0	1,0	1,5	1,1
	48	0,5	1,3	0,8	0,8	0,9
	72	0,8	1,8	0,0	0,8	0,9

#### 3.2.3.6.3 Lindenhonig

Lindenhonig mit einer 20 %igen Verdünnung wies nach 24 und 48 h höchst signifikante Unterschiede zur Kontrolle auf (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 55 & Abb. 51). Die Keimungsrate lag nach 48 h bei 18,2 % und war hoch signifikant erhöht ( $p = 0,0010$ ). Nach 72 h waren 97,2 % der Konidien gekeimt und die Zunahme somit wieder höchst signifikant ( $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 57 & Anh. Tab. 69).

Die Variante mit der höheren Verdünnung (50 %) führte lediglich nach 24 h im Vergleich zur Kontrolle zu einer höchst signifikanten Hemmung (siehe Tab. 55 & Abb. 51). Eine Keimungsrate von 19 % wurde festgestellt. Nach 48 und 72 h kam es zu signifikanten bis höchst

signifikanten Steigerungen ( $p = 0,0060$  bzw.  $p = 0,0000$ ), die zu 100 %iger Keimung führten (siehe Tab. 57 & Anh. Tab. 69).

Tab. 57: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Lindenhonig (20 %)	24	11,8	5,3	4,3	7,0	7,1
	48	10,8	32,3	17,0	12,8	18,2
	72	100	96,0	95,25	97,5	97,2
Lindenhonig (50 %)	24	17,8	19,3	14,0	24,8	19,0
	48	98,3	99,3	99,0	99,3	99,0
	72	100	100	100	100	100

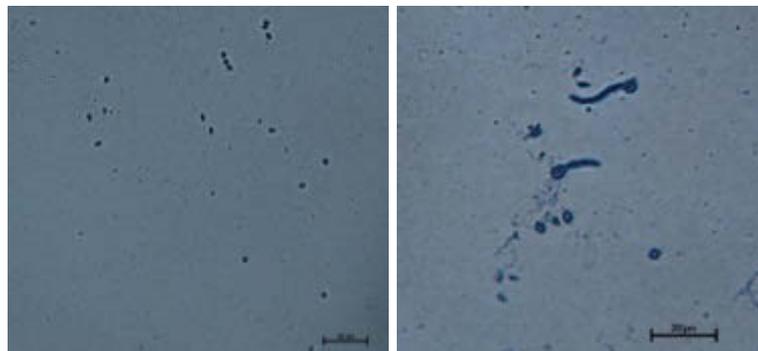


Abb. 51: *I. fumosorosea* unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

#### 3.2.3.6.4 Akazienhonig

Akazienhonig (20 und 50 % Verdünnung) zeigte geringe keimhemmende Wirkung. Ein reduzierender Einfluss war lediglich nach 24 h zu verzeichnen, der Unterschied zur Kontrolle war hierbei höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 55 & Abb. 52). Bei der Variante mit 20 %iger Verdünnung kam es nach 24 h zu unterschiedlich hohen Keimungsraten, diese lagen bei 32,8 – 62,8 %. Nach 48 h konnte die Keimungsrate höchst signifikant gesteigert werden (96,1 – 100 %, in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Tab. 58 & Anh. Tab. 69).

Tab. 58: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung

Substanz	h	Platte 1	Platte 2	Platte 3	Platte 4	MW
Akazienhonig (20 %)	24	36,8	62,8	32,8	42,3	43,7
	48	96,5	88,3	99,8	99,8	96,1
	72	100	100	100	100	100
Akazienhonig (50 %)	24	50,0	62,5	55,3	61,0	57,2
	48	100	100	100	100	100
	72	100	100	100	100	100

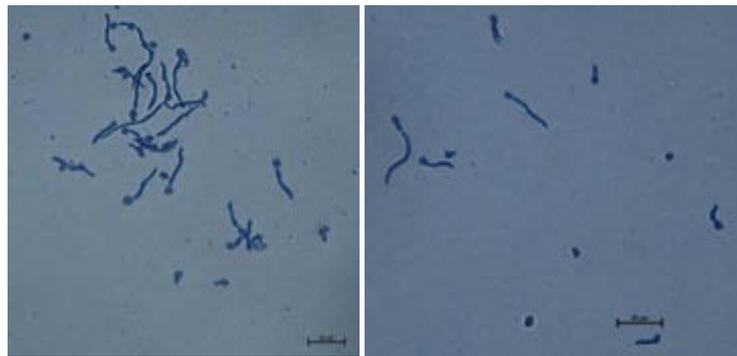


Abb. 52: *I. fumosorosea* unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h

### 3.2.3.6.5 Vergleich der Substanzen (Bienenenerzeugnisse und Kontrolle)

Es kam zu großen Unterschieden in der keimhemmenden Wirkung der getesteten Substanzen. Wie bereits erwähnt konnten die Keimungsraten von *I. fumosorosea* Konidien bei Kontakt mit Gelée Royale nicht mehr als 1,8 % erreichen. Die Keimfähigkeit bei Behandlung mit den anderen Testsubstanzen war somit höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) und im Falle von Lindenhonig (20 % Verdünnung) nach 24 h hoch signifikant erhöht ( $p = 0,0002$ ) (siehe Abb. 53 & Anh. Tab. 69).

Darauf folgte Lindenhonig mit einer Verdünnung von 20 %. Der hemmende Effekt war im Vergleich zur Kontrolle und den übrigen Bienenenerzeugnissen (Ausnahme Gelée Royale) nach 24 und 48 h höchst signifikant größer (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Lindenhonig (50 % Verdünnung) und die beiden Varianten des Akazienhonigs (20 und 50 % Verdünnung) konnten nur nach 24 h höchst signifikante Reduzierungen der Keimungsraten hervorrufen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 53 & Anh. Tab. 69).

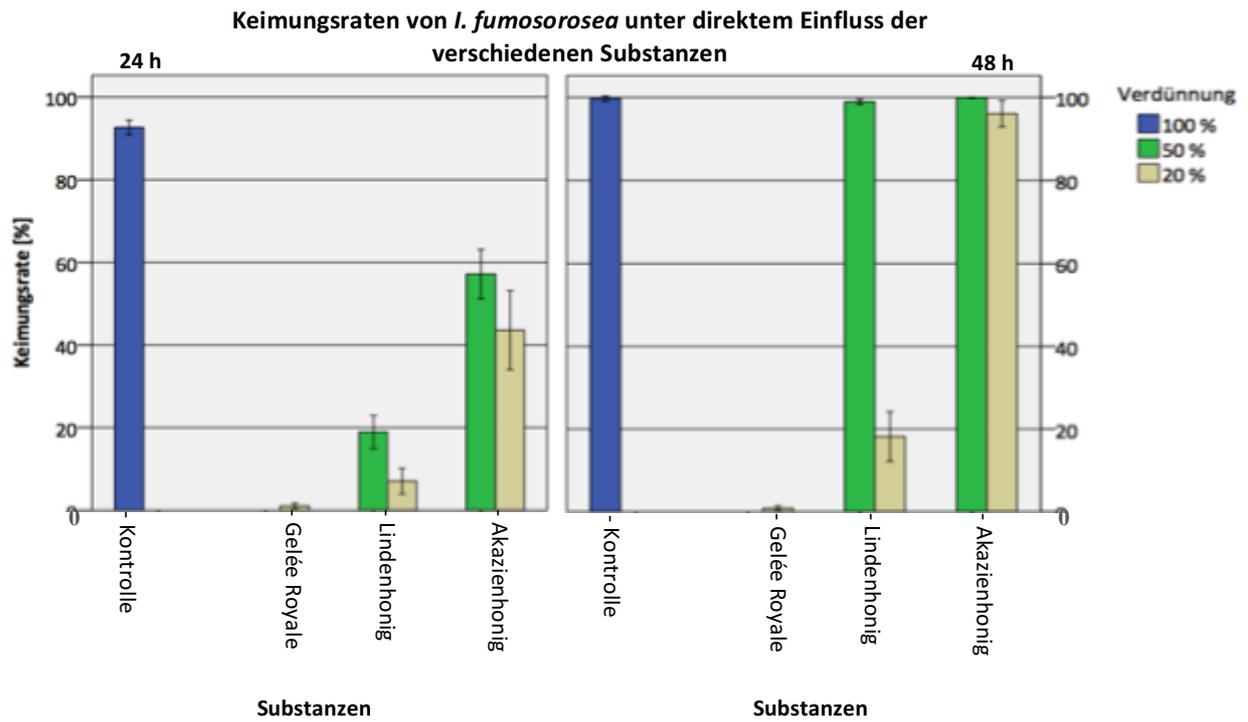


Abb. 53: Keimungsraten von *Isaria fumosorosea* nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen

### 3.2.4 Formulierung der Konidien mit Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig (bei unterschiedlicher Verdünnung der Honige) – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Dieses Kapitel beschreibt die Einflüsse der getesteten Substanzen im Vergleich zwischen den sechs Pilz-Isolaten. Die berechneten Mittelwerte wurden auf signifikante Unterschiede getestet. Mittels Bonferroni-Korrektur wurden die Signifikanzniveaus entsprechend angepasst (siehe Tab. 59). Die zahlenmäßigen Details sind im Anhang angeführt.

Tab. 59: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurde die geringere Anzahl an Versuchen bei 50 %iger Verdünnung berücksichtigt.

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte	
		Vergleich der Pilz-Arten/Isolate	Vergleich der Pilz-Arten/Isolate bei 50 %iger Verdünnung der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,0033	< 0,005
hoch signifikant	< 0,01	< 0,00066	< 0,001
höchst signifikant	< 0,001	< 0,000006	< 0,0001

#### 3.2.4.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

Die Keimungsraten von *B. bassiana* (Bodenisolat) erreichten nach 24 h mit 98,6 % den höchsten Wert der getesteten Pilz-Isolate. Der Unterschied war signifikant bis höchst signifikant ( $p = 0,0019$  bis  $p = 0,0000$ , siehe Anh. Tab. 71). *M. anisopliae* zeigte mit 72 % die geringste Keimungsrate und unterschied sich hoch bis höchst signifikant von den anderen Pilz-Isolaten ( $p = 0,0009$  bis  $p = 0,0000$ ). Nach 48 h wiesen fast alle Pilze 99 – 100 % Keimfähigkeit auf. Ausnahmen bildeten *M. anisopliae* und *M. flavoviride* mit höchst signifikant reduzierter Keimung (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Dieser höchst signifikante Unterschied war nach 72 h nicht mehr zu beobachten ( $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 72 - 73) (siehe Abb. 54).

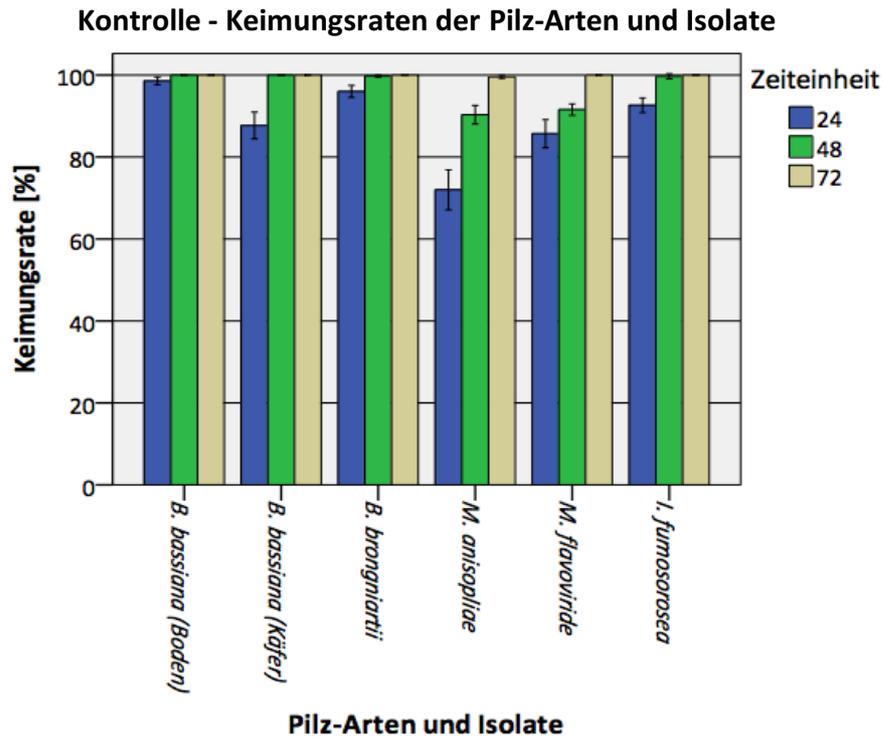


Abb. 54: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 3.2.4.2 Gelée Royale

Die Keimungsraten aller Pilz-Arten und Isolate waren unter direktem Einfluss von Gelée Royale (20 %ige Verdünnung) nach 24 h sehr niedrig, sie lagen bei 0,0 – 1,2 %. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Pilz-Arten und Isolaten zu erkennen ( $p > 0,0033$ , siehe Anh. Tab. 74). Bei fast allen Pilzen blieb die Keimung nach 48 h gering, lediglich *M. anisopliae* zeigte mit 16,7 % eine Zunahme der Keimfähigkeit. Eine Steigerung der Keimungsrate bei *M. anisopliae* konnte auch nach 72 h registriert werden. Zu beiden Zeitpunkten (48 und 72 h) waren die Unterschiede zu den anderen Pilz-Arten und Isolaten höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 55 & Anh. Tab. 74 - 76).

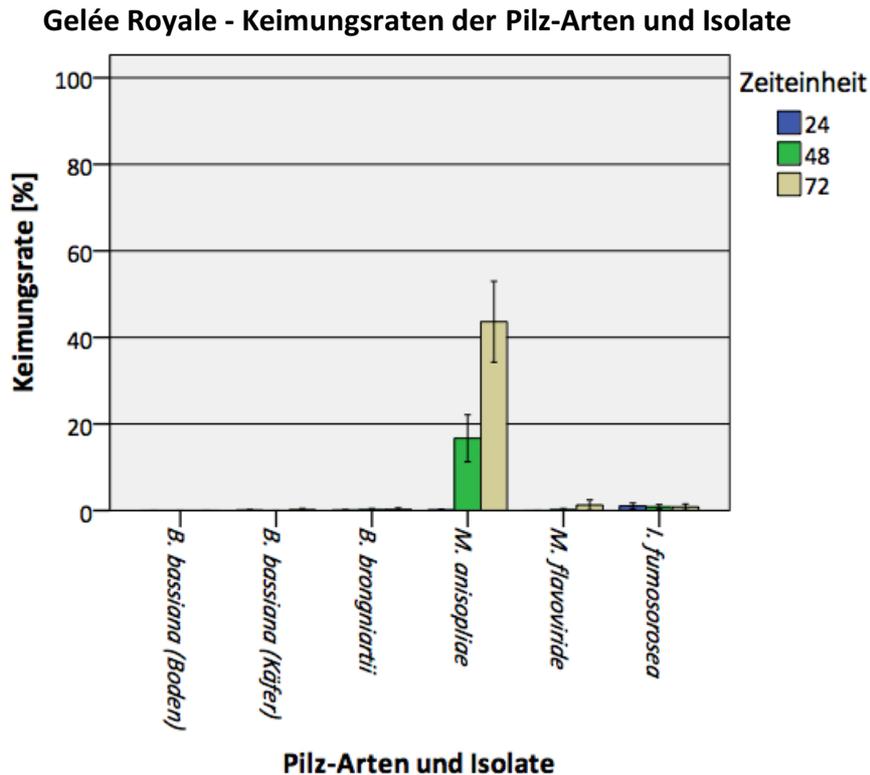


Abb. 55: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 3.2.4.3 Lindenhonig

#### 20 %ige Verdünnung mit Wasser

Bei 20 %iger Verdünnung von Lindenhonig konnte das Bodenisolat von *B. bassiana* nach 24 h bereits zu 82 % keimen und unterschied sich somit höchst signifikant von den anderen Pilzen (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). *M. flavoviride* wurde stark gehemmt, die Unterschiede zu den anderen Pilz-Arten und Isolaten waren hoch bis höchst signifikant ( $p = 0,00007$  bis  $p = 0,00000$ ). Die Keimungsraten der übrigen Pilz-Arten und Isolate lagen zwischen 7,1 – 16,2 %. Nach 48 h lag die Keimungsrate von *B. bassiana* (Bodenisolat) bei 100 %. Das Käferisolat von *B. bassiana* konnte im Mittel eine Keimfähigkeit von 91,2 % erreichen. Die beiden Isolate unterschieden sich untereinander hoch signifikant ( $p = 0,0005$ ) und wiesen im Vergleich zu den anderen Pilz-Arten höchst signifikant höhere Keimungsraten auf ( $p = 0,0000$ ). Bei den übrigen Pilz-Arten konnten kaum Steigerungen beobachtet werden. *M. flavoviride* wies nach 48 h weiterhin die niedrigste Keimungsrate auf, welche bei 3,4 % lag und war somit auch im Vergleich zu *M. anisopliae* und *I. fumosorosea* höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). *I. fumosorosea* erreichte nach 72 h eine Keimungsrate von 97,2 %. Die hemmende

Wirkung durch Lindenhonig war bei *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, aber besonders bei *M. flavoviride* über die gesamte Versuchsdauer gegeben. Die Keimfähigkeit von *M. flavoviride* lag nach 72 h bei nur 15,4 % und war im Vergleich zu den anderen Pilz-Isolaten höchst signifikant gehemmt (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) (siehe Abb. 56 & Anh. Tab. 77 - 79).

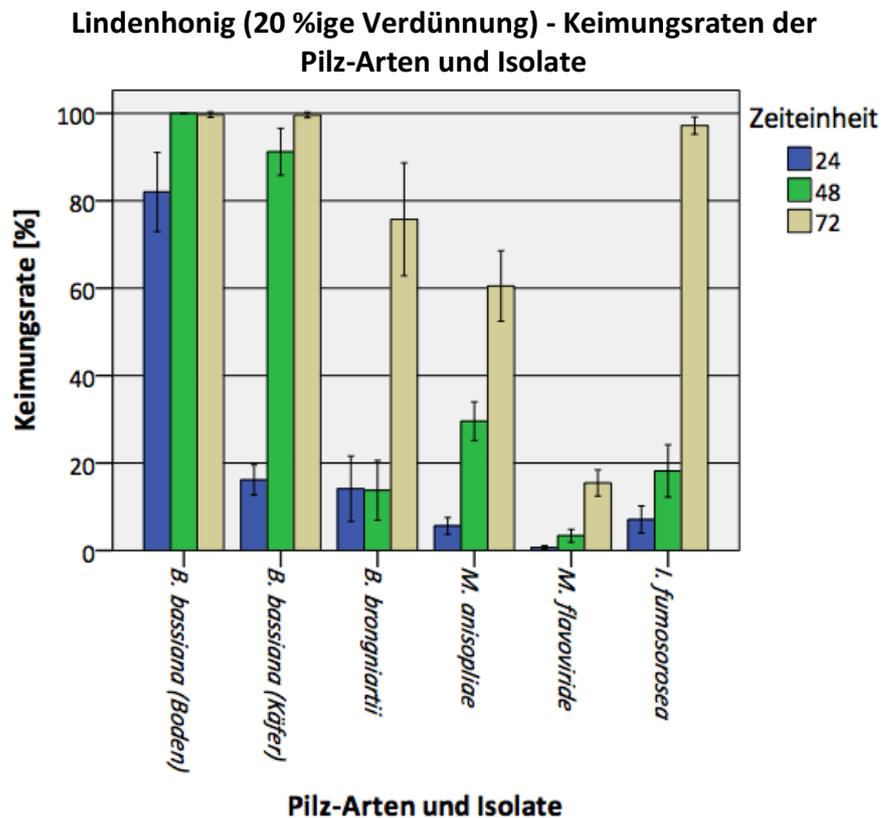


Abb. 56: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig (20 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 50 %ige Verdünnung mit Wasser

Auch bei höherer Verdünnung (50 % Wasser) wurde *M. flavoviride* am meisten gehemmt. Die Keimungsraten steigerten sich mit dem Faktor Zeit kaum und erreichten im Mittel nach 72 h lediglich 12 %. Der Unterschied zu den anderen Pilz-Arten bzw. Isolaten war über den zeitlichen Verlauf höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Interaktionen waren ebenso bei *I. fumosorosea* zu registrieren. Nach 24 h lag die Keimungsrate bei 19 % und war im Vergleich zu den anderen EPP höchst signifikant reduziert (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). Nach 48 h kam es zu gesteigerter Keimung und die Unterschiede zu den anderen Pilz-Arten, mit Ausnahme von *M. flavoviride*, waren nicht mehr signifikant (siehe Abb. 57). *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* verhielten sich ähnlich, die Keimungsraten waren nach 24 h im Vergleich zu *M. flavoviride* und *I. fumosorosea* höchst signifikant erhöht (in allen Fällen

p = 0,0000) und im Vergleich zu *B. bassiana* (Bodenisolat) höchst signifikant gehemmt. Nach 48 h erreichten *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* fast 100 %ige Keimungsraten. Den geringsten Einfluss hatte Lindenhonig (50 % Verdünnung) auf das Bodenisolat von *B. bassiana*. Bereits nach 24 h wurde eine Keimfähigkeit von 97,3 % verzeichnet (siehe Abb. 57 & Anh. Tab. 80 – 82).

Wie oben bereits erwähnt, wurde die Keimfähigkeit von *M. anisopliae* unter Einfluss von Lindenhonig mit 50 %iger Verdünnung nicht getestet, da das Isolat auch bei der Kontrolle sehr geringe Keimungsraten aufwies und der Versuch des Öfteren wiederholt werden musste.

