

Um die Wirkung verschiedener Pilzstämmen auf verschiedene Lebensstadien von *R. cerasi* zu untersuchen, wurden mehrere Laborexperimente durchgeführt. Alle geprüften Pilzstämmen waren pathogen für Larven und Adulte, es traten jedoch Unterschiede in der Virulenz wie auch zwischen den verschiedenen Lebensstadien auf: L_3 Larven waren kaum anfällig: nur 25% der Larven starben nach der Infektion. Adulte Fliegen waren hochanfällig für alle geprüften Pilzstämmen (*Metarhizium anisopliae* 714, *M. anisopliae* 786, *Isaria fumosorosea* 531, *I. fumosorosea* Apopka 97 und *Beauveria bassiana* ATCC 74040), außer *Isaria farinosa* 954. Die hohe Mortalität (90–100%) der Fliegen hatte eine signifikant reduzierte Eiablage zur Folge. Höhere Konidienkonzentrationen führten zu einer höheren Mortalität, wobei *B. bassiana* bei niedrigen Konzentrationen am besten wirkte. Bei jüngeren Fliegen wurden geringere Mortalitätsraten beobachtet, als bei älteren. Bodenbehandlungen gegen schlüpfende Fliegen brachten im Labor ebenfalls vielversprechende Ergebnisse.

Verschiedene Anwendungsstrategien für den Freilandinsatz wurden geprüft: Bodenbehandlungen gegen schlüpfende Fliegen, die Anwendung einer Attract & Kill-Strategie sowie die Behandlung der Bäume mit Pilzsporen. Die generelle Wirksamkeit von Bodenbehandlungen gegen schlüpfende Fliegen wurde durch den Einsatz von Netzen nachgewiesen. Mit Netzabdeckungen am Boden unter den Kirschbäumen konnte die Flugaktivität signifikant reduziert werden. Zudem zeigte sich, dass die Fliegen innerhalb einer Obstanlage nur sehr kurze Distanzen zurücklegen. Der Fruchtbefall mit Maden wurde durch die Bodenabdeckung um 91% gesenkt. Die Anwendung der Netzabdeckung ist jedoch sehr teuer und zeitaufwendig. Ausgehend von diesen Resultaten wurde die Wirkung von Bodenbehandlungen mit entomopathogenen Pilzen gegen schlüpfende Fliegen untersucht. Kleinparzellenversuche mit auf Gerstenkörnern formulierten Pilzstämmen waren jedoch nur unter feuchten Witterungsbedingungen erfolgreich. In mehreren Versuchen wurden Köder für ein Attract & Kill-Verfahren geprüft: Obwohl einige Köder die Fangzahlen der gelben Leimfallen verdoppeln konnten, ist die Wirkung für ein funktionierendes Attract & Kill-Verfahren zu gering.

Gut wirksam waren Baumbehandlungen: Regelmäßige Spritzungen von *B. bassiana* (Produkt Naturalis-L) konnten den Befall der Früchte mit Maden um 60 bis 70% reduzieren. An den gefangenen Fliegen konnten Pilzinfektionen nachgewiesen werden. Die Versuche in zwei Jahren und in fünf verschiedenen Obstanlagen konnten zeigen, dass diese Wirkung auch unter verschiedenen Witterungsbedingungen und bei verschiedenen Befallsstärken gegeben ist. Naturalis-L (*Beauveria bassiana*) ist seit 2008 für die Indikation Kirschfruchtfliege in der Schweiz und Italien zugelassen (Baumbehandlung). Für eine gute Wirkung sollte Naturalis-L beginnend fünf bis zehn Tage nach Flugbeginn bis sieben Tage vor der Ernte in 7-tägigen Abstand mit einer Konzentration von 0.25% (1000 l Wasser pro Hektar) appliziert werden. Bei Hochstammbäumen, wo eine gute Benetzung der oberen Baumkrone bei der Spritzung oft nicht möglich ist, bleibt die Bekämpfung der Kirschfruchtfliege jedoch weiterhin sehr schwierig.