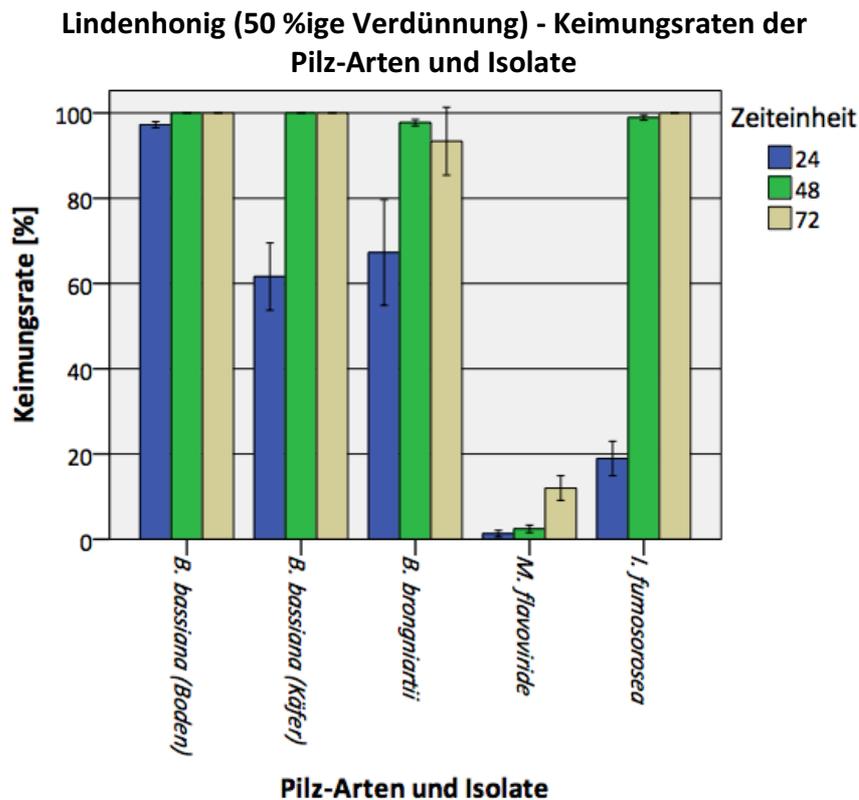


Abb. 57: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig (50 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 3.2.4.4 Akazienhonig

#### 20 %ige Verdünnung mit Wasser

Akazienhonig bei 20 %iger Verdünnung hatte kaum Einfluss auf die Keimung von *B. bassiana* (Bodenisolat). Die Keimungsraten lagen nach 24 h bei 96,9 % und unterschieden sich höchst signifikant von den anderen Pilz-Arten und Isolaten (in allen Fällen p = 0,0000). Bei *B. brongniartii*, *I. fumosorosea* und dem Käferisolat von *B. bassiana*, lagen die Keimungsraten im Bereich von 43 – 61 %. *M. flavoviride* und *M. anisopliae* wurden ähnlich beeinflusst. Nach

24 h wurden Keimungsraten von 19,1 – 20,6 % festgestellt, die im Vergleich zu den anderen Pilz-Arten hoch bis höchst signifikant verringert waren ( $p < 0,00066$  bis  $p = 0,00000$ , siehe Anh. Tab. 83). Nach 48 h zeigten die Keimungsraten von *M. anisopliae* und *M. flavoviride* weiterhin die geringsten Werte. Die Unterschiede zu den anderen EPP waren höchst signifikant (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ) und blieben bei *M. flavoviride* auch nach 72 h mit einer Keimfähigkeit von 73,6 % höchst signifikant gehemmt ( $p < 0,00006$ , siehe Anh. Tab. 85). Außerdem war die Keimung von *B. brongniartii* nach 48 h im Vergleich zu *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) und *I. fumosorosea* hoch bis höchst signifikant verringert ( $p = 0,00017$  bis  $p < 0,0000$ , siehe Anh. Tab. 84), konnte sich nach 72 h aber auf fast 100 % steigern (siehe Abb. 58).

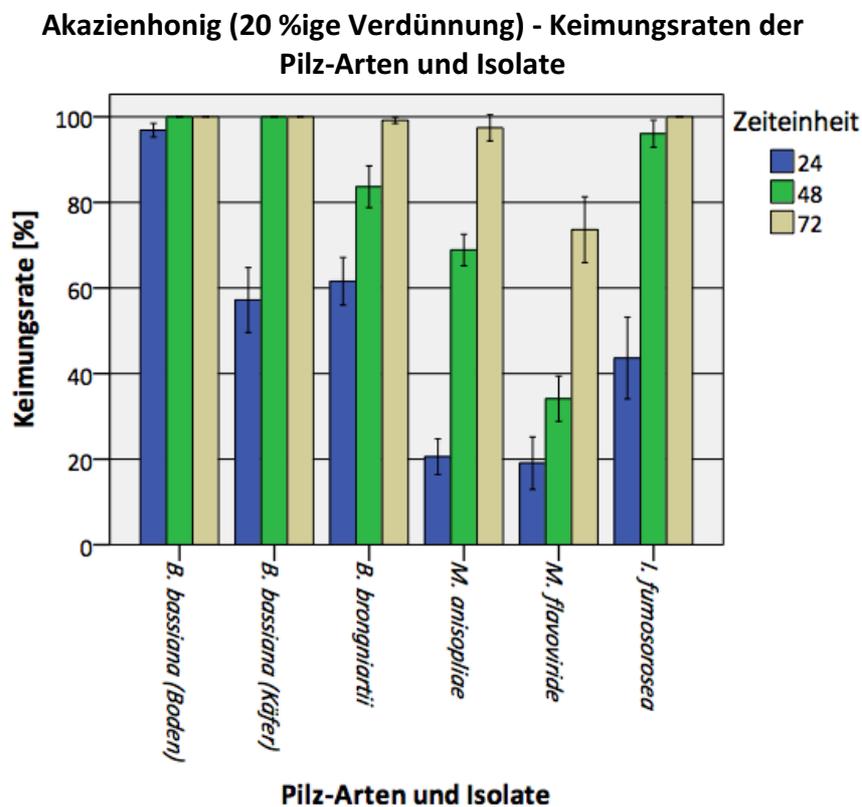


Abb. 58: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Akazienhonig (20 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 50 %ige Verdünnung mit Wasser

Bei Kontakt von *B. bassiana* (Bodenisolat) mit Akazienhonig bei 50 %iger Verdünnung wurde die Keimung kaum beeinflusst. Nach 24 h wurden Keimungsraten von 99 % registriert, diese waren im Vergleich zu den anderen Pilz-Arten und Isolaten höchst signifikant höher (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ). *M. flavoviride* wurde über die gesamte Versuchsdauer am stärksten gehemmt, die Keimungsraten lagen nach 48 h bei 14,4 % konnten sich danach jedoch auf

83,9 % erhöhen. Trotzdem war die Keimfähigkeit im Unterschied zu den anderen Pilz-Arten höchst signifikant verringert ( $p < 0,0001$ , siehe Anh. Tab. 87). Höchst signifikant reduziert waren nach 24 h auch die Keimungsraten von *I. fumosorosea* (in allen Fällen  $p = 0,0000$ ), diese konnten sich aber nach 48 h um über 40 % steigern (siehe Abb. 59 & Anh. Tab. 86 - 88).

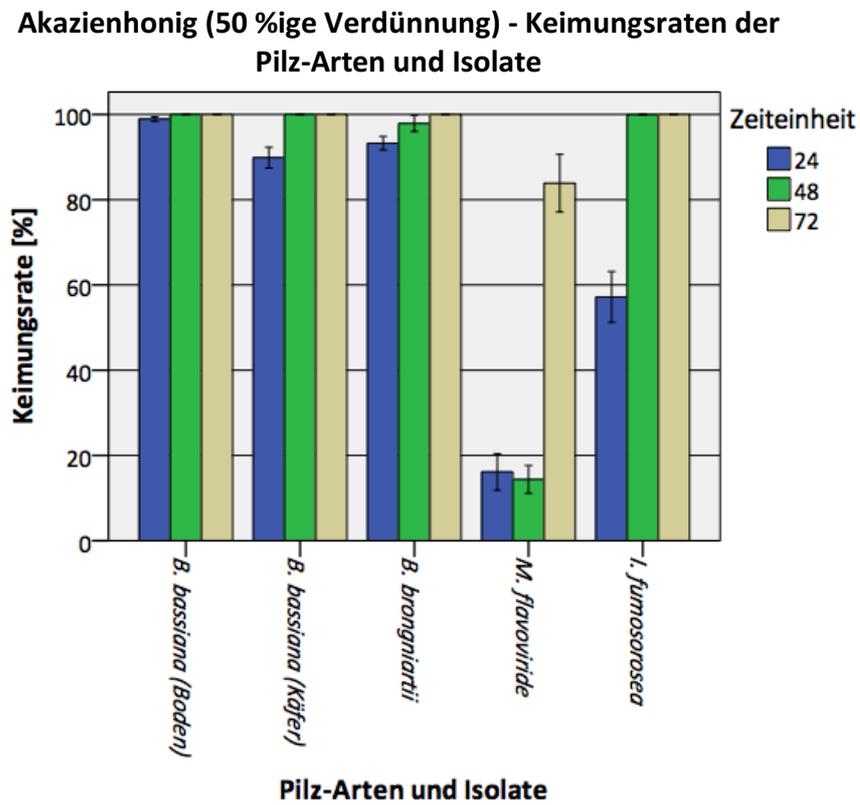


Abb. 59: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Akazienhonig (50 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

### 3.2.5 Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

In diesem Kapitel werden die Einflüsse von **Lindenhonig-Konzentrat (keine Verdünnung)** auf die Keimungsraten von *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat), *B. brongniartii* und *I. fumosorosea* erläutert. Aufgrund der hohen Sporenkonzentration und der Zusammenballung der Konidien, konnten die Keimungsraten nur geschätzt werden. Dadurch konnten keine statistischen Auswertungen und keine Aussagen über signifikante Unterschiede erfolgen.

Zu beachten ist hierbei, dass bei den Versuchen mit *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* frisch angesetzte Isolate verwendet wurden (siehe Kapitel 2 Material und Methoden).

#### 3.2.5.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz, Sporen in wässriger Suspension)

Die Keimungsraten der untersuchten Pilz-Arten und Isolate waren stark schwankend. Bei *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* wurden nach 48 h lediglich 10 – 20 % gekeimte Konidien registriert. Nach 72 h stieg die Anzahl stark an und erreichte in beiden Fällen 100 %. Die Keimungsraten von *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* lagen bereits nach 24 h bei 95 – 100 % (siehe Tab. 60).

Tab. 60: Geschätzte Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>I. fumosorosea</i>
Kontrolle	24	95,0	0,0	10,0	100
	48	100	10,0	20,0	100
	72	100	100	100	100

#### 3.2.5.2 Lindenhonig-Konzentrat

Bei direktem Kontakt mit Lindenhonig waren die Ergebnisse vergleichbar mit jenen der Kontrolle. Die Formulierungen der Konidien von *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* in Lindenhonig-Konzentrat zeigten nach 24 h Keimungsraten von 0 – 5 %. Diese steigerten sich nach 48 h kaum und lagen bei 10 – 20 %. Nach 72 h war keine Inhibition mehr festzustellen, Keimfähigkeiten von 100 % wurden registriert. *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* hingegen wiesen bereits nach 24 h 80 – 95 %ige Keimung auf. Nach 48 h lagen die Werte bei 100 %, es wurden keine inhibierenden Effekte erkannt.

Da es bei allen getesteten Pilz-Arten und Isolaten kaum Unterschiede zur Kontrolle gab, kann die Wirkung des Lindenhonigs bei diesem Versuchsansatz nicht eindeutig bewertet werden (siehe Tab. 61).

Tab. 61: Geschätzte Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig-Konzentrat, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit

Substanz	h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>I. fumosorosea</i>
Lindenhonig-Konzentrat	24	80,0	0,0	5,0	95,0
	48	100	10,0	20,0	100
	72	100	100	100	100

### 3.3 Hemmhofstest – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Im folgenden Kapitel werden die Effekte des jeweiligen Bienenerzeugnisses auf das Wachstum der untersuchten Pilz-Isolate erläutert. Die Gliederung erfolgt pro Testsubstanz nach den Pilz-Isolaten. Aus den vermessenen Hemmhofdurchmessern wurden Mittelwerte errechnet und die reale Menge an Agarplatten mit ersichtlichem Hemmhof und eingeschränktem Wachstum angegeben. Wie oben (siehe Kapitel 2.3 Hemmhofstest) bereits erwähnt wurden pro Pilz-Art und Substanz je 10 Agarplatten angesetzt.

#### 3.3.1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Das Bodenisolat von *Beauveria bassiana* zeigte ein unregelmäßiges und schwaches Wachstum. Erst nach zwei Wochen waren 8 Agarplatten dicht bewachsen, die anderen 2 Platten wiesen nach 3 Wochen verstärktes Myzelwachstum auf. Bei *B. bassiana* – Käferisolat hingegen war kaum Pilzwachstum zu sehen. Erst nach über einem Monat begann der Pilz mit vermehrter Myzelbildung. Wobei bei 6 Platten das Wachstum bis zum Abbruch des Versuches (60 Tage) gering blieb. Dadurch war es schwierig bei den anderen Testsubstanzen einen hemmenden Einfluss festzustellen.

*Beauveria brongniartii* färbte den Agar nach drei Tagen rot und zeigte nach sechs Tagen, bei 8 Platten starkes Wachstum.

Bei *Metarhizium anisopliae* (9 Platten) und *M. flavoviride* (6 Platten) konnte bereits nach 72 h Myzelwachstum beobachtet werden. 4 Platten des Versuchs mit *M. flavoviride* und eine Platte mit *M. anisopliae* konnten auch nach einem Monat kaum Wachstum aufweisen.

Das Pilz-Isolat mit dem schnellsten und regelmäßigsten Wachstum war *I. fumosorosea*. Bereits nach 48 h waren alle 10 Agarplatten auf der gesamten Fläche mit weißem Myzel bewachsen.

#### 3.3.2 Propolis

##### 3.3.2.1 *B. bassiana* – Bodenisolat

Das Pilzwachstum war sehr unregelmäßig und schwach ausgeprägt. Nach drei Tagen zeigten sich bei 5 Platten Hemmhöfe, mit maximal 0,9 mm Durchmesser. Durch vermehrtes Myzelwachstum wurden die Hemmungen besser ersichtlich. Bei 3 Platten waren nach 14 Tagen Hemmhöfe von minimal 0 mm bis maximal 5 mm zu sehen, ebenso wiesen 6 der Agarplatten auf der gesamten Fläche eingeschränktes Wachstum auf. Der Durchmesser der Hemmhöfe

wurde mit der Zeit zwar etwas kleiner war jedoch bei allen 3 Platten nach 60 Tagen noch vorhanden und somit irreversibel (siehe Tab. 62).

Tab. 62: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis (W = normales Wachstum)

Propolis			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	5	W	0,5	0,0	0,9
10	4	W	1,3	0,0	2,6
14	3	6	2,5	0,0	5,0
17	3	1	3,4	0,0	6,8
21	3	W	2,9	1,1	4,7
60	3	W	2,9	1,1	4,7

### 3.3.2.2 *B. bassiana* – Käferisolat

Der Pilz bildete wie auch bei der Kontrolle kaum Myzel aus. 5 Platten zeigten nach drei Tagen eine Hemmhofbildung die von 0 – 3 mm reichte. Der Durchmesser erreichte nach 14 Tagen ein Maximum von 4,1 mm und war bei 3 Platten irreversibel. Wobei zu beachten ist, dass das Wachstum auf der gesamten Platte kaum zunahm (siehe Tab. 63). Bei den anderen 2 Platten fing der Pilz nach 30 Tagen an vom Boden der Platte durch den Agar Richtung Propolis-Plättchen zu wachsen. 2 Agarplatten wiesen vermehrt Kondenswasser auf, Kontaminationen wurden nicht festgestellt.

Tab. 63: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis (W = normales Wachstum)

Propolis			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	5	W	1,5	0,0	3,0
7	5	7	1,6	0,0	3,2
14	5	7	2,1	0,0	4,1
30	3	4	2,1	0,0	4,1
60	3	4	2,1	0,0	4,1

### 3.3.2.3 *B. brongniartii*

Nach drei Tagen war kaum Pilzwachstum zu erkennen, aber eine Rotfärbung des SDA bei 4 Platten. Sieben Tage später wurden bei den eingefärbten 4 Platten Hemmhöfe von minimal 0 mm bis maximal 4,1 mm gemessen und bei insgesamt 7 Agarplatten auf dem gesamten Medium gehemmtes Wachstum beobachtet (siehe Abb. 60). Bei 2 Agarplatten verringerte sich der Durchmesser auf maximal 2,1 mm war jedoch irreversibel (siehe Tab. 64).

Tab. 64: Wachstumseinschränkung von *B. brongniartii* unter Einfluss von Propolis (W = normales Wachstum)

Propolis			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	0	W	0,0	0,0	0,0
10	4	7	2,1	0,0	4,1
14	3	6	2,1	0,0	4,1
30	2	3	1,5	0,0	2,9
41	2	1	1,1	0,0	2,1



Abb. 60: *B. brongniartii* unter Einfluss von Propolis, nach 41 Tagen

### 3.3.2.4 *M. anisopliae*

Propolis zeigte nur geringen Einfluss auf das Pilzwachstum von *M. anisopliae*. Nach drei Tagen waren alle 10 Agarplatten regelmäßig mit Pilz bewachsen. Nahe den Applikationsplättchen kam es jedoch nicht zur Dunkelfärbung der Konidien. Kontaminanten rund um das Propolis-Plättchen konnten bei einer Platte nach drei Wochen beobachtet werden (ev. *Penicillium sp.*).

### 3.3.2.5 *M. flavoviride*

Wie auch bei der Kontrolle war das Wachstum nach sieben Tagen unregelmäßig. 5 Platten zeigten gehemmte Myzelbildung, die bei 2 Platten bis Versuchsabbruch zu erkennen war. Nach 17 Tagen waren bei 3 Agarplatten bis zu 6,5 mm große Hemmhöfe zu sehen. Diese waren jedoch reversibel, direkt beim Plättchen kam es zu verstärktem Myzelwachstum (siehe Tab. 65). Der Hemmhof wuchs vom Plättchen ausgehend wieder zu (siehe Abb. 61). Bei einer Agarplatte wurde nach drei Wochen direkt auf dem Propolis eine Kontamination (ev. *Penicillium sp.*) festgestellt.

Tab. 65: Wachstumseinschränkung von *M. flavoviride* unter Einfluss von Propolis

Propolis			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	1	5	0,5	0,0	1,0
7	1	5	2,3	0,0	4,6
17	3	5	3,3	0,0	6,5
30	1	2	3,5	0,0	7,0
37	0	2	0,0	0,0	0,0

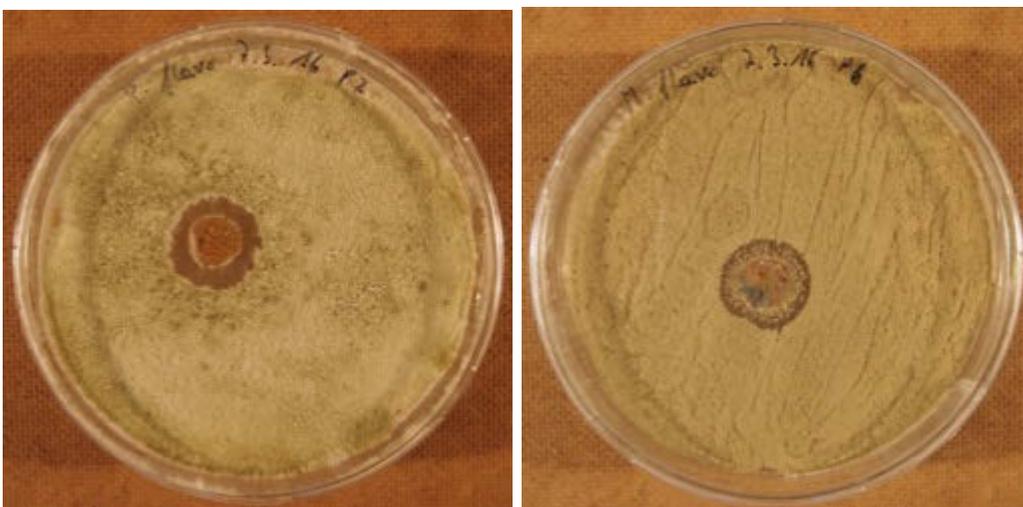


Abb. 61: *M. flavoviride* unter Einfluss von Propolis, Hemmhöfe beginnen nach 21 Tagen zuzuwachsen

### 3.3.2.6 *I. fumosorosea*

Bei 5 Agarplatten konnten nach 72 h Hemmhöfe von 0 – 1,7 mm vermessen werden. Diese waren nach sieben Tagen nicht mehr sichtbar und das Wachstum in keiner Weise gehemmt.

### 3.3.3 Gelée Royale

#### 3.3.3.1 *B. bassiana* – Bodenisolat

Das Wachstum von *B. bassiana* war am dritten Tag bei 7 Agarplatten bis zu 3,5 mm vom Applikationsplättchen nicht erkennbar. Sieben Tage später wurden nur noch bei 2 Agarplatten Hemmhöfe vermerkt, jedoch war im Vergleich zur Kontrolle bei 9 Platten eine stärkere Wachstumshemmung gegeben. Durch das schlechte Wachstum des Pilzes waren erst nach 16 Tagen hemmende Einflüsse die von 2 – 3,9 mm reichten sichtbar. Bei der nächsten Kontrolle konnte diese Wirkung nicht mehr wahrgenommen werden (siehe Tab. 66).

Tab. 66: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale (W = normales Wachstum)

Gelée Royale			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	7	W	1,8	0,0	3,5
10	2	9	0,3	0,0	0,5
16	0	5	3,0	2,0	3,9
20	0	W	0,0	0,0	0,0

#### 3.3.3.2 *B. bassiana* – Käferisolat

Die Behandlung mit Gelée Royale führte zu eingeschränktem Wachstum. Alle 10 Agarplatten wiesen nach drei Tagen einen Hemmhof von 0 – 4,2 mm auf. Wie auch bei der Kontrolle war das Myzelwachstum gering. Auch nach 60 Tagen wurden irreversible Hemmhöfe von minimal 1 mm und maximal 3,6 mm bei 4 Agarplatten festgestellt. Diese Platten wiesen ein verringertes Wachstum auf der gesamten Fläche auf (siehe Tab. 67 & Abb. 62).

Tab. 67: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale

Gelée Royale			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	10	8	2,1	0,0	4,2
7	8	8	2,0	0,0	4,0
14	6	7	2,0	0,0	4,0
30	6	7	2,8	1,0	4,6
60	4	4	2,3	1,0	3,6



Abb. 62: *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royal, nach 60 Tagen

### 3.3.3.3 *B. brongniartii*

Hemmhöfe im Durchmesser von 0 – 4 mm waren bei 4 Agarplatten nach drei Tagen zu sehen. Bereits nach sieben Tagen wurde das Wachstum um das Plättchen verstärkt, jedoch blieb die Myzelbildung bei den 4 Platten eingeschränkt.

### 3.3.3.4 *M. anisopliae*

Bei 6 Agarplatten wurden nach drei Tagen Hemmhöfe von minimal 0 mm bis maximal 3 mm gemessen und bei allen ein reduziertes Pilzwachstum festgestellt. Nach zwei Wochen wurden bei 3 Petrischalen bis zu 4,2 mm große Hemmhöfe registriert, das Wachstum blieb jedoch bei 9 Platten gehemmt. Die Wirkung von Gelée Royale war allerdings reversibel, nach 21 Tagen wurden bei allen 10 Agarplatten dunkel gefärbte Konidien sichtbar (siehe Tab. 68).

Tab. 68: Wachstumseinschränkung von *M. anisopliae* unter Einfluss von Gelée Royale (W = normales Wachstum)

Gelée Royale			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	6	10	1,5	0,0	3,0
7	3	9	1,5	0,0	3,0
14	3	9	2,1	0,0	4,2
17	3	9	2,1	0,0	4,2
21	0	W	0,0	0,0	0,0

### 3.3.3.5 *M. flavoviride* und *I. fumosorosea*

Obwohl nach drei Tagen 6 (*M. flavoviride*) bzw. 9 (*I. fumosorosea*) Agarplatten kleine Hemmhöfe (0,6 bzw. 1,3 mm) um das Applikationsplättchen gezeigt haben, war dies nur von kurzer Dauer. Nach sieben Tagen war der SDA bei beiden Pilz-Arten gleichmäßig von weißem Myzel bewachsen.

### 3.3.4 Lindenhonig

#### 3.3.4.1 *B. bassiana* – Bodenisolat

Hemmhöfe waren vor allem in den ersten Tagen zu registrieren. Nach drei Tagen wurden bei 6 Agarplatten Hemmhöfe mit einem Durchmesser von 0 – 2,2 mm gemessen. Die Wirkung des Lindenhonigs wurde mit der Zeit geringer und vermehrtes Pilzwachstum war zu verzeichnen. Zwei Wochen nach Versuchsansatz wurde nur noch bei einer Platte ein Hemmhof von maximal 1,2 mm und bei 2 Agarplatten reduziertes Wachstum festgestellt. Die Inhibition war reversibel (siehe Tab. 69).

Tab. 69: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (W = normales Wachstum)

Lindenhonig			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum (%)	MW	Min	Max
3	6	W	1,1	0,0	2,2
10	4	6	0,9	0,0	1,8
14	1	2	0,6	0,0	1,2
17	0	W	0,0	0,0	0,0

#### 3.3.4.2 *B. bassiana* – Käferisolat

Bei der ersten Kontrolle, nach 72 h wurden bei 6 Agarplatten Hemmhöfe von minimal 0 mm bis maximal 1,4 mm beobachtet. Nach sieben Tagen zeigte sich neben den Hemmhöfen bei 7 Platten eingeschränktes Wachstum auf der gesamten Agarfläche. Die Hemmhöfe begannen nach 14 Tagen zuzuwachsen, lediglich bei einer Agarplatte blieb die Hemmung bestehen. Das Wachstum war bei 7 Platten auch nach 30 Tagen stark gehemmt. Die Myzelbildung setzte nach 45 Tagen verstärkt ein und somit war nur bei einer Agarplatte das Wachstum weiterhin gehemmt (siehe Tab. 70).

Tab. 70: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (W = normales Wachstum)

Lindenhonig			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	6	W	0,7	0,0	1,4
7	7	7	0,7	0,0	1,4
14	1	7	0,6	0,0	1,1
20	1	7	0,7	0,0	1,3
30	1	7	0,0	0,0	0,0
45	0	1	0,0	0,0	0,0

### 3.3.4.3 *B. brongniartii*

Der Einfluss von Lindenhonig auf das Wachstum von *B. brongniartii* war gering. Nach drei Tagen wurden bei 3 Agarplatten 0 – 0,9 mm große Hemmhöfe gemessen, sieben Tage später nur noch bei einer Platte. Eine irreversible Wachstumshemmung wurde bei einer Agarplatte festgestellt.

### 3.3.4.4 *M. anisopliae*

Bei *M. anisopliae* wurden bei 8 Platten Hemmhöfe von minimal 0 mm bis maximal 1,2 mm verzeichnet. Dieser Effekt wurde nach sieben Tagen nur noch bei einer Agarplatte registriert und war reversibel. Eine Platte wies bis zum Versuchsende Wachstumseinschränkungen auf (siehe Abb. 63).

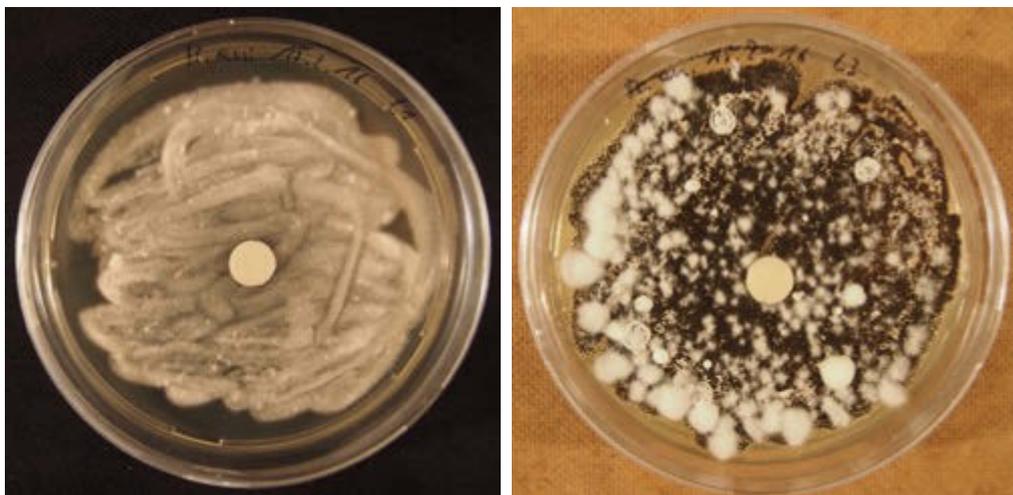


Abb. 63: *M. anisopliae* unter Einfluss von Lindenhonig, mit eingeschränktem Wachstum (links) und ohne Wachstumshemmung (rechts), nach 21 Tagen

### 3.3.4.5 *M. flavoviride*

Es waren keine klaren Hemmhöfe ersichtlich, jedoch konnte nach drei Tagen bei 5 Agarplatten langsames Wachstum festgestellt werden. Die eingeschränkte Myzelbildung war nach 10 Tagen bei 3 Agarplatten zu erkennen, jedoch reversibel. Bei einer Platte wurde direkt beim Applikationsplättchen eine Kontamination (ev. *Penicillium sp.*) festgestellt.

### 3.3.4.6 *I. fumosorosea*

8 Agarplatten wiesen nach drei Tagen Hemmhöfe von minimal 0,7 mm bis maximal 1,5 mm auf. Bei der nächsten Kontrolle war kein hemmender oder stimulierender Effekt mehr zu registrieren. Der gesamte SDA war gleichmäßig von weißem Myzel bewachsen.

## 3.3.5 Akazienhonig

### 3.3.5.1 *B. bassiana* – Bodenisolat

Hemmhöfe waren vor allem in den ersten 10 Tagen sichtbar. Nach drei Tagen wurden bei 2 Agarplatten Hemmhöfe mit minimal 0 mm bis maximal 1,5 mm festgestellt. Diese waren nach 14 Tagen nicht mehr zu erkennen, jedoch war das Wachstum bei 5 Platten auf dem gesamten SDA gehemmt (siehe Abb. 64). Die Myzelbildung stieg danach stark an, somit war nach 30 Tagen nur eine Platte in ihrem Wachstum gehemmt (siehe Tab. 71). Kontaminationen (Hefepilze und ev. *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*) wurden bei einer Agarplatte am und um den aufgetragenen Akazienhonig registriert. Ebenso konnte verstärkte Kondenswasserbildung bei einer Platte festgestellt werden.

Tab. 71: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Akazienhonig (W = normales Wachstum)

Akazienhonig			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	2	W	0,8	0,0	1,5
10	3	7	1,1	0,0	2,2
14	0	5	0,0	0,0	0,0
30	0	1	0,0	0,0	0,0



Abb. 64: *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Akazienhonig, nach 14 Tagen

### 3.3.5.2 *B. bassiana* – Käferisolat

*B. bassiana* zeigte auch beim Versuch mit Akazienhonig schlechtes Wachstum. Nach 10 Tagen wurde bei 9 Agarplatten eingeschränkte Myzelbildung und bei 2 Platten 0,5 mm große Hemmhöfe beobachtet. Die Hemmhöfe waren reversibel, jedoch war nach 30 Tagen das Pilzwachstum weiterhin reduziert. Die Wachstumshemmung beschränkte sich nach 60 Tagen auf lediglich eine Platte und war somit reversibel (siehe Tab. 72). Bei 7 Agarplatten wurden nahe des Filterplättchens Hefepilze identifiziert, außerdem wurde bei einer Agarplatte eine Kontamination (ev. *Aspergillus sp.*) am Rand der Platte festgestellt.

Tab. 72: Wachstumseinschränkung von *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Akazienhonig (W = normales Wachstum)

Akazienhonig			Hemmhofdurchmesser (mm)		
Tag	Hemmhof	Eingeschränktes Wachstum	MW	Min	Max
3	0	W	0,0	0,0	0,0
10	2	9	0,5	0,2	0,7
14	1	9	0,2	0,0	0,3
30	0	8	0,0	0,0	0,0
60	0	1	0,0	0,0	0,0

### 3.3.5.3 *B. brongniartii*

Das Wachstum wurde durch Behandlung mit Akazienhonig nicht beeinflusst. Kontaminationen (ev. *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*) auf dem Applikationsplättchen konnten bei 3 Agarplatten registriert werden.

### 3.3.5.4 *M. anisopliae* und *M. flavoviride*

Beide Pilz-Arten zeigten keine Hemmhofbildung bei Kontakt mit Akazienhonig, jedoch wurde eine reversible Einschränkung des Wachstums auf der gesamten Agarfläche festgestellt. Bei *M. anisopliae* wiesen 2 Platten bis zu 20 Tage verringerte Myzelbildung auf. Bei *M. flavoviride* wurde bis zu zwei Wochen bei 2 Agarplatten reduziertes Wachstum registriert.

3 bzw. 5 Platten der beiden Pilz-Arten waren durch Hefepilze und andere Pilz-Arten (ev. *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*) kontaminiert. Die Kontaminationen traten am und um das Applikationsplättchen auf

### 3.3.5.5 *I. fumosorosea*

Das Pilzwachstum wurde kaum beeinträchtigt. Nach drei Tagen wurde lediglich bei einer Agarplatte ein Hemmhof von durchschnittlich 0,4 mm gemessen. Bei der nächsten Kontrolle war keine negative Wirkung auf das Wachstum mehr zu erkennen.

## 3.4 Hemmhoftest - Vergleich Bienenerzeugnisse und der Kontrolle

Den geringsten Einfluss hatten Propolis, Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig auf das Wachstum von *I. fumosorosea*. Trotz Hemmhofbildung nach drei Tagen, war nach einer Woche bei keiner der Versuchsvarianten eine Wachstumseinschränkung ersichtlich.

Ebenso zeigten *M. anisopliae*, *M. flavoviride* und *B. brongniartii*, nur geringe Wachstumshemmungen. Lediglich bei Applikation von Gelée Royale wurde bei 9 Agarplatten, über zwei Wochen die Myzelbildung von *M. anisopliae* auf der gesamten Platte beeinträchtigt. Das Wachstum von *M. flavoviride* wurde vor allem durch Propolis gehemmt. Allerdings wies auch die Kontrollvariante bei 4 Platten verringertes Wachstum auf. Hemmhofbildung und eingeschränktes Wachstum zeigten sich auch bei *B. brongniartii* durch den Einfluss von Propolis, der Effekt war nach 10 Tagen am stärksten zu sehen, nahm aber mit der Versuchsdauer ab.

Das Wachstum der beiden *B. bassiana*-Isolate (Boden- und Käferisolat) wurde von allen Testsubstanzen am stärksten eingeschränkt. Jedoch ist zu beachten, dass es auch bei der Kontrolle erst verspätet (2 Wochen bis einen Monat nach Versuchsbeginn) zu regelmäßiger Myzelbildung kam.

## 4 Diskussion

Einleitend ist zu erwähnen, dass es in Hinblick auf die Keimung und das Wachstum je nach Pilz-Art und Isolat bei der Kontrolle zu unterschiedlichen Ergebnissen kam und diese beim Vergleich mit den Bienenerzeugnissen bedacht werden müssen. Darum wird zuerst auf die Ergebnisse der Kontrollvarianten bei den verschiedenen Keimungs- und Hemmhoftests eingegangen. Danach werden die Untersuchungsergebnisse der Interaktionen zwischen EPP und den Testsubstanzen Propolis, Gelée Royale, Linden- und Akazienhonig erläutert. Abschließend wird die Problematik des Eintrags von EPP in den Bienenstock ganzheitlich betrachtet.

Die Bodenisolat von *B. bassiana* wiesen bei allen Applikationsmethoden gute Keimfähigkeiten auf. Das Wachstum war hingegen bis zu 14 Tage nach Versuchsbeginn stark gehemmt. Das Käferisolat von *B. bassiana* keimte unterschiedlich stark, die Variante mit dem Filterplättchen zeigte mit 97 % die höchste Keimungsrate. Beim Versuch „Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat“ lag die Keimfähigkeit von *B. bassiana* (Käferisolat) bei der Kontrolle nach 24 h bei 0 %, konnte sich nach 72 h aber auf 100 % steigern. Gründe für die schlechte Keimung nach 24 h werden auf der folgenden Seite erläutert (Isolat, Formulierungshilfsstoffe,...?). Trotz der 100 %igen Keimung nach 72 h bei den unterschiedlichen Keimungstests war das Wachstum bei 6 Platten bis zum Abbruch des Versuches (60 Tage) stark reduziert. Grund dafür könnte der mangelnde Gasaustausch sein, da die Petrischalen keine Belüftungsnocken hatten und fest mit Parafilm verschlossen waren. Garza-López et al. (2012) beschreiben den negativen Einfluss auf die Keimung von *B. bassiana* Konidien bei Sauerstoffmangel (16 % O<sub>2</sub>). Oxidativer Stress und damit verbunden eine schlechtere Keimfähigkeit konnte ebenso bei 26 % O<sub>2</sub> nachgewiesen werden. Da *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) nur geringes Myzelwachstum aufwies, könnte der niedrige Sauerstoffgehalt eventuell auch neben der Keimung auch das Wachstum gehemmt haben. Zu beachten ist, dass die Reaktion auf die unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen für jedes Pilz-Isolat inhärent ist (Garza-López et al., 2012). So konnten zum Beispiel Garcia-Ortiz et al. (2015) bei *M. anisopliae* var. *lepidiotum* bei 26 und 30 %igem O<sub>2</sub>-Gehalt, im Vergleich zu niedrigerer (16 % O<sub>2</sub>) und normaler (21 % O<sub>2</sub>) Sauerstoffkonzentration eine erhöhte Konidien-Produktion und Virulenz beobachten.

Bei den Wachstumstests der anderen Pilz-Arten wurde auf regelmäßige Luftzufuhr (ab 72 h, 2x/Woche) geachtet (siehe Kapitel 2.3 Hemmhoftest). Bei *B. brongniartii* waren 8 Agarplatten nach einer Woche mit Myzel bewachsen und der SDA rot gefärbt, was für diese Pilz-Art als typisch bekannt ist (Strasser et al., 2000). *M. anisopliae*, *M. flavoviride* (60 % der Platten) und *I. fumosorosea* hatten nach 48 bis 72 h bereits vermehrt weißes Myzel gebildet. Trotz des starken Wachstums waren die Keimungsraten von *M. anisopliae* im Vergleich zu den anderen Pilzen signifikant verringert. Bei der Kontrollvariante von *B. brongniartii* zeigten sich nach 24 h Keimungsraten von unter 10 % beim Versuch „Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat“ und bis zu 98 % beim Plättchen-Diffusionstest. Beim Versuch „Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat“ wurden auch bei *B. bassiana* (Käferisolat) geringe Keimungsraten festgestellt. Der Versuch „Formulierung der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat“ wurde einen Monat später wiederholt, um den Verdacht auf zu geringe Keimfähigkeit verwerfen zu können, die Werte waren jedoch unverändert.

Unabhängig von der Sporenkonzentration kann eine zu hohe Konzentration an Tween 80 (> 0,1 %) bei Isolaten von *B. bassiana* zu Keimhemmungen führen (Mwamburi et al., 2015), was eine Erklärung für die geringen Keimraten in den Kontrollen sein könnte. Die hergestellte Menge an Sporensuspension war nicht bei jedem Versuch ident und auch die Beigabe an Tween 80 wurde nicht genau ermittelt. Weitere Gründe für die niedrigen Keimungsraten und die Schwankungen der Keimfähigkeit bei den Kontrollversuchen innerhalb einer Pilz-Art könnten zeitlich versetzte Versuchsansätze und die Verwendung von Pilz-Isolaten aus unterschiedlichen Agarplatten sein. Hall et al. (1994, zit. in Le Grand & Cliquet, 2013) beobachteten, dass Konidien von *M. anisopliae*, *I. fumosorosea* und *Lecanicillium spp.* schlechtere Keimungsraten aufwiesen, wenn sie von älteren Kulturen (3 – 4 Tage alt) stammten. Ebenso zeigt sich bei Konidien von *B. bassiana* ein signifikanter Einfluss des Alters der Kultur auf die Keimfähigkeit (Le Grand & Cliquet, 2013). Rajanikanth et al. (2011, zit. in Le Grand & Cliquet, 2013) beschreiben eine höhere Virulenz von *B. bassiana*-Isolaten bei 14 Tage alten im Vergleich zu 7, 21 und 28 Tage alten Kulturen. Viele Studien belegen zudem, dass die Umweltbedingungen und die Nährstoffverfügbarkeit während des Pilzwachstums Auswirkungen auf die Keimung, Virulenz und die Toleranz der Konidien gegenüber Umweltstressoren haben können (Hallsworth & Magan, 1995 zit. in Le Grand & Cliquet, 2013; Cliquet & Jackson, 2005; Jackson & Jaronski, 2009).

## 4.1 Hat Propolis Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate?

Die keimhemmende Wirkung von Propolis war bei allen Pilz-Arten bzw. Isolaten zu erkennen. Die Interaktionen beschränkten sich jedoch auf den Bereich in unmittelbarer Nähe zum Propolis-Plättchen. *I. fumosorosea* wurde mit einer Keimungsrate von 6,3 % nach 24 h am stärksten beeinflusst. Auch auf *B. brongniartii* und *M. anisopliae* hatte die Testsubstanz starke reduzierende Wirkung. Obwohl die Keimfähigkeit von *I. fumosorosea* und *M. anisopliae* über die gesamte Entfernung zur Applikationsstelle eingeschränkt war, wurden keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle festgestellt. Die beiden *B. bassiana* – Isolate und *M. flavoviride* wurden am geringsten beeinflusst.

Wenngleich *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) kaum Keimhemmungen zeigte, waren bei den Hemmhoftests über die gesamte Versuchsdauer von 60 Tagen bei 3 Agarplatten Hemmhöfe zu sehen und nach 14 Tagen das Wachstum bei 5 Platten stark reduziert. Schwaches Wachstum wurde aber auch bei den Kontrollen bemerkt (siehe S. 108). Auch *M. flavoviride* wies trotz der guten Keimung nach 17 Tagen Hemmhöfe von maximal 6,5 mm auf. Die Hemmhöfe fingen vom Propolis-Plättchen ausgehend an zuzuwachsen. Die Keimfähigkeit von *I. fumosorosea* und *M. anisopliae* wurde zwar am stärksten gehemmt, jedoch wurde bei den Hemmhoftests kaum ein Einfluss registriert. Die typische Rotfärbung des Agars durch *B. brongniartii* war nach drei Tagen nur bei 4 Platten zu sehen. Gehemmtes Wachstum beim Großteil der Agarplatten und Hemmhöfe von 4,1 mm, die zum Teil irreversibel waren wurden registriert.