Erfolge in der Laborzucht der Kirschfruchtfliege als wichtige Grundlage für Forschungsarbeiten

Kirsten KÖPPLER, Thomas KAFFER, Heidrun VOGT

JKI, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Dossenheim

Für die Entwicklung wirksamer und umweltschonender Bekämpfungsstrategien der Kirschfruchtfliege sind Untersuchungen im Labor, Halfreiland und Freiland notwendig, um z.B.

Fragen zur Biologie des Schädling oder zu Wirkmechanismen von Bekämpfungsverfahren zu beantworten. Eine wichtige Voraussetzung für diese Untersuchungen ist eine standardisierte Laborzucht, die die verschiedenen Entwicklungsstadien der Fliege unabhängig vom Freiland und jederzeit zur Verfügung stellt. Eine effektive Zucht ist aufgrund der Biologie des Schädling nicht einfach zu realisieren und konnte bisher noch nicht erfolgreich etabliert werden. Zum einen erschwert die obligatorische Diapause von mindestens 5 Monaten im Labor und 10 bis 11 Monaten im Freiland ein kontinuierliches Zuchtverfahren und zum anderen das eingeschränkte Wirtsspektrum des Schädling die Entwicklung einer geeigneten Larvendiat. Aufbauend auf früheren Arbeiten zur Zucht der Kirschfruchtfliege wurden die Fliegen der P-Generation jeweils aus befallenen Kirschen gewonnen. Dabei wanderten die Larven aus den in Kisten ausgelegten Kirschen aus und verpuppten sich unter diesen. Die Puppen konnten so leicht abgesammelt werden und über verschiedene Zeiträume zunächst bei Zimmertemperatur und dann bei Temperaturen von 3 bis 5°C gelagert werden. Die Kühlagerung erfolgte über einen Zeitraum von 4 bis 12 Monaten. Die Puppen wurden je nach Bedarf aus der Kühlkammer entnommen und die Postdiapause in einer Klimakammer ($25 \pm 0,5^\circ\text{C}/18 \pm 0,5^\circ\text{C}$, RH 65 \pm 5%, Fotoperiode 16:8 h, 4–6 klx) eingeleitet. Nach ca. 3 bis 4 Wochen schlüpfen die Fliegen, die nach weiteren ca. 10 Tagen eiablagebereit waren. Es konnte bei einer Kühlagerung von 5 bis 9 Monaten eine mittlere Schlupfrate von 73% erreicht werden, die durch diesen langen Zeitraum eine sehr hohe Flexibilität in der Fliegengewinnung gewährleisten. Kürzere bzw. längere Perioden der Kühlagerung führten zu einem geringeren Schlupf adulter Fliegen. Zur Eiablage wurden schwarz eingefärbte Wachsdome zur Verfügung gestellt, die entsprechend der Literatur aus Ceresin hergestellt wurden. Dem Ceresin wurden zusätzlich verschiedene Paraffine und Bienenwachs beigefügt, um die Penetrierbarkeit zu verbessern. Da das in der Literatur beschriebene Ceresinwachs nicht mehr hergestellt wird, wurden zwei neue Wachse zur Eiablage einzeln und im Verhältnis 1:1 getestet (TeCe-Ceresin W46 und TeCe-Ozokerit 6270). Ziel der Entwicklung der Wachsdome aus neuen Wachsen war es, eine gute Penetration zu erreichen, bei der das Verhältnis von innen zu außen abgelegten Eiern möglichst hoch war. Mit den neuen Wachsen in Kombination konnte die Eiablage im Vergleich zu dem in der Literatur beschriebenen Ceresinwachs um den Faktor 20 erhöht werden. Somit steht durch die Verwendung der neuen Wachse ein optimiertes Verfahren zur Eiablage zur Verfügung. Als Grundlage für die Larvenmedien dienten zunächst zwei Medien aus der Literatur. Nachfolgend wurden weitere 65 verschiedene Medien auf Agarbasis getestet, bei denen u.a. der pH-Wert, der Agaranteil, Vitaminzusätze, Zuckergehalt und -art, der Zusatz von cyanogenen Glykosiden, von Laugen und Säuren sowie die Zugabe von Kirschsafte (frisch, Konzentrat, kommerziell) variiert wurde. Die beiden in der Literatur beschriebenen Medien ergaben nicht die dort angegebenen Verpuppungsraten. Die Ergebnisse waren somit nicht reproduzierbar. Die neuen Medien auf Agarbasis führten insbesondere unter Verwendung von kommerziellem Kirschsafte zu Verpuppungsraten bis zu 50%, wobei die durchschnittliche Verpuppungsrate bei einem bei zahlreichen Versuchen als Standardmedium eingesetzten Medium bei 41% lag. Die Hauptbestandteile dieses Mediums sind neben kommerziellem Kirschsafte, Saccharose, Vanderzants-Vitaminmix, Trockenhefe, KOH und Wasser. Als antimikrobieller Bestandteil wurde Propionsäure eingesetzt.

Mit den beschriebenen Verfahren zur Fliegengewinnung in Abhängigkeit von der Länge der Kühlagerung, zur Eiablage mit einer neuen Wachskombination sowie dem neuen Larvenmedium steht erstmals ein reproduzierbares Zuchtverfahren

der Kirschfruchtfliege zur Verfügung. Damit sind die für die Entwicklung neuer Bekämpfungsstrategien notwendigen grundlagenorientierten und angewandten Untersuchungen mit dem Schädling möglich.

Der Einsatz von Infochemikalien im Pflanzenschutz – Perspektiven für die biotechnische Bekämpfung der Kirschfruchtfliege?

Jürgen GROSS

JKI, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Dossenheim

Insekten nutzen zur Kommunikation mit Artgenossen oder artfremden Organismen eine breite Palette von Infochemikalien (auch Semiochemikalien, Ökomone). Dabei handelt es sich um chemische Substanzen, die Informationen zwischen zwei Organismen transportieren, die entweder physiologische oder Verhaltensänderungen in einem oder beiden Organismen auslösen. Werden sie zur intraspezifischen Kommunikation eingesetzt, so sprechen wir von Pheromonen. Werden sie zur interspezifischen Kommunikation genutzt, so unterscheiden wir mehrere Gruppen, je nachdem, für welchem der beteiligten Partner (Sender bzw. Empfänger) sie einen Vorteil bieten: Alleomone (Vorteil für Sender), Kairomone (Vorteil für Empfänger), Synomone (beide profitieren) und Apneumone (Vorteil für Empfänger, aber unbelebter Sender). Die Einsatzmöglichkeiten von Infochemikalien im Pflanzenschutz werden anhand einiger Beispiele vorgestellt.

Die Identifizierung neuer Infochemikalien durch die Untersuchung multitrophischer Interaktionen und deren Anwendung im Pflanzenschutz steht meist am Anfang unserer Untersuchungen. So konnten wir feststellen, dass das Allomon β -Caryophyllen, dessen Produktion durch das Apfeltriebsuchtphytoplasma in infizierten Apfelbäumen induziert wird, auf den bedeutsamsten Vektor, den Sommerapfelblattsauger attraktiv wirkt. Aktuell sind wir dabei, Fallen zu entwickeln, in denen dieses Sesquiterpen als Bestandteil eines Lockstoffes dient. Die ersten Ergebnisse zeigen deutlich eine anlockende Wirkung auf den Vektor.

Bei unterschiedlichen Insektenarten (Blattkäfern, Blattwespen, Marienkäfern) konnten wir Infochemikalien nachweisen, die dem Schutz vor Infektionen mit Mikroorganismen dienen. Von besonderem Interesse sind für uns Substanzen, die gasförmig sind und den Produzenten in eine antimikrobielle Wolke einhüllen, die ihn vor Pilzinfektionen schützt. Da diese Stoffe nicht nur insektenpathogene, sondern auch phytopathogene Mikroorganismen schädigen, untersuchen wir derzeit die Möglichkeit des Einsatzes solcher Verbindungen im Pflanzenschutz.