*M. anisopliae* und *M. flavoviride* wiesen auf jeweils einer Platte Kontaminationen (ev. *Penicillium sp.*) auf. Eine Verunreinigung des Propolis beim Formen der Plättchen mit den Händen (mit Einweghandschuhen) kann nicht ausgeschlossen werden. *Cladosporium*, *Aspergillus* und *Penicillium* Arten werden häufig in Bienenstöcken diagnostiziert. Sie können die Anfälligkeit des Bienenvolkes gegenüber anderen Pathogenen und Schadorganismen fördern (Keller et al., 2014).

Die Unterschiede zwischen Keimungstest und Hemmhoftest lassen sich zum Teil durch die Beschaffenheit des Propolis erklären. Die Testsubstanz besteht aus vielen verschiedenen Komponenten. Studien zeigen, dass Propolis aufgrund seiner Inhaltsstoffe antimikrobielle, antioxidative, antifungale, antiparasitische und antivirale Eigenschaften aufweist. Diese Wirkungen sind primär den verschiedenen Flavonoiden, den Zimtsäuren und deren Estern

zuzuordnen (Ristivojević et al., 2015). Flavonoide sind pflanzlichen Ursprungs und somit die Anreicherung im Propolis je nach Pflanzenquelle und Jahreszeit unterschiedlich (Burdock, 1998). Daher enthalten vermutlich auch der verwendete Propolis und die daraus geformten Plättchen unterschiedliche Flavonoide und Konzentrationen dieser Verbindungen. Zusätzlich wurde der Propolis wie oben bereits erwähnt vom IBZ-Bienenhof, Bienen- und Naturproduktehandels GmbH bereitgestellt, dort wird der Propolis von verschiedenen Imkern gelagert und ist somit kein einheitliches Produkt.

Die antibakterielle Aktivität ist laut Huang et al. (2014) außerdem von der Bienenrasse abhängig. So weist zum Beispiel Propolis von *A. mellifera carnica* im Vergleich zu *A. mellifera anatolica* und *A. mellifera caucasica* den schwächsten antibakteriellen Effekt auf.

## **4.2 Hat Gelée Royale Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate?**

Gelée Royale (20 %ige Verdünnung) hatte von den getesteten Bienenerzeugnissen den größten Einfluss auf die Keimung der verschiedenen Pilz-Arten. Die Plättchen-Diffusionstests ergaben bei den Versuchen mit *M. anisopliae*, *M. flavoviride* und *I. fumosorosea* nach 24 h, bei 0 mm Entfernung Keimungsraten von 0,2 – 9 %. Der geringste Anstieg mit dem Faktor Zeit zeigte sich bei *I. fumosorosea*, mit etwa 3 % nach 72 h. Signifikant verringerte Keimfähigkeit im Vergleich zu den Kontrollgruppen wiesen auch die Isolate von *B. bassiana* und *B. brongniartii* auf. Die Anzahl der gekeimten Sporen war hierbei jedoch höher. Hemmender Einfluss über die Distanz (5 mm) war nur bei einigen Pilzen zu erkennen, was auf eine geringe Diffusion des Gelée Royale in das Medium vermuten lässt. Bei den Wachstumstests konnte wiederum reduzierte Myzelbildung auf der gesamten Agarplatte registriert werden, wodurch eine Diffusion in den Agar durchaus möglich wäre und eventuell mit der Menge an Kondenswasser in Verbindung gebracht werden könnte. Die Keimungsraten bei der Formulierung der Sporen in Gelée Royale ergaben einheitliche Werte von 0 – 1,2 %. Lediglich *M. anisopliae* konnte mit fortschreitender Versuchsdauer die Keimfähigkeit signifikant steigern. Trotzdem lag die Keimungsrate auch nach 72 h noch höchst signifikant unter jener der Kontrolle.

Antifungale Aktivität geht laut Bilikova et al. (2001) von Royalisin aus, einem Protein im Gelée Royale. Das Wachstum von *Botrytis cinerea* konnte ab einer Proteinkonzentration von 27 µg/ml gehemmt werden. Ebenso wurde inhibierender Einfluss auf das Wachstum einiger

gram-positiver Bakterien, wie *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* und *Paenibacillus larvae*, dem Erreger der Amerikanische Faulbrut, durch das Protein Royalisin festgestellt (Bilikova et al., 2001). Bonheví & Jordá (1991, zit. in Bilikova et al., 2001) beschreiben zusätzlich eine antibakterielle Wirkung durch die 10-hydroxy-trans-2-decensäure, einer Komponente des Gelée Royale. Außerdem wird den kurzen Peptiden Jellein I - III antimikrobielle Aktivität durch Zytolyse nachgesagt. Untersuchungen mit Hefepilzen, gram-positiven und gram-negativen Bakterien bestätigten den Effekt (Fontana et al., 2004). Den Peptiden Apisimin und Apalbumin werden ebenso antimikrobielle Eigenschaften zugesprochen (Bărnețiu et al., 2011). Bisherige Studien beziehen sich meist auf die Wirksamkeit von Gelée Royale in Bezug auf das Wachstum von Bakterien und in der Humanmedizin bedeutenden Pilzen. Weitere Forschung im Bereich der keim- und wachstumshemmenden Effekte von Gelée Royale bei Einsatz von EPP wären notwendig.

Die durchgeführten Hemmhofstests mit den Pilzen *B. bassiana* (Bodenisolat) und *M. anisopliae* zeigten reversible und im Falle von *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* irreversible Wachstumshemmungen auf der gesamten Agarfläche, was eventuell auf eine Diffusion des Gelée Royale in das Medium zurückzuführen ist. Genauere Untersuchungen in Hinblick auf die Diffusion wurden jedoch nicht durchgeführt. Bei *M. flavoviride* und *I. fumosorosea* wurden keine Wachstumseinschränkungen registriert. Jedoch wurden bei allen verwendeten Pilz-Arten und Isolaten, teilweise auch nur über die Dauer von drei Tagen, Hemmhöfe mit bis zu 4,6 mm Durchmesser ausgebildet. Diese waren reversibel, mit Ausnahme von *B. bassiana*-Käferisolat, wobei wieder das schlechte Wachstum bei der Kontrollvariante berücksichtigt werden muss (siehe S. 108). Grund für die unterschiedlichen Auswirkungen von Gelée Royale auf die verschiedenen Pilz-Arten und Isolate könnten wie oben bereits erwähnt Umweltbedingungen und die Nährstoffverfügbarkeit während des Pilzwachstums haben. (Hallsworth & Magan, 1995 zit. in & Cliquet, 2013; Cliquet & Jackson, 2005; Jackson & Jaronski, 2009). Die Isolate stammen aus den Sammlungen von R. Wegensteiner und C. Tkaczuk. Aufgrund dessen wurden für die Herstellung der Sporensuspension Pilzplatten verwendet, welche vorher unter unterschiedlichen Bedingungen inkubiert wurden.

Die Wirkung des Gelée Royale auf die Keimung und das Wachstum der getesteten EPP war stark ausgeprägt. Aufgrund der Wachstumstests kann jedoch von einer reversiblen Hemmung gesprochen werden. Der Grund dafür könnte die erhöhte Temperatur ( $\pm 22$  °C) im Klimaschrank sein. Die Lagerung von Gelée Royale erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C, da nur so die Wirkung der Substanz über längere Zeit erhalten bleiben kann (Zheng et al., 2012). Im

Bienenstock beträgt die Temperatur zwar 34 – 35 °C, allerdings ernährt sich die Larve lediglich drei Tage vom vorrätigen Gelée Royale in der Brutzelle, eine längere Inkubationszeit wird somit vermieden (Sauerwald et al., 1998 zit. in Nabas et al., 2014). Unsachgemäße Lagerung (über eine Woche bei Raumtemperatur) kann physikalische und chemische Eigenschaften, sowie die Viskosität, Farbe, Enzymaktivität, Menge an freien Aminosäuren und den Säuregehalt von Gelée Royale beeinflussen (Zheng et al., 2012). Dadurch wäre die reversible Wirkung des Gelée Royale auf die Keimung und das Wachstum erklärbar.

### **4.3 Haben Linden- und Akazienhonig Auswirkungen auf die Keimung und das Wachstum verschiedener entomopathogener Pilz-Arten und Isolate?**

Beide Honigsorten hatten vielfach keimhemmende Wirkungen auf die Pilz-Arten und Isolate, diese waren unterschiedlich ausgeprägt. Beim Plättchen-Diffusionstest waren die negativen Einflüsse durch Lindenhonig im Vergleich zu Akazienhonig kaum signifikant verschieden. Signifikante Keimhemmungen wurden lediglich in unmittelbarer Nähe zum Applikationsplättchen beobachtet. Mit Ausnahme von *B. brongniartii*, geringere Keimfähigkeit wurde auch bei 5 – 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen festgestellt. Am stärksten wurden *I. fumosorosea* und *M. anisopliae* in der Keimung eingeschränkt. Die Keimungsraten lagen nach 24 h, bei 0 mm Distanz in beiden Fällen bei 9 – 20 %. Geringste, aber dennoch signifikante Hemmungen wurden beim Versuch mit *B. bassiana* (Käferisolat) diagnostiziert. Nach 72 h wurden bei Behandlung mit Akazienhonig, bei allen getesteten Pilzen Keimungsraten von über 90 % registriert. Lindenhonig hingegen konnte die Keimung von *M. anisopliae*, *M. flavoviride* und *I. fumosorosea* über die gesamte Versuchsdauer (24 – 72 h) signifikant reduzieren.

Wurden die Sporen mit Honig formuliert, zeigten sich bei Lindenhonig (20 und 50 % Verdünnung) vor allem nach 24 bzw. 48 h hoch bis höchst signifikant verringerte Keimungsraten im Vergleich zu Akazienhonig und zur Kontrolle. *B. bassiana* (Bodenisolat) wurde bei Kontakt mit den Honigsorten (20 %ige Verdünnung) am geringsten gehemmt, die Keimungsraten lagen bei 82 – 96 %. Das Käferisolat hingegen wurde bis zu 24 h wesentlich an der Keimung *gehindert*. Den größten Einfluss hatten die beiden Honigsorten auf die Keimfähigkeit von *M. flavoviride*. Keimungsraten von 0,7 – 19,1 % wurden nach 24 h registriert. Die Wirkungen der Honige bei 20 %iger Verdünnung waren je nach Pilz-Art bzw.

Isolat stark schwankend. Auch Katirae et al. (2014) beschreiben die variablen antifungalen Wirkungen in Abhängigkeit von Pilz-Art und Honigsorte, hierbei wurden Versuche mit Arten der Gattungen *Candida* und *Aspergillus* durchgeführt.

Bei stärkerer Verdünnung der Honige (50 % Wasser) waren die keimhemmenden Wirkungen im Vergleich zu den 20 %igen Verdünnungen in den meisten Fällen bis zu 48 h signifikant geringer. Jedoch waren auch bei diesen Varianten die Keimungsraten von *M. flavoviride* am niedrigsten. Ebenso zeigte *I. fumosorosea* kaum erhöhte Keimfähigkeit. Vor allem bei Lindenhonig kam dem Wassergehalt offensichtlich größere Bedeutung zu, die Keimhemmung war deutlich geringer. Dies könnte daher rühren, dass Akazienhonig auf natürliche Weise bereits mehr Wasser enthält (Muhammad et al., 2015). Mierzejewski (2014) beschreibt eine zu hohe Verdünnung der Honige durch Diffusion in den Agar und die mögliche Nutzung der vorhandenen Kohlenhydrate als Nährstoffquelle für Mikroorganismen. Diese Wirkung könnte auch die Verdünnung durch Wasser auf die Verfügbarkeit von Kohlenhydraten für Pilze haben. Zudem wurden im Honig Verunreinigungen durch Hefepilze, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, bakterienähnliche Mikroben und Stäbchenbakterien diagnostiziert. Einflüsse auf die Keimfähigkeit der EPP durch Kontaminanten in den beiden Honigsorten konnten aber nicht erkannt werden.

Zu beachten ist, dass die Keimungsraten pro Platte teilweise stark schwankten und dadurch große Abweichungen entstanden, die bei der statistischen Auswertung durch den Standardfehler dargestellt wurden. Beim Ausgießen des SDA konnte keine einheitliche Schichtdicke des Agars auf dem Objektträger gewährleistet werden, dies könnte Auswirkungen auf die Nährstoffverfügbarkeit haben. Shah et al. (2005, zit. in Mustafa & Kaur, 2009) beschreiben die Bedeutung der Nährstoffquelle auf das Wachstum und die Virulenz von EPP. Ist nur ein essentieller Nährstoff limitiert kommt es zu Wachstumshemmungen, trotz ausreichender Konzentration anderer Nährstoffe. Kohlenstoff- und Stickstoffressourcen werden von *M. anisopliae* und *B. bassiana* unterschiedlich genutzt und präferiert. Sie haben Einfluss auf die Keimung, das Wachstum und die Sporulation der Pilze (Mustafa & Kaur, 2009).

Lindenhonig scheint die Keimung der Pilz-Arten und Isolate im Vergleich zu Akazienhonig stärker gehemmt zu haben. Die antimikrobielle Wirksamkeit kann sich aufgrund der geographischen Lage, der saisonalen und botanischen Quelle und durch die Art der Honigernte und Lagerung stark zwischen den Honigen unterscheiden (Deb Mandal & Mandal, 2011).

Jedoch wird der Hauptteil der hemmenden Stoffe von der Biene produziert und über die Speichel- und Futtersaftdrüse abgegeben (Lavie, 1968 zit. in Bogdanov, 1997).

Zu den wichtigsten antimikrobiellen Substanzen im Honig gehört das Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  entsteht durch die Oxidation von Glucose durch das Enzym Glucose-Oxidase. Die Menge an Wasserstoffperoxid kann in den verschiedenen Honigsorten stark variieren (Lusby et al., 2005; French et al., 2005). Ebenso gehören Flavonoide, wie Pinocembrin, Pinobanksin und Chrysin und phenolische Verbindungen zu jenen Inhaltsstoffen, die das Wachstum der Mikroorganismen hemmen können (Cushnie & Lamb, 2005 zit. in Katirae et al. 2014; Gil et al. 1995, zit. in Katirae et al. 2014). Antimikrobielle Aktivität des Honigs kann auch auf den niedrigen pH-Wert (3,2 – 4,5) zurückgeführt werden (Haniyeh et al., 2010 zit. in Deb Mandal & Mandal, 2011; Mahmud et al., 2015). Bogdanov (1997) beschreibt jedoch die antibakterielle Aktivität des Honigs in Zusammenhang mit dem Säuregehalt und schreibt dem pH-Wert keine Bedeutung zu. Zusätzlich kann der hohe Zuckergehalt (osmotischer Effekt) und die hygroskopische Eigenschaft zur Dehydrierung der Zellen beitragen (Deb Mandal & Mandal, 2011).

Die Formulierungen der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat zeigten beim Schätzen (siehe Kapitel 2.2.3 Formulierungen der Konidien mit Lindenhonig-Konzentrat) der Keimungsraten konträre Werte zu den anderen Versuchen. Hierbei lagen die Keimungsraten von *B. bassiana* (Bodenisolat) und *I. fumosorosea* bereits nach 24 h bei über 80 % bzw. 95 %. *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* keimten kaum, die Keimungsraten lagen nach 48 h bei unter 20 %, steigerten sich nach 72 h aber auf 100 %. Daraus können jedoch keine Rückschlüsse auf die stark hemmenden Wirkungen des Lindenhonigs gezogen werden, da auch bei den Kontrollen von *B. bassiana* (Käferisolat) und *B. brongniartii* ähnliche Werte festgestellt wurden. Grund für die geringe Keimhemmung bei Verwendung des Lindenhonig-Konzentrats könnte die Inaktivität der Glucose-Oxidase sein. Laut Al-Mughrabi (2003) ist Wasserstoffperoxid, welches durch das Enzym Glucose-Oxidase produziert wird nur in unreifen Honigen aktiv. Die Glucose-Oxidase kann bei zu niedrigem pH-Wert kein  $H_2O_2$  erzeugen. Bei Vorhandensein von Metallionen und Ascorbinsäure ist das Wasserstoffperoxid zudem sehr kurzlebig und wird zu Wasser und Sauerstoff katalysiert. Durch die Katalase, welche den Pflanzenpollen entstammt, kann die Peroxid-Aktivität zusätzlich inhibiert werden (Deb Mandal & Mandal, 2011). In verdünnten und unreifen Honigen steigt die Enzymaktivität

hingegen an und es wird verstärkt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produziert, welches antimikrobielle Aktivität aufweist (Al-Mughrabi, 2003).

Die Hemmhoftests zeigten teilweise gegenteilige Ergebnisse. Bei den verwendeten Pilz-Arten und Isolaten der Gattung *Beauveria* konnten bei beiden Honigvarianten nach drei Tagen Hemmhofbildungen mit maximal 2,2 mm gemessen werden, jedoch waren die Wirkungen reversibel. Eingeschränktes Wachstum wurde vor allem bei den beiden *B. bassiana*-Isolaten beobachtet. Zu erwähnen ist, dass auch die Kontrollvarianten von *B. bassiana* (Boden- und Käferisolat) bei 6 bis 8 Platten über einen Zeitraum von 2 Wochen bis einen Monat Wachstumshemmungen zeigten. Mögliche Gründe für das schlechte Wachstum wurden bereits oben erläutert (siehe S. 108). Die Einflüsse auf die verminderte Myzelbildung sollten somit nicht ausschließlich mit der hemmenden Wirkung des Honigs in Zusammenhang gebracht werden. Lindenhonig führte bei *M. anisopliae* bei 8 Platten zur Bildung eines Hemmhofes, der jedoch reversibel war. Auch reduziertes Wachstum, bedingt durch den Kontakt mit Linden- und Akazienhonig war nach 30 Tagen nicht mehr zu erkennen. *M. flavoviride* zeigte bis zu 14 Tage reversible Wachstumshemmungen und *I. fumosorosea* reversible Hemmhofbildungen, die nur bis zu 72 h sichtbar waren. Wobei auch die Keimungstests von *I. fumosorosea* nach 72 h starke Myzelbildung zeigten. Die geringen Wachstumseinschränkungen bei größerer Entfernung zum Applikationsplättchen könnten durch die Diffusion des Honigs in den Agar verbunden sein. Dabei kommt es zu einer Verdünnung der Wirkstoffe und somit zu einem geringeren antimikrobieller Effekt (Mierzejewski, 2014). Der Effekt der Diffusion des Honigs in den Agar wurde bei den durchgeführten Tests jedoch nicht gemessen.

Die Unterschiede zwischen Keimungs- und Hemmhoftests der beiden *B. bassiana*-Isolate könnten durch technisch-methodische Umstände zustande gekommen sein. Da die Filterplättchen in Honig getaucht wurden, war die Menge an Honig nicht immer ident und somit eventuell die Konzentration antimikrobieller Stoffe unterschiedlich.

#### **4.4 Ganzheitliche Betrachtung**

EPP kommen auf natürliche Weise in der Umwelt vor und können dort über längere Zeit überdauern. Nach Applikation von *M. anisopliae* in den Boden einer beweideten Grasfläche konnte der Pilz selbst nach über 7 Jahren nachgewiesen werden, auch die applizierte Dosis änderte sich nicht (Rath et al., 1997 zit. in Inglis et al. 2001). Bodenbeschaffenheit, organisches

Material (Ignoffo et al., 1977b zit. in Inglis et al., 2001; Storey & Gardner, 1988 zit. in Inglis et al., 2001; Keller & Zimmermann, 1989 zit. in Inglis et al., 2001; Fornallaz, 1992 zit. in Inglis et al., 2001) und Bodenfeuchtigkeit (Inglis et al., 2001) spielen eine Rolle bei der Persistenz und Retention von EPP Konidien im Boden. Ebenso kann der pH-Wert des Bodens einen Einfluss auf die Keimung von *B. bassiana* Konidien haben (Grodén & Dunn, 1996 zit. in Inglis et al., 2001). Das Vorkommen der verschiedenen EPP hängt auch von der Art der Feldkultivierung ab. So wurde in Böden mit konventionell angebautem Wintergetreide häufiger *I. fumosorosea* und in organischen Systemen vermehrt *B. bassiana* nachgewiesen. Unabhängig vom konventionellen und organischen Anbau dominierte *M. anisopliae* gegenüber den anderen EPP. Die Untersuchungen beziehen sich auf die Gegend um Lublin, Polen (Tkaczuk et al., 2014).

Durch den Eintrag der Pilzsporen in den Bienenstock, sind die Konidien und Hyphen vor Sonneneinstrahlung geschützt. Insbesondere die UVB-Strahlen führen laut Inglis et al. (2001) zu verkürzter Persistenz. Die Anfälligkeit kann jedoch auch abhängig sein von Gattung und Isolat. Fargues et al. (1996) beobachteten eine erhöhte Resistenz von *M. flavoviride*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* und *I. fumosorosea* gegenüber der UVB-Strahlung.

Ist das Bienenvolk gesund, herrschen im Stock Temperaturen von 34 - 35°C vor. Das Temperaturoptimum der meisten EPP liegt jedoch zwischen 20 – 25 °C. Eine Infektion und schließlich ein Ausbruch der Krankheit kann aber auch bei 15 – 30 °C erfolgen. Steigt die Temperatur über 30 °C an ist das Wachstum meist gehemmt und wird bei 37 °C häufig eingestellt (Inglis et al., 2001). Rodríguez et al. (2009) beschreiben die Unterschiede der Temperaturtoleranz abhängig vom jeweiligen Isolat. 50 Isolate von *B. bassiana* und 48 Isolate von *M. anisopliae* zeigten bei 30 °C, ohne Licht lineare Wachstumsraten. Wurde die Temperatur auf 35 °C erhöht konnten lediglich drei *B. bassiana* und 14 *M. anisopliae* Isolate wachsen. Einige Untersuchungen ergaben, eine höhere Toleranz der Temperaturen je nach geographischer Herkunft des Isolats. Stammt ein Isolat aus einer wärmeren Region, ist eine erfolgreiche Bekämpfung bei höheren Temperaturen möglich. Dasselbe gilt für Isolate aus kälteren Gebieten, die bei niedrigeren Temperaturen bessere Ergebnisse erzielen. Einige Studien zeigen jedoch keinen bzw. nur geringen Zusammenhang zwischen geographischer Herkunft und Temperaturoptimum (McCammon & Rath, 1994 zit. in Inglis et al., 2001; Fargues et al., 1997a zit. in Inglis et al., 2001; Ouedraogo et al., 1997 zit. in Inglis et al., 2001).

Sollten Pathogene und Parasiten in den Bienenstock gelangen können die Honigbienen durch die Produktion von antimikrobiellen Peptiden, als Komponenten der humoralen Immunabwehr die tödliche Erkrankung und Ausbreitung unterbinden (Casteels et al., 1989, 1990, 1993 zit. in Bilikova et al. 2001; Casteels et al., 1990, 1993; Glinski and Jarosz, 1995 zit. in Bilikova et al. 2001). Mikrobielle Symbionten der Gattungen *Bacillus*, *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* im Darm der Bienen und im Bienenstock können ebenso zu Wachstumshemmung von Pathogenen, wie *Paenibacillus larvae* und Hefepilzen beitragen (Forsgren et al., 2009; Anderson et al., 2011). Antagonistische Aktivität von *Bacillus spp.* gegen *B. bassiana* und *M. anisopliae* wurde von Toledo et al. (2015) nachgewiesen. Zusätzlich sorgt das hygienische Verhalten der sozialen Insekten dafür, dass die Ausbreitung von Krankheiten im Volk verhindert wird, indem infizierte Individuen aus dem Bienenstock gedrängt werden (Boucias et al., 1996).

Wurde das Bienenvolk von der ektoparasitischen Milbe, *Varroa destructor* befallen kann sich der Einsatz von EPP als hilfreich erweisen. Kanga et al. (2002) beschreiben die positive Bekämpfung von *Varroa*-Milben mittels *Hirsutella thompsonii* und *Metarhizium anisopliae*, ohne negative Effekte auf die Honigbiene, *Apis mellifera*. Milben, die sich in der verdeckelten Brut befanden konnten jedoch erst nach Austritt aus der Brutwabe vom Pilz infiziert werden. Wachstumsfähige Konidien von *M. anisopliae* wurden bis zu 42 Tage nach der Applikation im Bienenstock nachgewiesen.

Bei Feldversuchen wurde zusätzlich eine Verbreitung der EPP-Sporen in andere Stöcke beobachtet. Der Transport der Konidien könnte über Drohnen oder Bienen, an welchen pilzinfizierte Milben haften, erfolgt sein (Greatti et al., 1992). Butt et al. (1998) beschreiben die mögliche Verbreitung von *M. anisopliae* Konidien zur Bekämpfung von Schädlingen durch die Honigbiene. Ein Inokulum-Dispenser wird am Bienenstock angebracht, wodurch die trockenen Konidien beim Ausflug der Biene am Körper haften bleiben und so zur Blüte transportiert werden. Bei der Rückkehr wird ein anderer Eingang genutzt, um das Verbringen der Pilzsporen in den Stock zu vermeiden. Feldversuche zeigten hohe Mortalitätsraten der zu bekämpfenden Rapsglanzkäfer durch EPP mittels Einsatz von Honigbienen. Dabei wurden keine nachteiligen Effekte für das Bienenvolk beobachtet. Jedoch sollte bei der Auswahl des Isolats auf die geringe Virulenz gegenüber Nutzinsekten geachtet werden. Um die Bienen durch die Anwendung von EPP nicht zu gefährden ist die Höhe der Sporenkonzentration wichtig. Butt et al. (1994) untersuchten die Wirkung unterschiedlicher Konzentrationen von *M. anisopliae* Konidien auf das Bienenvolk. Die Applikation einer  $1 \times 10^{10}$  Konidien/ml Suspension führte

bei der Honigbiene nach 4 bis 8 Tagen zu Mortalitätsraten von 94 – 100 %. Wurden die Bienen mit einer Suspension von  $1 \times 10^7$  Konidien/ml besprüht lag die Rate bei 29 – 35 %.

Extensive Bienenhaltung, ständige Migration der Bienenstöcke und erhöhter Einsatz von Pflanzenschutzmitteln (PSM) fördert einen Befall des Bienenvolkes durch Bakterien, Viren, Pilze und parasitischen Milben (Genersch et al., 2010 zit. in Anderson et al., 2011). Pflanzenschutzmittel werden zusätzlich beim Sammeln des Nektars aufgenommen und im Wachs und Honig eingelagert (Mullin et al., 2010). Wirken mehrere Faktoren auf ein Bienenvolk ein so kann dies zum Beispiel im Falle Infektionen durch *Nosema sp.* und Spritzmitteleinlagerungen zu erhöhter Krankheitsausprägung führen (Alaux et al, 2010 zit. in Anderson et al., 2011). Vidal & Jaber (2015) beschreiben kompetitive, wachstumshemmende Interaktionen bei Vorkommen verschiedener EPP auf demselben Medium. Dies könnte beim Eintrag unterschiedlicher EPP Konidien in den Bienenstock von Bedeutung sein. Antagonistische Aktivität zwischen *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* und den bodenbürtigen Pilzen *Fusarium saachari*, *Aspergillus sp.* und *Penecillium sp.* wurde zum Teil auch von Geetha et al. (2012) beobachtet. Somit ist auch eine Konkurrenz zwischen Pathogenen bei der Honigbiene, wie *Ascospaera apis* und EPP nicht ausgeschlossen.

Beim Einsatz von EPP kann es im Honig zu Verunreinigungen durch Metaboliten der Pilze kommen. Es konnten bereits über 30 Mykotoxine aus EPP isoliert werden. So produzieren z.B. einige *Metarhizium*-Isolaten Destruxine, bioaktive Sekundärmetaboliten, welche jedoch selten direkt in die Umwelt abgegeben werden (Hu et al., 2016). Honigproben, die aus mit *M. brunneum* behandelten Bienenstöcken stammten, wiesen laut Taibon et al. (2016) kein Destruxin A, B und E auf. Dadurch entsteht ein Vorteil gegenüber dem Gebrauch chemischer Bekämpfungsmittel, deren Rückstände im Honig und Wachs nachgewiesen wurden (Mullin et al., 2010).

Aufgrund der antimikrobiellen Aktivität der verschiedenen Bienenprodukte und der vorherrschenden Bedingungen im Bienenstock kann eine Ausbreitung von EPP im Bienenstock wahrscheinlich verhindert werden. Der unerwünschte Nebeneffekt in Bezug auf die Verpilzung der Bienenerzeugnisse ist durch die biologische Bekämpfung von Schädlingen, wie Maikäfer, Borkenkäfer, Asiatischer Laubholzbockkäfer und *Varroa*-Milben bei Verwendung geeigneter Isolate als unwahrscheinlich einzustufen. Zu beachten ist zudem, dass EPP ohnehin als Endophyten in Pflanzen und im Boden vorkommen.

Jedoch sollten weitere Untersuchungen mit unterschiedlichen entomopathogenen Pilz-Arten und Isolaten durchgeführt werden und dabei auch die Effekte der EPP auf die Bienen bedacht werden. Zudem wären Freilandversuche sinnvoll, um die Wirkung der Bienenprodukte unter natürlichen Bedingungen und in Kombination der verschiedenen Substanzen untersuchen zu können. Durch weitere Studien, die bestätigen, dass der Einsatz von EPP keine bzw. kaum negative Auswirkungen auf Nicht-Ziel-Organismen und Nutzinsekten hat und auch keine für den Menschen schädlichen Rückstände in Lebensmitteln eingelagert werden, ist ein vermehrter Gebrauch und somit eine Reduktion des Pflanzenschutzmitteleinsatzes vorstellbar.

## 5 Literaturverzeichnis

- Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., Cunningham, S. A. & Klein, A. M. (2008).** Long-term global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but increasing pollinator dependency. *Current Biology* 18: 1572–1575.
- Alaux C., Brunet J., Dussaubat C. et al. (2010).** Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology* 12: 774-782.
- Al-Mughrabi, K. I. (2003).** Wild honey inhibits growth of some phytopathogenic fungi *in vitro*. *Phytopathologia Mediterranea* 42: 280-283.
- Anderson, K. E., Sheehan, T. H., Eckholm, B. J., Mott, B. M. & DeGrandi-Hoffman, G. (2011).** An emerging paradigm of colony health: Microbial balance of the honey bee and hive (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux* 58 (4): 431–444.
- Anonymous (2008).** Monitoringprojekt Völkerverluste. Untersuchungsjahre 2004– 2008. Zusammenfassung und vorläufige Beurteilung der Ergebnisse.  
[http:// www.ag-bienenforschung.de](http://www.ag-bienenforschung.de)
- Aronstein, K. A. & Murray, K. D. (2010).** Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S20–S29.
- Babendreier, D., Joller, D., Romeis, J., Bigler, F. & Widmer, F. (2007).** Bacterial community structures in honeybee intestines and their response to two insecticidal proteins. *FEMS Microbiology Ecology* 59(3): 600–610.
- Bailey, L. & Ball, B.V. (1991).** Honey bee pathology. Academic Press, London.
- Bărnuțiu, L. I., Mărghitaș, L. Al, Dezmirean, D. S., Mihai, C. M. & Bobiș, O. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of royal jelly - Review. *Animal Science and Biotechnologies* 44 (2): 67–72.
- Bidochka M. J. & Small C. L. (2005).** Phylogeography of *Metarhizium*, an insect pathogenic fungus. In Vega FE, Blackwell M, editors. *Insect-fungal associations. Ecology and evolution.* University Press, Oxford, S. 3-27.
- Bilikova, K., Wu, G. S. & Simuth, J. (2001).** Isolation of a peptide fraction from honeybee royal jelly as a potential antifoulbrood factor. *Apidologie* 32 (3): 275–283.
- Bilikova, K., Kristof Krakova, T., Yamaguchi, K. & Yamaguchi, Y. (2015).** Major royal jelly proteins as markers of authenticity and quality of honey. *Arhiv Za Higijenu Rada Toksikologiju* 66: 259–267.
- Blackwell, M. (2011).** The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany*, 98(3): 426–438.
- Bogdanov, S. (1997).** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 30: 748-753.

- Bohan, D. A., Boffey, C. W. H., Brooks, D. R., Clark, S. J., Dewar, A. M., Firbank, L. G., Haughton, A. J., Hawes, C., Heard, M. S., May, M. J., Osborne J. L., Perry, J. N., Rothery, P., Roy, D. B., Scott, R. J., Squire, G. R. Woiwod, I. P. & Champion, G. T. (2005).** Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape. *Proceedings of the The Royal Society B* 272: 463–74.
- Bonvehí J. S. & Jordá R. E. (1991).** Studie über die mikrobiologische Qualität und bacteriostatische Aktivität des Weiselfuttersaftes (Gelée Royale): Beeinflussung durch organische Säuren. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 87: 256–259.
- Boucias, D. G., Stokes, C., Storey, G. and Pendland, J. C. (1996).** The effects of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 49: 103–144.
- Bowen-Walker, P., Martin, S., & Gunn, A. (1999).** The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 101–106.
- Bridge, P. D., Williams, M. A. J., Prior, C. & Paterson, R. R. M. (1993).** Morphological, biochemical and molecular characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Journal of General Microbiology* 139: 1163–1169.
- Brodtschneider, R., Moosbeckhofer, R. & Crailsheim, K. (2010).** Surveys as a tool to record winter losses of honey bee colonies: a two year case study in Austria and South Tyrol. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 23-30.
- Burdock, G. A. (1998).** Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36 (4): 347–363.
- Butler, C. (1957).** Die Honigbiene. Eugen Diederichs Verlag, Düsseldorf, S. 21.
- Butt, T. M., Carreck, N. L., Ibrahim, L., & Williams, I. H. (1998).** Honey-bee-mediated infection of pollen beetle (*Meligethes aeneus* Fab.) by the insect-pathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 8 (4): 533–538.
- Butt, T. M., Ibrahim, L., Ball, B. V., & Clark, S. J. (1994).** Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. *Biocontrol Science and Technology* 4 (2): 207–214.
- Calderone, N. W. & Lin, S. (2001).** Behavioural responses of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) to extracts of larvae, cocoons and brood food of worker and drone honey bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Physiological Entomology* 26: 341–350.
- Casteels, P., Ampe, Ch., Jacobs, F., Vaeck, M. & Tempst, P. (1989).** Apideacins: antibacterial peptides from honeybees, *EMBO Journal* 8: 2387–2391.
- Casteels, P., Ampe, Ch., Riviere, L., Van Damme, J., Elicone, Ch., Fleming, M., Jacobs, F. & Tempst, P. (1990).** Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *European Journal of Biochemistry* 187: 381–386.

- Casteels, P., Ampe, Ch., Jacobs, F., Tempst, P. (1993).** Functional and chemical characterization of Hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Biological Chemistry* 268: 7044–7054.
- Chantawannakul, P., de Guzman, L. I., Li, J. & Williams, G. R. (2015).** Parasites, pathogens, and pests of honeybees in Asia. *Apidologie* 47 (3): 301–324.
- Cherry, A.J., Banito, A., Djegui, D. & Lomer, C. (2004).** Suppression of the stem-borer *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize following seed dressing, topical application and stem injection with African isolates of *Beauveria bassiana*. *International Journal of Pest Management* 50: 67–73.
- Cliquet, S. & Jackson, M. A. (2005).** Impact of carbon and nitrogen nutrition on the quality, yield and composition of blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32 (5): 204-210.
- Cushine, T. & Lamb, A. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26: 343–356.
- Dainat, B., Ken, T., Berthoud, H. & Neumann, P. (2009).** The ectoparasitic mite *Tropilaelaps mercedesae* (Acari, Laelapidae) as a vector of honeybee viruses. *Insectes Sociaux* 56(1): 40–43.
- Dallmann, H. (1966).** Neue Wege bei der Bekämpfung der Kalkbrut in Bienenvölkern. *Garten und Kleintierzucht C. Imker* 5 (9):10.
- Davis, C. & Ward, W. (2003).** Control of chalkbrood disease with natural products. *Rural Industries Research and Development Corporation* 03/107, Kingston, S.1–23.
- Deb Mandal, M. & Mandal, S. (2011).** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1 (2): 154-160.
- Dettner, K. & Zwölfer, H. (2003).** Biologische, chemische und biotechnische Schädlingsbekämpfung. In *Lehrbuch der Entomologie, Teil 1*. Springer Spektrum, 1. Auflage, Heidelberg, S. 671–699.
- Doberski J. W. & Tribe H. T. (1980).** Isolation of entomopathogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Transactions of the British Mycological Society* 74: 95-100.
- Dold, H., Du, D. H. & Dziso, S. T. (1937).** Nachwei antibakterieller, hitze- und lichtempfindlicher Hemmungsstoffe (Inhibine) im Naturhonig (Blütenhonig). *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 120: 155-167.
- Domsch, K. H., Gams, W. & Anderson, T. H. (1980).** *Compendium of soil fungi*. London, UK: Academic Press, S. 413-415.
- Duay, P., De Jong, D. & Engels, W. (2002).** Decreased flight performance and sperm production in drones of the honeybee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genetics and Molecular Research* 1 (3): 227–232.

- Eilenberg, J., Hajek, A. & Lomer, C. (2001).** Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46: 387–400.
- Ekese, S. (2001).** Pathogenicity and antifeedant activity of entomopathogenic hyphomycetes to the cowpea leaf beetle, *Oothea mutabilis* Shalberg. *Insect Science and its Application* 21: 55-60.
- Fargues, J., Goettel, M. S., Smits, N., Ouedraogo, A., Vidal, C., Lacey, L. A., Lomer, C. J. & Rougier, M. (1996).** Variability in susceptibility to simulated sunlight of conidia among isolates of entomopathogenic Hyphomycetes. *Mycopathologia* 135: 171-181.
- Fargues, J., Goettel, M. S., Smits, N., Ouedraogo, A. & Rougier, M. (1997a).** Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. *Mycologia* 89: 383-392.
- Ferron, P., Hurpin, B. & Robert, P. H. (1972).** Sur la spécificité de *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Entomophaga* 17: 165-178.
- Fontana, R., Mendes, M. A., De Souza, B. M., Konno, K., César, L. M. M., Malaspina, O. & Palma, M. S. (2004).** Jelleines: A family of antimicrobial peptides from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides* 25 (6): 919–928.
- Fornallaz, C. (1992).** Demökologische Grundlagen und praktische Durchführung der mikrobiellen Bekämpfung des Maikäfers *Melolontha melolontha* L. mit dem Pilz *Beauveria brongniartii* (Sacc). Thesis, Petch. ETH-Zürich, S. 1–127.
- Forsgren, E., Olofsson, T. C., Vásquez, A. & Fries, I. (2009).** Novel lactic acid bacteria inhibiting *Paenibacillus larvae* in honey bee larvae. *Apidologie* 41 (1): 99–108.
- French, V. M., Cooper, R. A. & Molan, P. C. (2005).** The antibacterial activity of honey against coagulase-negative *Staphylococci*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56: 228-231.
- Fries, I., Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S. B. & Pieniazek, N. J. (1996).** *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology* 32: 356–365.
- Garcia-Ortiz, N., Tlecuitl-Beristain, S., Favela-Torres, E. & Loera, O. (2015).** Production and quality of conidia by *Metarrhizium anisopliae* var. *lepidiotum*: critical oxygen level and period of mycelium competence. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99 (6): 2783–2791.
- Garza-López, P. M., Konigsberg, M., Gómez-Quiroz, L. E. & Loera, O. (2012).** Physiological and antioxidant response by *Beauveria bassiana* Bals (Vuill.) to different oxygen concentrations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28 (1): 353–359.
- Gašić, U., Šikoparija, B., Tosti, T., Trifković, J., Milojković-Opsenica, D., Natić, M. & Tešić, Ž. (2014).** Phytochemical fingerprints of lime honey collected in Serbia. *Journal of AOAC International* 97 (5): 1-9.

- Geetha, N., Preseetha, M., Han, K., Santhalakshmi, G. & Bai, K. S. (2012).** *In vivo* interactions of entomopathogenic fungi, *Beauveria spp.* and *Metarhizium anisopliae* with selected opportunistic soil fungi of sugarcane ecosystem. *Journal of Environmental Biology* 33 (4): 721–727.
- Genersch, E., Evans, J. D. and Fries, I. (2010).** Honey bee disease overview. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S2-S4.
- Gil, M., Ferreres, F., Ortiz, A., Subra, E. & Tomas-Barberan, F. (1995).** Plant phenolic metabolites and floral origin of rosemary honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2833–2838.
- Gilliam, M. (1986).** Infectivity and survival of the chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis* in colonies of honey bees *Apis mellifera*. *Apidologie* 17: 93–100.
- Glinoski Z. & Jarosz J. (1995).** Cellular and humoral defences in honey bees. *Bee World* 76: 195–205.
- Goettel, M. S., Poprawski, T. J., Vandenberg, J. . D., Li, Z. & Roberts, D. W. (1990).** Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M., Lacey, L. A. & Davidson, E. W., 1990, *Safety of Microbial Insecticides*, CRC Press, Boca Raton, Lichtenstein, S. 209–231.
- Greatti, M., Milani, N. & Nazzi, F. (1992).** Reinfestation of an acaricide-treated apiary by *Varroa jacobsoni* Oud. *Experimental and Applied Acarology* 16: 279- 286.
- Groden, E. & Dunn, T. (1996).** Germination, host infection, and survival of *Beauveria bassiana* conidia in natural soils. In: Jackson, T.A. and Glare, T.R. (eds) *Microbial Control of Soil Dwelling Pests*. The Microbial Control Group, AgResearch, Lincoln, Neuseeland S. 137–145.
- Hall, R. A., Peterkin D. D., Ali B. & Lopez, V. (1994).** Influence of culture age on rate of conidiospore germination in four deuteromycetous entomogenous fungi. *Mycological Research* 98: 763-768.
- Hallsworth, J. E. & Magan, N. (1995).** Culture age, temperature, and pH affect the polyol and trehalose contents of fungal propagules. *Applied Environmental Microbiology* 62 (7): 2435-2442.
- Haniyeh, K. Seyyed, M. S. & Hussein, M. (2010).** Preliminary study on the antibacterial activity of some medicinal plants of Khuzestan (Iran). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 3 (3):180-184.
- Harris, J. W., Harbo, J. R., Villa, J. D. & Danka, R. G. (2003).** Variable population growth of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) during a 10-year period. *Population Ecology. Environmental Entomology* 32 (6): 1305–1312.
- Hu, Q., Li, F. & Zhang, Y. (2016).** Risks of Mycotoxins from mycoinsecticides to humans. *BioMed Research International*, Vol. 2016, S. 13.

- Huang, S., Zhang, C.-P., Wang, K., Li, G. & Hu, F.-L. (2014).** Recent advances in the chemical composition of Propolis. *Molecules* 19: 19610–19632.
- Humber, R. A. (2012).** Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Elsevier, Amsterdam, Niederlande, S. 151-187.
- Ignoffo, C. M., Garcia, C., Hostetter, D. L. and Pinnel, R. E. (1977b).** Vertical movement of conidia of *Nomuraea rileyi* through sand and loam soils. *Journal of Economic Entomology* 70: 163–164.
- Inglis, G. D., Goettel, M. S. & Johnson, D. L. (1993).** Persistence of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana*, on Phylloplanes of Crested Wheatgrass and Alfalfa. *Biological Control* 3: 258–270.
- Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M. & Strasser, H. (2001).** Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In Butt, T. M., Jackson C., Magan, N. (2001). *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CAB International, New York, USA, S. 23-70.
- Jackson, M. A. & Jaronski, S. T. (2009).** Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects. *Mycological Research* 113: 842– 850.
- Jaronski, S. T. (2010).** Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl* 55: 159-185.
- Jones, J. C., Myerscough, M. R., Graham, S. & Oldroyd, B. P. (2004).** Honey bee nest thermoregulation: Diversity Promotes Stability. *Scienceexpress*, S. 6.
- Kanga, L. H. B., James, R. R. & Boucias, D. G. (2002).** *Hirsutella thompsonii* and *Metarhizium anisopliae* as potential microbial control agents of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. *Journal of Invertebrate Pathology* 81: 175–184.
- Katirae, F., Mahmodi, R., Mardani, K. & Babaei, E. (2014).** Antifungal Activity of Iranian Honeybees Against *Candida*, *Aspergillus* Species and *Trichophyton rubrum*. *Journal of Food Processing and Preservation* 38: 2078–2082.
- Keller, S. and Zimmermann, G. (1989).** Mycopathogens of soil insects. In: Wilding, N., Collins, N. M., Hammond, P. M. and Webber, J. F. (eds) *Insect–Fungus Interactions*. Academic Press, London, S. 239–270.
- Keller, K. M., Deveza, M. V., Koshiyama, A. S., Tassinari, W. S., Barth, O. M., Castro, R. N. & Lorenzon, M. C. (2014).** Fungi infection in honeybee hives in regions affected by brazillian sac brood. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 66 (5): 1471-1478.
- Koenig, J. P., Boush, G. M. & Erickson, E. H. (1986).** Effect of type of brood comb on chalkbrood disease in honeybee colonies. *Journal of Apicultural Research* 25 (1): 58-62.

- Krupke, C. H., Hunt, G. J., Eitzer, B. D., Andino, G. & Given, K. (2012).** Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS ONE* 7 (1): e29268.
- Lacey, L. A., Wraight, S. P. & Kirk, A. A. (2008).** Entomopathogenic Fungi for Control of *Bemisia tabaci* Biotype B: Foreign Exploration, Research and Implementation. In *Classical Biological Control of Bemisia tabaci in the United States: A Review of Interagency Research and Implementation*. 4. Auflage, Springer Verlag, S. 33–69.
- Lavie, P. (1968).** Propriétés antibactériennes et action physiologique des roduits de la ruche et des abeilles. In Chauvin, R. (Ed.). *Traité de Biologie de l'Abeille*. Masson and Cie, Paris, S. 2-155.
- Le Grand, M. & Cliquet, S. (2013).** Impact of culture age on conidial germination, desiccation and UV tolerance of entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology* 23 (7): 847–859.
- Li, Z. Z. (1988).** List on the insect hosts of *Beauveria bassiana*. In: *Study and application of entomogenous fungi in China*. Academic Periodical Press, 1. Auflage, Peking S. 241-255
- Lodesani, M., Costa, C. (2005).** Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. *Bee World* 86: 102–109.
- Lusby, P. E., Coombes, A. L. & Wilkinson, J. M. (2005).** Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Archives of Medical Research* 36: 464-467.
- MacLeod, D. M. (1954).** Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. *Canadian Journal of Botany* 32: 818-890.
- Mahmud, T., Sabo, I. A., Dauda, M. M., Aminu, M. S. & Ibrahim, H. M. (2015).** Study on antifungal activity of honey. *International Journal of Innovation and Scientific Research* 17 (2): 359–361.
- Malone, L. A., Pham-Delègue, M. H. (2001).** Effects of transgene products on honey bees bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus sp.*). *Apidologie* 32: 287–304.
- Malone, L. A., Todd, J. H., Burgess, E. P. J., & T., C. J. (2004).** Development of hypopharyngeal glands in adult honey bees fed with a Bt toxin, a biotin-binding protein and a protease inhibitor. *Apidologie* 35: 655–664.
- Maurizio, A. (1934).** Über die Kaltbrut (Pericystis-Mykose) der Bienen. *Archive für Bienenkunde* 15: 165-193.
- McCannon, S. A. and Rath, A. C. (1994).** Separation of *Metarhizium anisopliae* strains by temperature dependent germination rates. *Mycological Research* 98: 1253–1257.
- Medrzycki, P., Sgolastra, F., Bortolotti, L., Bogo, G., Tosi, S., Padovani, E., Porrini, C. & Sabatini, A. G. (2010).** Influence of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to poisoning by pesticides. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 52–59.

- Mierzejewski, M. (2014).** The antimicrobial effects of royal jelly, propolis and honey against bacteria of clinical significance in comparison to three antibiotics. University of New Haven, College of Arts and Science/Biology, Connecticut, USA.
- Muhammad, A., Odunola, O. A., Ibrahim, M. A., Sallau, A. B., Erukainure, O. L., Aimola, I. A. & Malami, I. (2015).** Potential biological activity of acacia honey. *Frontiers in Bioscience, Elite* 8: 351–357.
- Müller-Kögler E. (1965).** Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zur biologischen Schädlingsbekämpfung und Grundlagen der Insektenmykologie. P. Parey Verlag, Berlin, S. 444.
- Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D. & Pettis, J. S. (2010).** High levels of miticides and agrochemicals in north american apiaries: Implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5 (3): e9754.
- Mustafa, U., & Kaur, G. (2009).** Effects of carbon and nitrogen sources and ratio on the germination, growth and sporulation characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates. *African Journal of Agricultural Research* 3 (10): 922–930.
- Mwamburi, L. a, Laing, M. D. & Miller, R. (2015).** Effect of adjuvants and temperature on germination and vegetative growth of three *Beauveria bassiana* isolates. *Brazilian Journal of Microbiology* 46 (1): 67–74.
- Nabas, Z., Haddadin, M. S. Y., Haddadin, J. & Nazer, I. K. (2014).** Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 64 (3): 171–180.
- Ouedraogo, A., Fargues, J., Goettel, M. S. and Lomer, C. J. (1997).** Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathologia* 137: 37–43.
- Ouedraogo R. M., Cusson M., Goettel M. S. & Brodeur J. (2003).** Inhibition of fungal growth in thermoregulating locusts, *Locusta migratoria*, infected by the fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 103-109.
- Ownley, B. H., Pereira, R. M., Klingeman, W. E., Quigley, N. B. & Leckie, B. M. (2004).** *Beauveria bassiana*, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. In Lartey RT, Caesar A (Eds) *Emerging Concepts in Plant Health Management*. Research Signpost, Kerala, S. 255–269.
- Page, P., Lin, Z., Buawangpong, N., Zheng, H., Hu, F., Neumann, P., Chantawannakul, P. & Dietemann, V. (2016).** Social apoptosis in honey bee superorganisms. *Scientific Reports* 6: 27210.
- Petz, M., Stabentheiner, A. & Crailsheim, K. (2004).** Respiration of individual honey bee larvae in relation to age and ambient temperature. *Journal of Comparative Physiology B* 174: 511-518.
- Pontoh J., Low N. H. (2002).** Purification and characterization of  $\beta$ -glucosidase from honeybees (*Apis mellifera*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32: 679-690.

- Posada, F., Vega, F. E., Rehner, S. A., Blackwell, M., Weber, D., Suh, S.-O. & Humber, R. A. (2004).** Scientific note: *Syspastospora parasitica*, a mycoparasite of the fungus *Beauveria bassiana* attacking the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*: A tritrophic association. *Journal of Insect Science* 4: 24–24.
- Rajanikanth, P., Subbaratnam, G. V. & Rahaman, S. J. (2011).** Effect of age and frequency of sub-culturing of different strains/isolates of *Beauveria bassiana* Vuillemin for their pathogenicity against *Spodoptera litura* Fabricius. *Biochemical and Cellular Archives* 11 (1): 79-84.
- Rath, A. C., Bullard, G. K., Allsopp, P. G., Rogers, D. J. and Robertson, L. N. (1997).** Persistence of *Metarhizium anisopliae* DAT F-001 in pasture soils for 7.5 years – implications for sustainable soil-pest management. In Allsopp, P.G. and Rogers, D.J. (eds) *Soil Invertebrates in 1997 Proceedings of the Third Brisbane Workshop on Soil Invertebrates*. Brisbane, Australien, S. 78–80.
- Reay, S. D., Brownbridge, M., Gicquel, B., Cummings, N. J. & Nelson, T. L. (2010).** Isolation and characterization of endophytic *Beauveria spp.* (Ascomycota: Hypocreales) from *Pinus radiata* in New Zealand forests. *Biological Control* 54: 52–60.
- Ristivojević, P., Trifković, J., Andrić, F. & Milojković-Opšenica, D. (2015).** Poplar-type propolis: Chemical composition, botanical origin and biological activity. *Natural Product Communications* 10 (11): 1869-1876.
- Ritter W. (2016).** *Gute imkerliche Praxis: Artgerecht, rückstandsfrei und nachhaltig*. Eugen Ulmer KG, Stuttgart, S. 166.
- Roberts, D. W. & Campbell, A. S. (1977).** Stability of entomopathogenic fungi. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America* 10: 19–76.
- Rodríguez, M., Gerding, M. & France, A. (2009).** Selection of entomopathogenic fungi to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69: 534–540.
- Rose, R., Dively, G. P. & Pettis, J. (2007).** Effects of Bt corn pollen on honey bees: emphasis on protocol development. *Apidologie* 38: 368–377.
- Ruttner, F. (1988).** *Taxonomy and biogeography of honey bees*. Springer Verlag, München.
- Samson-Robert, O., Labrie, G., Chagnon, M., & Fournier, V. (2014).** Neonicotinoid-contaminated puddles of water represent a risk of intoxication for honey bees. *PLoS ONE*, 9 (12): e108443.
- Sauerwald N., Polster J., Bengsch E., Niessen L. & Vogel R. F. (1998).** Combined antibacterial and antifungal properties of water soluble fraction of royal jelly. *Advances in Food Sciences* 20: 46–52.
- Schulz, A. E. (1984).** Reproduktion und Populationsentwicklung der parasitischen Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. in Abhängigkeit vom Brutzyklus ihres Wirtes *Apis mellifera* L. (1. Teil). *Apidologie* 15 (4): 401–420.

- Seeley, T. D. (1985).** Honeybee Ecology. Princeton University Press, Princeton.
- Seeley, T. D. (1997).** Honigbienen: Im Mikrokosmos des Bienestocks, Birkhäuser Verlag, Basel, S.48-49.
- Seeley, T. D. & Heinrich, B. (1981).** Insect thermoregulation (Heinrich Ed.). John Wiley and Sons, New York, S. 340.
- Singhal R. S., Kulkarni P. R., Rege D. V. (1997).** Honey: Quality criteria. In: Singhal R. S., Kulkarni P. R., Rege D. V., editors. Handbook of indices of food quality and authenticity. Chapter 7. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, S. 358-385.
- Shah, P. A & Pell, J. K. (2003).** Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied Microbiology and Biotechnology 61: 413–423.
- Shah, F. A., Cheng, S. W., Tariq, M. B. (2005).** Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. FEMS Microbiology Letters 251 (2): 259-266.
- Shen, M., Yang, X., Cox-Foster, D., & Cui, L. (2005).** The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. Virology 342: 141–149.
- Shuel, R. W. (1992).** The production of nectar and pollen. In Graham, J. M. (Ed.), The hive and the honey bee. revised ed. Bookcrafters, Hamilton, S. 401–433.
- Stein, I. (1988).** Gelée Royale: Gesundheit aus dem Bienenstock. Hippokrates Verlag, Stuttgart, S. 17-23.
- St. Leger, R. J. & Wang, C. (2010).** Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. Applied Microbiology and Biotechnology 85: 901–907.
- Stocker A., Schramel P., Kettrup A. & Bengsch E. (2005).** Trace and mineral elements in royal jelly and homeo static effects. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 19: 183–189.
- Storey, G. K. & Gardner, W. A. (1988).** Movement of an aqueous spray of *Beauveria bassiana* into the profile of four Georgia soils. Environmental Entomology 17: 135–139.
- Strasser, H., Vey, A. & Butt, T. M. (2000).** Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? Biocontrol Science and Technology 10: 717-735.
- Taibon, J., Sturm, S., Seger, C., Strasser, H. & Stuppner, H. (2016).** Combination of a QuEChERS-based extraction protocol with a fast and selective UHPLC-QTOF-MS assay for the detection and quantification of *Metarhizium brunneum* metabolites from honey samples. SOJ Pharmacy & Pharmaceutical Sciences 3 (4): 1-5.

- Tew, J. E. (2014).** Bienenwissen: 500 bewährte Tipps für erfolgreiches Imkern. Frederking & Thaler Verlag, München, S. 274.
- Tkaczuk, C., Król, A., Majchrowska-Safaryan, A. & Nicewicz L. (2014).** The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from fields cultivated in a conventional and organic system. *Journal of Ecological Engineering* 15 (4): 137-144.
- Toledo, A., López, S., Aulicino, M., de Remes Lenicov, A. M. & Balatti, P. (2015).** Antagonism of entomopathogenic fungi by *Bacillus spp.* Associated with the integument of cicadellids and delphacids. *International Microbiology* 18 (2): 91–97.
- Tutkun, E., Maden, S., Inci, A. & Yilmaz, B. (1993).** General situation of chalkbrood disease in honeybees in Turkey. *Turkish Journal of Entomology* 17 (2): 65–68.
- Vandenberg, J. D., Fichter, B. L. & Stephen, W. P. (1980).** Spore load of *Ascospaera* species on emerging adults of the Alfalfa leafcutting Bee, *Megachile rotundata*. *Applied and Environmental Microbiology* 39 (3): 650–655.
- vanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Donovall, L., Mullin, C., Frazier, M., Frazier, J., Tarpy, D. R., Hayes J. Jr. & Pettis, J. S. (2009).** “Entombed Pollen”: A new condition in honey bee colonies associated with increased risk of colony mortality. *Journal of Invertebrate Pathology* 101 (2): 147–149.
- vanEngelsdorp, D. & Meixner, M. D. (2010).** A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S80-S95.
- Vega, F. E., Meyling, N. V., Luangsa-Ard, J. J., & Blackwell, M. (2012).** Fungal entomopathogens. In *Insect Pathology*. Elsevier, 2. Auflage, Amsterdam, S. 171-220.
- Vestergaard S., Cherry A., Keller S. & Goettel M. (2003).** Safety of hyphomycete fungi as microbial control agents. In Hokkanen HMT, Hajek AE, editors. *Environmental impacts of microbial insecticides*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, S. 35-62.
- Vidal, S. & Jaber, L. R. (2015).** Entomopathogenic fungi as endophytes: plant–endophyte–herbivore interactions and prospects for use in biological control. *Current Science* 109 (1): 46–54.
- Voigt, W. (2002).** Die Honigbiene im Kreislauf des Waldes: wie die Imkerei zur Gesunderhaltung des Waldes beitragen kann. Frieling, 1. Auflage, Berlin, S. 4.
- Voorhies, E. C., Todd, F. E. & Galbraith, J. K. (1933).** Economic aspects of the bee industry. University of California, College of Agriculture, Bulletin 555, Berkley, S. 1–117.
- Wagner, B. L. & Lewis, L. C. (2000).** Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3468–3473.
- Wahdan, H. A. L. (1998).** Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection* 26 (1): 26-31.

- Wahl, O., Ulm, K. (1983).** Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59: 106–128.
- Watanabe, K., Shinmoto, H., Kobori, M., Tsushida, T., Shimohara, K., Kanaeda, J., Yonekura, M. (1996).** Growth stimulation with honey royal jelly DIII protein of human lymphocytic cell lines in a serum-free medium. *Biotechnology Techniques* 10: 959–962.
- Watanabe, K., Shinmoto, H., Kobori, M., Tsushida, T., Shimohara, K., Kanaeda, J., Yonekura, M. (1998).** Stimulation of cell growth in the U-937 human myeloid cell line by honey royal jelly protein. *Cytotechnology* 26: 23–27.
- Yang, X. Y., Yang, D. S., Wei-Zhang, Wang, J. M., Li, C. Y., Hui, Y., Lei, K. F., Chen, X. F., Shen, N. H., Jin, L. Q. & Wang J.G. (2010).** 10-Hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly: A potential medicine for RA. *Journal of Ethnopharmacology* 128: 314–321.
- Zander, E., 1909.** Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Leipziger Bienenzeitung* 24: 147-150, 164-166.
- Zheng, H. Q., Wei, W. T., Wu, L. M., Hu, F. L., & Dietemann, V. (2012).** Fast determination of royal jelly freshness by a Chromogenic Reaction. *Journal of Food Science* 77 (6): S247-S252.
- Zimmermann, G. (2007a).** Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 17 (5/6): 553–596.
- Zimmermann, G. (2007b).** Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 17 (9): 879–920.
- Zimmermann, G. (2008).** The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 18 (9): 865–901.

#### **Internetquellen:**

<http://imkerbund2015.netletter.at> (2016-11-15).

[http://www.imkerverein-buechertal.de/Bienen\\_im\\_Winter.php](http://www.imkerverein-buechertal.de/Bienen_im_Winter.php) (2016-11-18).

<http://www.laves.niedersachsen.de/tiere/bienenkunde/informationmaterial/informationmaterial-des-instituts-fuer-bienenkunde-celle-73963.html> (2016-10-30).

<http://www.ag-bienenforschung.de> (2016-09-30).

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX:31991L0414> (2016-10-02).

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Anwendungsstrategien, Ziele und Methoden der biologischen Bekämpfung _____	4
Tab. 2: Entwicklung und Nahrung einer Arbeiterbiene _____	9
Tab. 3: Auflistung der wichtigsten Komponenten von Linden-, Akazien- und Waldhonig__	12
Tab. 4 Auflistung der wichtigsten Komponenten des Gelée Royale _____	13
Tab. 5: Auflistung der wichtigsten Komponenten des Propolis _____	14
Tab. 6: Herkunft der Pilz-Arten und Isolate für die Durchführung von Keimungstests und Hemmhoftests _____	20
Tab. 7: Herkunft der Pilz-Arten und Isolate für die Durchführung von Keimungstests _____	20
Tab. 8: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurden die Faktoren Zeit, Distanz und Substanz berücksichtigt _____	28
Tab. 9: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	28
Tab. 10: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	29
Tab. 11: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	30
Tab. 12: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	31
Tab. 13: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	33
Tab. 14: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	34
Tab. 15: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	34
Tab. 16: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	35
Tab. 17: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	38
Tab. 18: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	39
Tab. 19: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	39
Tab. 20: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	40
Tab. 21: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	43
Tab. 22: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	44
Tab. 23: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	45
Tab. 24: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter Einfluss von Linden- und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	46

Tab. 25: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	48
Tab. 26: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	49
Tab. 27: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	49
Tab. 28: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter Einfluss von Linden-und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	50
Tab. 29: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	52
Tab. 30: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	53
Tab. 31: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	53
Tab. 32: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter Einfluss von Linden-und Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	55
Tab. 33: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. _____	57
Tab. 34: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurden die Faktoren Zeit und Substanz berücksichtigt. _____	59
Tab. 35: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	60
Tab. 36: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz _____	60
Tab. 37: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	61
Tab. 38: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	61
Tab. 39: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	63
Tab. 40: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	63
Tab. 41: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	64
Tab. 42: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	65
Tab. 43: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	67
Tab. 44: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	67
Tab. 45: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	68
Tab. 46: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	69
Tab. 47: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	71

Tab. 48: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	71
Tab. 49: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	72
Tab. 50: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	72
Tab. 51: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	74
Tab. 52: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter direktem Einfluss von Gelée Royale bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	74
Tab. 53: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	75
Tab. 54: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	76
Tab. 55: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	78
Tab. 56: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	78
Tab. 57: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	79
Tab. 58: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung _____	80
Tab. 59: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Bei der Anpassung wurde die geringere Anzahl an Versuchen bei 50 %iger Verdünnung berücksichtigt. _	82
Tab. 60: Geschätzte Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	89
Tab. 61: Geschätzte Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig-Konzentrat, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	90
Tab. 62: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis (W = normales Wachstum) _____	92
Tab. 63: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis (W = normales Wachstum) _____	92
Tab. 64: Wachstumseinschränkung von <i>B. brongniartii</i> unter Einfluss von Propolis _____	93
Tab. 65: Wachstumseinschränkung von <i>M. flavoviride</i> unter Einfluss von Propolis _____	94
Tab. 66: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale _____	95
Tab. 67: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale _____	95
Tab. 68: Wachstumseinschränkung von <i>M. anisopliae</i> unter Einfluss von Gelée Royale ____	96
Tab. 69: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (W = normales Wachstum) _____	97
Tab. 70: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (W = normales Wachstum) _____	98
Tab. 71: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Akazienhonig (W = normales Wachstum) _____	99

Tab. 72: Wachstumseinschränkung von <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Akazienhonig (W = normales Wachstum)	100
--	-----

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) in Kultur	5
Abb. 2: <i>B. brongniartii</i> (Käferisolat) in Kultur	6
Abb. 3: <i>M. anisopliae</i> (Bodenisolat) in Kultur	6
Abb. 4: <i>M. flavoviride</i> (Bodenisolat) in Kultur	7
Abb. 5: <i>I. fumosorosea</i> (Bodenisolat) in Kultur	8
Abb. 6: Darstellung der Zählpunkte beim Plättchen-Diffusionstest (0, 5, 10 und 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen)	23
Abb. 7: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	29
Abb. 8: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	29
Abb. 9: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	30
Abb. 10: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	31
Abb. 11: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	32
Abb. 12: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	33
Abb. 13: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	34
Abb. 14: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	35
Abb. 15: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	36
Abb. 16: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	37
Abb. 17: <i>B. brongniartii</i> beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	38
Abb. 18: <i>B. brongniartii</i> unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	39
Abb. 19: <i>B. brongniartii</i> unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	40
Abb. 20: <i>B. brongniartii</i> unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	41
Abb. 21: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	42
Abb. 22: <i>M. anisopliae</i> beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	43

Abb. 23: <i>M. anisopliae</i> unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen (20 µm)	44
Abb. 24: <i>M. anisopliae</i> unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	45
Abb. 25: <i>M. anisopliae</i> unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	46
Abb. 26: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	47
Abb. 27: <i>M. flavoviride</i> beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	48
Abb. 28: <i>M. flavoviride</i> unter Einfluss von Propolis, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	49
Abb. 29: <i>M. flavoviride</i> unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	50
Abb. 30: <i>M. flavoviride</i> unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts) nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	51
Abb. 31: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	51
Abb. 32: <i>I. fumosorosea</i> beim Kontrollversuch, nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	52
Abb. 33: <i>I. fumosorosea</i> unter Einfluss von Propolis nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	53
Abb. 34: <i>I. fumosorosea</i> unter Einfluss von Gelée Royale nach 24 h (links) und 48 h (rechts), bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	54
Abb. 35: <i>I. fumosorosea</i> unter Einfluss von Lindenhonig (links) und Akazienhonig (rechts), nach 24 h, bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen	55
Abb. 36: Keimungsraten von <i>I. fumosorosea</i> nach 24 und 48 h, unter Einfluss der verschiedenen Substanzen	56
Abb. 37: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate nach 24 und 48 h, unter Einfluss von Propolis	58
Abb. 38: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h	61
Abb. 39: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h	62
Abb. 40: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Bodenisolat) nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen	62
Abb. 41: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h	64
Abb. 42: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h	65
Abb. 43: Keimungsraten von <i>Beauveria bassiana</i> (Käferisolat) nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen	66
Abb. 44: <i>B. brongniartii</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h	68

Abb. 45: <i>B. brongniartii</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h _____	69
Abb. 46: Keimungsraten von <i>Beauveria brongniartii</i> nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen _____	70
Abb. 47: Keimungsraten von <i>Metarhizium anisopliae</i> nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen _____	73
Abb. 48: <i>M. flavoviride</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h _____	75
Abb. 49: <i>M. flavoviride</i> unter direktem Einfluss von Akazienhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h _____	76
Abb. 50: Keimungsraten von <i>Metarhizium flavoviride</i> nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen _____	77
Abb. 51: <i>I. fumosorosea</i> unter direktem Einfluss von Lindenhonig bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h _____	79
Abb. 52: <i>I. fumosorosea</i> unter direktem Einfluss von Akazienhong bei 20 %iger (links) und 50 %iger Verdünnung (rechts), nach 24 h _____	80
Abb. 53: Keimungsraten von <i>Isaria fumosorosea</i> nach 24 und 48 h, unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen _____	81
Abb. 54: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate bei der Kontrollvariante (ohne Testsubstanz), unter Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	83
Abb. 55: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	84
Abb. 56: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig (20 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	85
Abb. 57: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Lindenhonig (50 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	86
Abb. 58: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Akazienhonig (20 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	87
Abb. 59: Keimungsraten der verschiedenen Pilz-Arten und Isolate unter direktem Einfluss von Akazienhonig (50 %ige Verdünnung), bei Berücksichtigung des Faktors Zeit _____	88
Abb. 60: <i>B. brongniartii</i> unter Einfluss von Propolis, nach 41 Tagen _____	93
Abb. 61: <i>M. flavoviride</i> unter Einfluss von Propolis, Hemmhöfe beginnen nach 21 Tagen zuzuwachsen _____	94
Abb. 62: <i>B. bassiana</i> (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royal, nach 60 Tagen _____	96
Abb. 63: <i>M. anisopliae</i> unter Einfluss von Lindenhonig, mit eingeschränktem Wachstum (links) und ohne Wachstumshemmung (rechts), nach 21 Tagen _____	98
Abb. 64: <i>B. bassiana</i> (Bodenisolat) unter Einfluss von Akazienhonig, nach 14 Tagen _____	100

## Anhang

### A Keimungstest: Plättchen-Diffusionstest – Vergleich der Bienenerzeugnisse

Statistischer Vergleich der Keimungsraten von EPP unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz. Signifikante, hoch signifikante und höchst signifikante Unterschiede sind farblich unterlegt.

Anh. Tab. 1: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode, unter Berücksichtigung der Faktoren Zeit, Distanz und Substanz

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte		
		Vergleich der Zeiteinheiten	Vergleich der Distanzen	Vergleich der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,016	< 0,0083	< 0,005
hoch signifikant	< 0,01	< 0,003	< 0,0017	< 0,001
höchst signifikant	< 0,001	< 0,0003	< 0,00017	< 0,0001

**A-1 B. bassiana (Bodenisolat)**

Anh. Tab. 2: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,394			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,241			0,540			0,406		0,000	x	
	24 h	0,180			0,397			0,230			0,079			x		
15 mm	72 h			0,394			1,000			1,000	0,015	1,000	x			
	48 h		0,002			1,000			1,000		0,015	x				
	24 h	0,030			0,247			0,818			x					
10 mm	72 h			0,394			1,000	0,065	1,000	x						
	48 h		0,002			0,699		0,065	x							
	24 h	0,310			0,132			x								
5 mm	72 h			0,015	0,015	0,699	x									
	48 h		0,015		0,015	x										
	24 h	0,004			x											
0 mm	72 h	0,002	0,818	x												
	48 h	0,004	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 3: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,241			0,540			0,406		0,000	x	
	24 h	0,002			0,397			0,230			0,079			x		
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			1,000			0,699		0,002	x				
	24 h	0,002			0,065			0,937			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,937		0,002	x							
	24 h	0,002			0,026			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,699	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,004	0,537	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 4: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,699			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,241			0,540			0,406		0,000	x	
	24 h	0,002			0,397			0,230			0,079			x		
15 mm	72 h			0,392			0,392			0,392	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,699			0,699		0,002	x				
	24 h	0,009			0,818			0,699			x					
10 mm	72 h			0,392			0,392	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,937		0,002	x							
	24 h	0,009			0,818			x								
5 mm	72 h			0,392	0,002	0,699	x									
	48 h		0,004		0,002	x										
	24 h	0,004			x											
0 mm	72 h	0,003	0,004	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 5: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,180			0,241			0,540			0,406		0,000	x	
	24 h	0,002			0,397			0,230			0,079			x		
15 mm	72 h			1,000			1,000			1,000	0,002	0,699	x			
	48 h		0,410			0,410			0,410		0,002	x				
	24 h	0,002			0,132			0,937			x					
10 mm	72 h			1,000			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,410			0,410		0,002	x							
	24 h	0,002			0,180			x								
5 mm	72 h			1,000	0,002	0,394	x									
	48 h		0,410		0,002	x										
	24 h	0,093			x											
0 mm	72 h	0,002	0,180	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

**A-2 B. bassiana (Käferisolat)**

Anh. Tab. 6: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,015			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,015			0,707			0,406			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002			0,132			0,699			0,074			x		
15 mm	72 h			0,015			1,000			1,000	0,015	1,000	x			
	48 h		0,015			0,699			1,000		0,015	x				
	24 h	0,002			0,041			0,818			x					
10 mm	72 h			0,015			1,000	0,065	1,000	x						
	48 h		0,015			0,699		0,065	x							
	24 h	0,002			0,132			x								
5 mm	72 h			0,015	0,015	0,699	x									
	48 h		0,150		0,015	x										
	24 h	0,004			x											
0 mm	72 h	0,002	0,818	x												
	48 h	0,004	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 7: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,707			0,406			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002			0,002			0,009			0,074			x		
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,699			0,699		0,002	x				
	24 h	0,002			0,180			0,937			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,937		0,002	x							
	24 h	0,002			0,026			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,699	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,004	0,537	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 8: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,180			0,707			0,406			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002				0,026			0,026			0,074			x	
15 mm	72 h			1,000			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,180			1,000			1,000		0,002	x				
	24 h	0,002				0,180			0,589			x				
10 mm	72 h			1,000			1,000	0,002	1,000	x						
	48 h		0,180			1,000		0,002	x							
	24 h	0,002				0,310			x							
5 mm	72 h			1,000	0,002	1,000	x									
	48 h		0,180		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,180	x												
	48 h	0,004	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 9: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		1,000			0,707			0,406			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002			0,240			0,065			0,074			x		
15 mm	72 h			1,000			1,000			1,000	0,065	1,000	x			
	48 h		0,392			0,392			0,392		0,065	x				
	24 h	0,002			0,699			0,937			x					
10 mm	72 h			1,000			1,000	0,002	1,000	x						
	48 h		0,392			0,392		0,002	x							
	24 h	0,002			0,937			x								
5 mm	72 h			1,000	0,002	0,699	x									
	48 h		0,392		0,009	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	1,000	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

**A-3 B. brongniartii**

Anh. Tab. 10: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,699			0,406			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,009			0,948			0,837			0,599		0,001		x
	24 h	0,002			0,18			0,818			0,485				x	
15 mm	72 h			0,392			0,392			0,392	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,065			0,699		0,002	x				
	24 h	0,002			0,589			0,930			x					
10 mm	72 h			0,392			0,392	0,015	0,699	x						
	48 h		0,009			0,240		0,132	x							
	24 h	0,002			0,930			x								
5 mm	72 h			0,392	0,015	0,065	x									
	48 h		0,041		0,240	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	0,004	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 11: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			0,406			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,948			0,837			0,599		0,001	x	
	24 h	0,002			0,002			0,093			0,132				x	
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	0,699	x			
	48 h		0,002			0,394			0,937		0,015	x				
	24 h	0,002			0,132			0,818			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,310		0,002	x							
	24 h	0,002			0,180			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,180	x									
	48 h		0,002		0,009	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,009	0,015	x												
	48 h	0,310	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 12: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,065			0,406			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,948			0,837			0,599		0,001	x	
	24 h	0,002			0,002			0,004			0,093			x		
15 mm	72 h			0,065			0,699			1,000	0,015	0,394	x			
	48 h		0,002			0,589			0,818		0,026	x				
	24 h	0,026			0,015			0,310			x					
10 mm	72 h			0,065			0,699	0,002	0,394	x						
	48 h		0,002			0,818		0,009	x							
	24 h	0,026			0,132			x								
5 mm	72 h			0,093	0,002	0,310	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,065			x											
0 mm	72 h	0,017	0,001	x												
	48 h	0,818	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 13: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,015			0,406			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,948			0,837			0,599		0,001	x	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,002			x		
15 mm	72 h			0,015			1,000			1,000	0,002	0,699	x			
	48 h		0,002			0,093			0,937		0,002	x				
	24 h	0,002			0,009			0,026			x					
10 mm	72 h			0,015			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,132		0,002	x							
	24 h	0,093			0,132			x								
5 mm	72 h			0,015	0,002	0,065	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,589			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	1,000	x													
	24 h	x														

**A-4 *M. anisopliae***

Anh. Tab. 14: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,026			0,166			0,395			0,420	0,000	0,000	x
	48 h		0,041			0,394			0,589			0,277		0,056	x	
	24 h	0,002			0,026			0,412			0,009			x		
15 mm	72 h			0,053			0,053			0,053	0,002	0,002	x			
	48 h		0,004			0,937			0,818		0,002	x				
	24 h	0,002			0,485			0,240			x					
10 mm	72 h			0,053			0,053	0,002	0,002	x						
	48 h		0,004			0,485		0,002	x							
	24 h	0,002			0,132			x								
5 mm	72 h			0,053	0,002	0,002	x									
	48 h		0,009		0,002	x										
	24 h	0,026			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 15: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			0,166			0,395			0,420	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,002			0,015			0,277		0,056	x	
	24 h	0,002			0,015			0,412			0,004			x		
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	0,002	x			
	48 h		0,002			0,240			0,132		0,002	x				
	24 h	0,002			0,009			0,093			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,002	x						
	48 h		0,002			0,818		0,002	x							
	24 h	0,002			0,180			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,002	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,015	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 16: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			0,166			0,395			0,420	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,009			0,041			0,277		0,056	x	
	24 h	0,002			0,937			0,412			0,180			x		
15 mm	72 h			0,002			0,699			0,589	0,002	0,002	x			
	48 h		0,002			0,041			0,485		0,026	x				
	24 h	0,002			0,699			0,310			x					
10 mm	72 h			0,002			0,310	0,002	0,002	x						
	48 h		0,002			0,002		0,002	x							
	24 h	0,002			0,132			x								
5 mm	72 h			0,004	0,002	0,002	x									
	48 h		0,009		0,485	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,009	x												
	48 h	0,093	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 17: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,041			0,166			0,395			0,420	0,000	0,000	x
	48 h		0,004			0,041			0,132			0,277		0,056	x	
	24 h	0,002			0,240			0,412			0,009			x		
15 mm	72 h			0,015			0,699			0,699	0,002	0,002	x			
	48 h		0,002			0,015			0,818		0,002	x				
	24 h	0,002			0,818			0,818			x					
10 mm	72 h			0,026			1,000	0,002	0,002	x						
	48 h		0,002			0,026		0,002	x							
	24 h	0,002			0,937			x								
5 mm	72 h			0,026	0,002	0,002	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

A-5 *M. flavoviride*

Anh. Tab. 18: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,065			1,000			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,065			0,064			0,222			0,274		0,000	x	
	24 h	0,026				0,967			0,158			0,722			x	
15 mm	72 h			0,065			1,000			1,000	0,065	0,699	x			
	48 h		0,002				0,093			0,589		0,093	x			
	24 h	0,002				0,485			0,937			x				
10 mm	72 h			0,065			1,000	0,065	0,394	x						
	48 h		0,004				0,31		0,240	x						
	24 h	0,002				0,699			x							
5 mm	72 h			0,065	0,065	0,065	x									
	48 h		0,015			0,310	x									
	24 h	0,026				x										
0 mm	72 h	0,002	0,093	x												
	48 h	0,009	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 19: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,064			0,222			0,274		0,000	x	
	24 h	0,002			0,967			0,158			0,722			x		
15 mm	72 h			0,007			1,000			1,000	0,002	0,065	x			
	48 h		0,001			0,015			0,485		0,015	x				
	24 h	0,002			0,937			0,818			x					
10 mm	72 h			0,007			1,000	0,002	0,015	x						
	48 h		0,002			0,093		0,132	x							
	24 h	0,002			0,818			x								
5 mm	72 h			0,002	0,015	0,002	x									
	48 h		0,002		0,240	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,065	x												
	48 h	0,093	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 20: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,002			0,064			0,222			0,274		0,000	x	
	24 h	0,004			0,967			0,158			0,722			x		
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,015	0,394	x			
	48 h		0,002			0,240			0,699		0,065	x				
	24 h	0,004			0,818			0,310			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,101	0,101	x						
	48 h		0,002			0,093		0,101	x							
	24 h	0,002			0,180			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,065	x									
	48 h		0,002		0,310	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,009	0,093	x												
	48 h	0,015	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 21: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000	0,000	0,000	x
	48 h		0,699			0,064			0,222			0,274		0,000	x	
	24 h	0,002			0,967			0,158			0,722			x		
15 mm	72 h			1,000			1,000			1,000	0,015	0,021	x			
	48 h		0,363			0,363			0,363		0,485	x				
	24 h	0,002			0,485			0,699			x					
10 mm	72 h			1,000			1,000	0,015	0,065	x						
	48 h		0,363			0,363		0,310	x							
	24 h	0,002			0,818			x								
5 mm	72 h			1,000	0,015	0,180	x									
	48 h		0,363		0,132	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	0,002	x													
	24 h	x														

**A-6 *I. fumosorosea***

Anh. Tab. 22: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

PROPOLIS		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,065			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,180			0,540			1,000		0,000		x
	24 h	0,002			0,009			0,132			0,015				x	
15 mm	72 h			0,065			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,180			1,000		0,002	x				
	24 h	0,002			0,065			0,485			x					
10 mm	72 h			0,065			1,000	0,002	1,000	x						
	48 h		0,002			0,180		0,002	x							
	24 h	0,002			0,132			x								
5 mm	72 h			0,065	0,002	0,180	x									
	48 h		0,002		0,093	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,318	0,318	x												
	48 h	0,318	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 23: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss von Gelée Royale, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

GELÉE ROYALE		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,002			0,540			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002			0,004			0,026			0,009			x		
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,002			0,699		0,002	x				
	24 h	0,002			0,132			0,093			x					
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,009		0,003	x							
	24 h	0,002			0,310			x								
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,002	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,121	0,121	x												
	48 h	0,121	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 24: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss von Lindenhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

LINDENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,002			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,180			0,540			1,000		0,000		x
	24 h	0,002			0,818			0,093			0,041				x	
15 mm	72 h			0,002			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,180			0,699		0,002		x			
	24 h	0,002			0,015			0,065				x				
10 mm	72 h			0,002			1,000	0,002	0,699	x						
	48 h		0,002			0,310		0,002	x							
	24 h	0,002			0,002				x							
5 mm	72 h			0,002	0,002	0,180	x									
	48 h		0,002		0,132	x										
	24 h	0,002			x											
0 mm	72 h	0,002	0,004	x												
	48 h	0,015	x													
	24 h	x														

Anh. Tab. 25: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss von Akazienhonig, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz und bei Vergleich mit der Kontrolle

AKAZIENHONIG		0 mm			5 mm			10 mm			15 mm			Kontrolle		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72h
Kontrolle	72 h			0,065			1,000			1,000			1,000	0,000	1,000	x
	48 h		0,002			0,180			0,540			1,000		0,000	x	
	24 h	0,002			0,002			0,041			0,004			x		
15 mm	72 h			0,065			1,000			1,000	0,002	1,000	x			
	48 h		0,002			0,180			1,000		0,002	x				
	24 h	0,002			0,132			0,065			x					
10 mm	72 h			0,065			1,000	0,002	1,000	x						
	48 h		0,002			0,180		0,002	x							
	24 h	0,002			0,394			x								
5 mm	72 h			0,065	0,002	0,180	x									
	48 h		0,002		0,002	x										
	24 h	0,004			x											
0 mm	72 h	0,002	0,002	x												
	48 h	0,132	x													
	24 h	x														

### A-1.1 *B. bassiana* (Bodenisolat)

Anh. Tab. 26: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			0,699			0,002			0,394
	48 h		0,180			0,002			0,002			0,002	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,180		
Propolis	72 h			0,394			0,699			0,015			
	48 h		0,002			0,015			0,699				
	24 h	0,699			0,026			0,004					
Gelée Royale	72 h			0,002			0,002						
	48 h		0,002			0,015							
	24 h	0,002			0,589								
Lindenhonig	72 h			0,699									
	48 h		0,009										
	24 h	0,065											

Anh. Tab. 27: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h						1,000			1,000			1,000
	48 h		0,241			0,241			0,241			0,241	
	24 h	0,397			0,397			0,397			0,397		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,241			0,241			0,241				
	24 h	0,397			0,397			0,397					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,241			0,241							
	24 h	0,397			0,397								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,241										
	24 h	0,397											

Anh. Tab. 28: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,540			0,540			0,540			0,540	
	24 h	0,230			0,230			0,230			0,230		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,540			0,540			0,540				
	24 h	0,230			0,230			0,230					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,540			0,540							
	24 h	0,230			0,230								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,540										
	24 h	0,230											

Anh. Tab. 29: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,406			0,406			0,406			0,406	
	24 h	0,079			0,079			0,079			0,079		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,406			0,406			0,406				
	24 h	0,079			0,079			0,079					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,406			0,406							
	24 h	0,079			0,079								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,406										
	24 h	0,079											

### A-2.1 *B. bassiana* (Käferisolat)

Anh. Tab. 30: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			0,002			0,015
	48 h		1,000			0,180			0,002			0,015	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,002		
Propolis	72 h			0,015			0,015			0,002			
	48 h		0,015			0,589			0,002				
	24 h	0,937			0,485			0,002					
Gelée Royale	72 h			0,002			0,002						
	48 h		0,002			0,009							
	24 h	0,002			0,002								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,180										
	24 h	0,589											

Anh. Tab. 31: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,707			0,707			0,707			0,707	
	24 h	0,240			0,026			0,002			0,132		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,707			0,707			0,707				
	24 h	0,310			0,589			0,015					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,707			0,707							
	24 h	0,002			0,041								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,707										
	24 h	0,093											

Anh. Tab. 32: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,406			0,406			0,406			0,406	
	24 h	0,065			0,026			0,009			0,699		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,406			0,406			0,406				
	24 h	0,310			0,132			0,065					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,406			0,406							
	24 h	0,180			0,818								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,406										
	24 h	0,394											

Anh. Tab. 33: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		1,000			1,000			1,000			1,000	
	24 h	0,074			0,074			0,074			0,074		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		1,000			1,000			1,000				
	24 h	0,074			0,074			0,074					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		1,000			1,000							
	24 h	0,074			0,074								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		1,000										
	24 h	0,074											

### A-3.1 *B. brongniartii*

Anh. Tab. 34: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
<b>Kontrolle</b>	72 h			0,015			0,065			0,002			0,699
	48 h		0,002			0,002			0,002			0,009	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,002		
<b>Propolis</b>	72 h			0,041			0,093			0,002			
	48 h		0,180			0,015			0,002				
	24 h	0,026			0,065			0,818					
<b>Gelée Royale</b>	72 h			0,002			0,002						
	48 h		0,002			0,180							
	24 h	0,009			0,065								
<b>Lindenhonig</b>	72 h			0,310									
	48 h		0,041										
	24 h	0,394											

Anh. Tab. 35: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
<b>Kontrolle</b>	72 h			0,406			0,406			0,406			0,406
	48 h		0,948			0,948			0,948			0,948	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,180		
<b>Propolis</b>	72 h			0,406			0,406			0,406			
	48 h		0,948			0,948			0,948				
	24 h	0,002			0,002			0,015					
<b>Gelée Royale</b>	72 h			0,406			0,406						
	48 h		0,948			0,948							
	24 h	0,485			1,000								
<b>Lindenhonig</b>	72 h			0,406									
	48 h		0,948										
	24 h	0,180											

Anh. Tab. 36: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,837			0,837			0,837			0,837	
	24 h	0,002			0,004			0,093			0,818		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,837			0,837			0,837				
	24 h	0,002			0,002			0,026					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,837			0,837							
	24 h	0,180			0,485								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,837										
	24 h	0,310											

Anh. Tab. 37: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *B. brongniartii* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,599			0,599			0,599			0,599	
	24 h	0,002			0,093			0,132			0,485		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,599			0,599			0,599				
	24 h	0,004			0,132			0,240					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,599			0,599							
	24 h	0,589			0,937								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,599										
	24 h	0,699											

### A-4.1 *M. anisopliae*

Anh. Tab. 38: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			0,041			0,002			0,002			0,026
	48 h		0,004			0,002			0,002			0,041	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,002		
Propolis	72 h			0,937			0,041			0,004			
	48 h		0,041			0,004			0,002				
	24 h	0,065			0,041			0,002					
Gelée Royale	72 h			0,002			0,093						
	48 h		0,009			0,240							
	24 h	0,002			0,002								
Lindenhonig	72 h			0,041									
	48 h		0,065										
	24 h	0,937											

Anh. Tab. 39: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. anisopliae* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			0,166			0,166			0,166			0,166
	48 h		0,041			0,009			0,002			0,394	
	24 h	0,240			0,937			0,015			0,026		
Propolis	72 h			0,166			0,166			0,166			
	48 h		0,310			0,132			0,002				
	24 h	0,026			0,002			0,589					
Gelée Royale	72 h			0,166			0,166						
	48 h		0,002			0,002							
	24 h	0,026			0,004								
Lindenhonig	72 h			0,166									
	48 h		0,589										
	24 h	0,240											

Anh. Tab. 40: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M.anisopliae* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			0,395			0,395			0,395			0,395
	48 h		0,132			0,041			0,015			0,589	
	24 h	0,412			0,412			0,412			0,412		
Propolis	72 h			0,395			0,395			0,395			
	48 h		0,699			0,394			0,015				
	24 h	0,412			0,412			0,412					
Gelée Royale	72 h			0,395			0,395						
	48 h		0,009			0,065							
	24 h	0,412			0,412								
Lindenhonig	72 h			0,395									
	48 h		0,394										
	24 h	0,412											

Anh. Tab. 41: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M.anisopliae* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			0,420			0,420			0,420			0,420
	48 h		0,277			0,277			0,277			0,277	
	24 h	0,009			0,180			0,004			0,009		
Propolis	72 h			0,420			0,420			0,420			
	48 h		0,277			0,277			0,277				
	24 h	0,485			0,065			0,240					
Gelée Royale	72 h			0,420			0,420						
	48 h		0,277			0,277							
	24 h	0,699			0,699								
Lindenhonig	72 h			0,420									
	48 h		0,277										
	24 h	0,24											

### A-5.1 *M. flavoviride*

Anh. Tab. 42: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			0,002			0,002			0,065
	48 h		0,699			0,002			0,002			0,065	
	24 h	0,002			0,004			0,002			0,026		
Propolis	72 h			0,065			0,015			0,002			
	48 h		0,041			0,065			0,002				
	24 h	0,026			0,041			0,002					
Gelée Royale	72 h			0,002			0,002						
	48 h		0,002			0,002							
	24 h	0,002			0,015								
Lindenhonig	72 h			0,002									
	48 h		0,002										
	24 h	0,180											

Anh. Tab. 43: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,064			0,064			0,064			0,064	
	24 h	0,967			0,967			0,967			0,967		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,064			0,064			0,064				
	24 h	0,967			0,967			0,967					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,064			0,064							
	24 h	0,967			0,967								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,064										
	24 h	0,967											

Anh. Tab. 44: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,222			0,222			0,222			0,222	
	24 h	0,158			0,158			0,158			0,158		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,222			0,222			0,222				
	24 h	0,158			0,158			0,158					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,222			0,222							
	24 h	0,158			0,158								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,222										
	24 h	0,158											

Anh. Tab. 45: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *M. flavoviride* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,274			0,274			0,274			0,274	
	24 h	0,722			0,722			0,722			0,722		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,274			0,274			0,274				
	24 h	0,722			0,722			0,722					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,274			0,274							
	24 h	0,722			0,722								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,274										
	24 h	0,722											

### A-6.1 *I. fumosorosea*

Anh. Tab. 46: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

0 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			0,065			0,002			0,002			0,050
	48 h		0,002			0,002			0,002			0,002	
	24 h	0,002			0,002			0,002			0,002		
Propolis	72 h			0,240			0,394			0,180			
	48 h		0,132			0,310			0,026				
	24 h	0,009			0,394			0,065					
Gelée Royale	72 h			0,002			0,002						
	48 h		0,002			0,002							
	24 h	0,002			0,002								
Lindenhonig	72 h			0,002									
	48 h		0,589										
	24 h	0,009											

Anh. Tab. 47: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

5 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,180			0,180			0,002			0,180	
	24 h	0,002			0,818			0,004			0,009		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,818			0,937			0,394				
	24 h	0,394			0,004			0,240					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,002			0,065							
	24 h	0,699			0,002								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,937										
	24 h	0,002											

Anh. Tab. 48: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

10 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		0,540			0,540			0,540			0,540	
	24 h	0,041			0,093			0,026			0,132		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		0,540			0,540			0,540				
	24 h	0,132			0,240			0,132					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		0,540			0,540							
	24 h	0,394			0,589								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		0,540										
	24 h	0,180											

Anh. Tab. 49: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei *I. fumosorosea* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen und unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

15 mm		Akazienhonig			Lindenhonig			Gelée Royale			Propolis		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Kontrolle	72 h			1,000			1,000			1,000			1,000
	48 h		1,000			1,000			1,000			1,000	
	24 h	0,004			0,041			0,009			0,015		
Propolis	72 h			1,000			1,000			1,000			
	48 h		1,000			1,000			1,000				
	24 h	0,240			0,818			0,818					
Gelée Royale	72 h			1,000			1,000						
	48 h		1,000			1,000							
	24 h	0,485			0,485								
Lindenhonig	72 h			1,000									
	48 h		1,000										
	24 h	0,132											

## B Keimungstest: Plättchen-Diffusionstest – Vergleich der Pilz-Arten und Pilz-Isolate

Statistischer Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Propolis, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Distanz. Signifikante, hoch signifikante und höchst signifikante Unterschiede sind farblich unterlegt.

Anh. Tab. 50: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode, bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte
		Vergleich der Pilz-Arten bzw. Isolate
signifikant	< 0,05	< 0,0033
hoch signifikant	< 0,01	< 0,00066
höchst signifikant	< 0,001	< 0,00006

### B-1 Propolis

Anh. Tab. 51: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 24 h bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

24 h – 0 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,002	0,002	0,004	0,002	0,002	x
<i>M. flavoviride</i>	0,589	0,699	0,002	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,310	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,002	0,002	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,818	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 52: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 24 h bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

24 h – 5 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,009	0,004	0,002	0,589	0,004	x
<i>M. flavoviride</i>	0,240	0,699	0,937	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,002	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,065	0,485	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,310	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 53: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 24 h bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

24 h – 10 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,132	0,002	0,002	0,180	0,002	x
<i>M. flavoviride</i>	0,065	0,818	0,699	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,009	0,002	0,002	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,026	0,818	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,041	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 54: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 24 h bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

24 h – 15 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,026	0,002	0,004	0,015	0,004	x
<i>M. flavoviride</i>	0,026	0,699	0,589	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,002	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,026	0,093	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,002	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 55: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 48 h bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

48 h – 0 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	x
<i>M. flavoviride</i>	0,065	0,132	0,937	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,589	0,002	0,394	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,394	0,240	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,015	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 56: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 48 h bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

48 h – 5 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,180	0,310	0,937	0,240	0,937	x
<i>M. flavoviride</i>	0,065	0,093	0,699	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,041	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,065	0,132	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,699	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 57: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 48 h bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

48 h – 10mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,000	1,000	0,699	0,002	0,394	x
<i>M. flavoviride</i>	0,394	0,394	0,818	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,002	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,699	0,699	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 58: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 48 h bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

48 h – 15 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,000	1,000	1,000	0,002	0,699	x
<i>M. flavoviride</i>	0,699	0,699	0,699	0,002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,002	0,002	0,002	x		
<i>B. brongniartii</i>	1,000	1,000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 59: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 72 h bei 0 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

72 h – 0 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,059	0,059	0,059	0,059	0,059	x
<i>M. flavoviride</i>	0,059	0,059	0,059	0,059	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,059	0,059	0,059	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,059	0,059	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,059	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 60: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 72 h bei 5 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

72 h – 5 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,000	1,000	1,000	0,180	1,000	x
<i>M. flavoviride</i>	1,000	1,000	1,000	0,180	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,180	0,180	0,180	x		
<i>B. brongniartii</i>	1,000	1,000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 61: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 72 h bei 10 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

72 h – 10 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,068	0,068	0,068	0,068	0,068	x
<i>M. flavoviride</i>	0,068	0,068	0,068	0,068	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,068	0,068	0,068	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,068	0,068	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,068	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 62: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate unter Einfluss von Propolis, nach 72 h bei 15 mm Entfernung zum Applikationsplättchen

72 h – 15 mm	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,416	0,416	0,416	0,416	0,416	x
<i>M. flavoviride</i>	0,416	0,416	0,416	0,416	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,416	0,416	0,416	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,416	0,416	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,416	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

### C Keimungstest: Formulierung der Konidien mit Bienenerzeugnissen – Vergleich der Bienenerzeugnisse

Statistischer Vergleich der Keimungsraten von EPP unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit. Signifikante, hoch signifikante und höchst signifikante Unterschiede sind farblich unterlegt.

Anh. Tab. 63: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode, bei Vergleich der Substanzen, unter Berücksichtigung des Faktors Zeit

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte	
		Vergleich der Zeiteinheiten	Vergleich der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,016	< 0,0033
hoch signifikant	< 0,01	< 0,003	< 0,00066
höchst signifikant	< 0,001	< 0,0003	< 0,000006

**C-1 *B. bassiana* (Bodenisolat)**

Anh. Tab. 64: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *B. bassiana* (Bodenisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Lindenhonig (50 %)			Akazienhonig (50 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			1,0000			1,0000			1,0000			1,0000	0,0060	1,0000	x
	48		0,0000			1,0000			1,0000			1,0000			1,0000		0,0060		x
	24	0,0000			0,0000			0,1990			0,0100			0,9560				x	
Akazienhonig (50 %)	72			0,0000			1,0000			1,0000			1,0000	0,0010	1,0000		x		
	48		0,0000			1,0000			1,0000			1,0000	0,0010		x				
	24	0,0000			0,0000			0,8090			0,0090				x				
Lindenhonig (50 %)	72			0,0000			1,0000			1,0000	0,0000	1,0000		x					
	48		0,0000			1,0000			1,0000		0,0000		x						
	24	0,0000			0,0000			0,0860				x							
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			1,0000	0,0010	1,0000		x								
	48		0,0000			1,0000		0,0010		x									
	24	0,0000			0,0002				x										
Lindenhonig (20 %)	72			0,0000	0,0000	0,7800		x											
	48		0,0000		0,0000		x												
	24	0,0000				x													
Gelée Royale (20 %)	72	1,0000	1,0000		x														
	48	1,0000		x															
	24		x																

**C-2 *B. bassiana* (Käferisolat)**

Anh. Tab. 65: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *B. bassiana* (Käferisolat) unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Lindenhonig (50 %)			Akazienhonig (50 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			0,5640			1,0000			1,0000			1,0000	0,0000	1,0000	x
	48		0,0000			0,0006			1,0000			1,0000			1,0000		0,0000		x
	24	0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			0,3610				x	
Akazienhonig (50 %)	72			0,0000			0,5640			1,0000			1,0000	0,0000	1,0000		x		
	48		0,0000			0,0006			1,0000			1,0000	0,0000		x				
	24	0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			x					
Lindenhonig (50 %)	72			0,0000			0,5640			1,0000	0,0000	1,0000		x					
	48		0,0000			0,0006			1,0000		0,0000		x						
	24	0,0000			0,0000			0,3810				x							
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			0,5640	0,0000	1,0000		x								
	48		0,0000			0,0006		0,0000	x										
	24	0,0000			0,0000				x										
Lindenhonig (20 %)	72			0,0000	0,0000	0,0020		x											
	48		0,0000		0,0000		x												
	24	0,0000				x													
Gelée Royale (20 %)	72	0,344	0,344		x														
	48	0,344		x															
	24	x																	

**C-3 *B. brongniartii***

Anh. Tab. 66: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *B. brongniartii* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Lindenhonig (50 %)			Akazienhonig (50 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			0,0000			0,0730			0,0350			1,0000	0,0000	0,2390	x
	48		0,0000			0,0000			0,0000			0,0002			0,1990		0,0000		x
	24	0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			0,0190				x	
Akazienhonig (50 %)	72			0,0000			0,0000			0,0730			0,0350	0,0000	0,0150		x		
	48		0,0000			0,0000			0,0001			0,1010		0,0010		x			
	24	0,0000			0,0000			0,0000			0,0000				x				
Lindenhonig (50 %)	72			0,0000			0,0020			0,4680		0,0000	0,3230		x				
	48		0,0000			0,0000			0,0000			0,0000		x					
	24	0,0000			0,0000			0,0390				x							
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			0,0000	0,0000	0,0000		x								
	48		0,0000			0,0000		0,0000		x									
	24	0,0000			0,0000				x										
Lindenhonig (20 %)	72			0,0000	0,0000	0,0000		x											
	48		0,0000		0,9850		x												
	24	0,0000				x													
Gelée Royale (20 %)	72	0,769	0,769		x														
	48	0,769		x															
	24		x																

### C-4 *M. anisopliae*

Anh. Tab. 67: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *M. anisopliae* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			0,0000			0,8090	0,0000	0,0000	x
	48		0,0000			0,0000		0,0000			0,0000		x
	24	0,0000			0,0000			0,0000				x	
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			0,0000	0,0000	0,0000		x		
	48		0,0000			0,0000		0,0000		x			
	24	0,0000			0,0000				x				
Lindenhonig (20 %)	72			0,0120	0,0000	0,0000		x					
	48		0,0017		0,0000		x						
	24	0,0000				x							
Gelée Royale (20 %)	72	0,0000	0,0000		x								
	48	0,0000		x									
	24		x										

C-5 *M. flavoviride*

Anh. Tab. 68: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *M. flavoviride* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Lindenhonig (50 %)			Akazienhonig (50 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000	0,0000	0,0000	x
	48		0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000		0,0010		x
	24	0,0000				0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			x	
Akazienhonig (50 %)	72			0,0000			0,0000			0,0470			0,0000	0,0000	0,0000			x	
	48		0,0000			0,0000			0,0000			0,0000		0,6160		x			
	24	0,0000				0,0000			0,6420			0,0000			x				
Lindenhonig (50 %)	72			0,0000			0,1280			0,0000	0,0000	0,0000			x				
	48		0,0000				0,4450			0,0000			0,0610		x				
	24	0,0060					0,3610			0,0000				x					
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			0,0000	0,0000	0,0000		x								
	48		0,0000				0,0000		0,0010		x								
	24	0,0000					0,0000			x									
Lindenhonig (20 %)	72			0,0000	0,0000	0,0000		x											
	48		0,0000			0,0000		x											
	24	0,0150					x												
Gelée Royale (20 %)	72	0,1380	0,3230		x														
	48	0,5640		x															
	24		x																

**C-6 *I. fumosorosea***

Anh. Tab. 69: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten von *I. fumosorosea* unter Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung der Faktoren Zeit und Verdünnung der Honig

Testsubstanz	h	Gelée Royale (20 %)			Lindenhonig (20 %)			Akazienhonig (20 %)			Lindenhonig (50 %)			Akazienhonig (50 %)			Kontrolle		
		24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Kontrolle	72			0,0000			0,0350			1,0000			1,0000			1,0000	0,0000	0,7800	x
	48		0,0000			0,0000			0,0150			0,0230			0,9850		0,0000		x
	24	0,0000			0,0000			0,0000			0,0000			0,0000				x	
Akazienhonig (50 %)	72			0,0000			0,0350			1,0000			1,0000	0,0000	0,7800		x		
	48		0,0000			0,0000			0,0096			0,0110		0,0000		x			
	24	0,0000			0,0000			0,0470			0,0000				x				
Lindenhonig (50 %)	72			0,0000			0,0350			1,0000	0,0000	0,0060		x					
	48		0,0000			0,0000			0,4230		0,0000		x						
	24	0,0000			0,0000			0,0002				x							
Akazienhonig (20 %)	72			0,0000			0,0350	0,0000	0,0060		x								
	48		0,0000			0,0000		0,0000		x									
	24	0,0000			0,0000				x										
Lindenhonig (20 %)	72			0,0000	0,0000	0,0000		x											
	48		0,0000		0,0010		x												
	24	0,0002				x													
Gelée Royale (20 %)	72	0,7120	0,7120		x														
	48	0,7120		x															
	24		x																

## D Keimungstest: Formulierung der Konidien mit Bienenerzeugnissen – Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Statistischer Vergleich der Keimungsraten von EPP unter direktem Einfluss der verschiedenen Substanzen, bei Berücksichtigung des Faktors Zeit. Signifikante, hoch signifikante und höchst signifikante Unterschiede sind farblich unterlegt.

Anh. Tab. 70: Korrektur der Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode, bei Vergleich der Pilz-Arten und Isolate

Signifikanzniveau		Korrigierte Werte	
		Vergleich der Pilz-Arten/Isolate	Vergleich der Pilz-Arten/Isolate bei 50 %iger Verdünnung der Substanzen
signifikant	< 0,05	< 0,0033	< 0,005
hoch signifikant	< 0,01	< 0,00066	< 0,001
höchst signifikant	< 0,001	< 0,000006	< 0,0001

### D-1 Kontrolle (ohne Testsubstanz)

Anh. Tab. 71: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss der Kontrolle, nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,02600	0,00700	0,00000	0,00190	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,64200	0,00000	0,00009	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00190	0,00010	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 72: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss der Kontrolle, nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,78000	0,78000	0,42300	0,00000	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	0,53900	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,23900	0,23900	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 73: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss der Kontrolle, nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,00000	1,00000	1,00000	0,13800	1,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	1,00000	1,00000	1,00000	0,13800	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,13800	0,13800	0,13800	x		
<i>B. brongniartii</i>	1,00000	1,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

## D2 Gelée Royale (20 %ige Verdünnung)

Anh. Tab. 74: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Gelée Royale, nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,01500	0,02600	0,02600	0,04300	0,01500	x
<i>M. flavoviride</i>	1,00000	0,78000	0,78000	0,56400	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,56400	0,78000	0,78000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,78000	1,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,78000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 75: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Gelée Royale, nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,03500	0,03500	0,11900	0,00000	0,11900	x
<i>M. flavoviride</i>	0,56400	0,56400	1,00000	0,00000	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,56400	0,56400	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 76: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Gelée Royale, nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,13800	0,32300	0,34100	0,00000	0,89700	x
<i>M. flavoviride</i>	0,13800	0,32300	0,34100	0,00000	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,56400	0,98500	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,56400	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

### D-3 Lindenhonig (20 %ige Verdünnung)

Anh. Tab. 77: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (20 %ige Verdünnung), nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,00065	0,18400	0,78000	0,00007	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00007	0,00002	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00004	0,06700	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,16000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 78: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (20 %ige Verdünnung), nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,00000	0,21000	0,00144	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,06700	0,00000	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00047	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00055	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 79: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (20 %ige Verdünnung), nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,06100	0,09400	0,00077	0,00000	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,01900	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,78000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

#### D-4 Lindenhonig (50 %ige Verdünnung)

Anh. Tab. 80: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (50 %ige Verdünnung), nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,00000	0,00002	x	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,14900	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 81: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (50 %ige Verdünnung), nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00582	0,00582	0,02900	x	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00002	0,00002	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 82: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Lindenhonig (50 %ige Verdünnung), nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,00000	1,00000	0,03500	x	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,03500	0,03500	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

#### D-5 Akazienhonig (20 %ige Verdünnung)

Anh. Tab. 83: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (20 %ige Verdünnung), nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,07300	0,00700	0,00055	0,00016	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	0,40200	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,23900	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 84: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (20 %ige Verdünnung), nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00582	0,00581	0,00017	0,00000	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,00000	0,00000	0,00006	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 85: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (20 %ige Verdünnung), nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,00000	1,00000	0,07300	0,13800	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00004	0,00004	x	
<i>M. anisopliae</i>	0,13800	0,13800	0,92600	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,07300	0,07300	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

## D-6 Akazienhonig (50 %ige Verdünnung)

Anh. Tab. 86: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (50 %ige Verdünnung), nach 24 h

24 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,00000	0,05600	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	0,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 87: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (50 %ige Verdünnung), nach 48 h

48 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	0,78000	0,78000	0,02900	x	0,00000	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00000	0,00000	0,00000	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	0,01500	0,01500	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

Anh. Tab. 88: Statistisch errechnete Signifikanzwerte bei Vergleich der Keimungsraten der verschiedenen EPP unter Einfluss von Akazienhonig (50 %ige Verdünnung), nach 72 h

72 h	<i>B. bassiana</i> (Boden)	<i>B. bassiana</i> (Käfer)	<i>B. brongniartii</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>M. flavoviride</i>	<i>I. fumosorosea</i>
<i>I. fumosorosea</i>	1,00000	1,00000	1,00000	x	0,00002	x
<i>M. flavoviride</i>	0,00002	0,00002	0,00002	x	x	
<i>M. anisopliae</i>	x	x	x	x		
<i>B. brongniartii</i>	1,00000	1,00000	x			
<i>B. bassiana</i> (Käfer)	1,00000	x				
<i>B. bassiana</i> (Boden)	x					