Im Falle der Kirschfruchtfliegen sind Pheromone und Apneumone bekannt, die sich für eine Bekämpfung eignen könnten. Besonders interessant und gut erforscht sind von den Weibchen produzierte Markierungspheromone (Hydroxyfettsäuren mit Glucose und Taurin), die bei elf Arten von *Rhagoletis*, zwei Arten von *Anastrepha* und bei *Ceratitidis capitata* nachgewiesen wurden. Nach der Eiablage verteilt das Weibchen das Pheromon auf der Frucht, wodurch weitere Eiablagen durch konspezifische Weibchen unterdrückt werden. Hier bietet sich nach Untersuchungen in der Schweiz seit den 1970er Jahren ein noch ungenutztes Potential für interessante Bekämpfungssätze. Zusätzlich ist die Existenz von Sexualpheromonen bei zwei der insgesamt 65 *Rhagoletis*-Arten, die weltweit vorkommen, nachgewiesen worden. Eine davon ist *R. cerasi*. Zwei Wirkungen der Sexualpheromonaktivität wurden beobachtet: Zum einen produzieren die Männchen einen Stoff, der für Weibchen attraktiv ist, zum anderen produzieren die Weibchen einen Stoff, der Männchen zum Verweilen auffordert (arretierende Substanz) und möglicherweise sexuell stimuliert (Aphrodisia-

kum). Allerdings wurde die Struktur der beteiligten Pheromonkomponenten bisher nicht aufgeklärt. Möglicherweise handelt es sich um eine Mischung aus acht verschiedenen Fettsäuren, die für die arretierende Wirkung auf Weibchen verantwortlich sind. Die Aufklärung der Pheromonkomponenten könnte neue Möglichkeiten zum selektiven Monitoring, Massenfang oder zur Optimierung von Köderverfahren gegen die Kirschfruchtfliege eröffnen. Abschließend werden Methoden vorgestellt, mit denen diese Infochemikalien zukünftig isoliert und identifiziert werden sollen.

Phytochemie von Wirtspflanzen der Kirschfruchtfliege und Untersuchung der Substanzen im Biotest

Michael WINK¹, Frank SPORER¹, Kirsten KÖPPLER², Heidrun VOGT²

¹ Institut für Pharmazie & Molekulare Biotechnologie, Universität

Heidelberg

² JKI, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Dossenheim

Zu den Wirtspflanzen von *Rhagoletis cerasi* L. zählen Kirsche (*Prunus avium*) (Rosaceae) und Heckenkirsche (*Lonicera xylosteum*) (Caprifoliaceae). Da die Wirtspflanzen unterschiedlichen Familien angehören, stellt sich die Frage, ob die Früchte von Kirschen und Heckenkirschen gemeinsame flüchtige Sekundärstoffe aufweisen, die für Kirschfruchtfliegen-Weibchen attraktiv wirken und zur Eiablage ermuntern. Das angewandte Ziel liegt in der Fragestellung, ob man die gemeinsam vorkommenden Sekundärstoffe als Anlockungssubstanzen (z.B. in Ködern) einsetzen kann.

Zur Probengewinnung wurde ein konstanter Luftstrom 4 h lang mit 250 ml/min über Kirschen geleitet. Das Absaugen der Luft erfolgte über 5 g Aktivkohle, um die lipophilen Komponenten zu binden (Headspace Analytik). Die Aktivkohle wurde mit Dichlormethan eluiert, das Eluat auf 8–12 μ l eingengt und 50 ng/ μ l Tridecan als interner Standard zugesetzt. Aliquots wurden mittels Kapillar-GLC-MS analysiert. Untersucht wurden verschiedene Süß- und Sauerkirschen (Hedelfinger, Schattenmorellen, Erdi Bötermö) sowie Heckenkirsche, wobei unreife, halbreife und reife Kirschen mit oder ohne Blätter eingesetzt wurden. Zur GLC-MS-Analyse wurde eine HP 5980 II GLC mit OV-1 Säule (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m) und einem Temperaturprogramm von 30°C bis 300°C mit 4°C/min eingesetzt. Als MS fungierte ein Finnigan MAT SSQ 7000 Massenspektrometer. Die Substanzen wurden anhand ihrer Massenspektren Massenspektren (NIST-Bibliothek) und Kovats-Retention-Indices, sowie über authentische Reinsubstanzen identifiziert.

In Hedelfinger wurden 37, in Erdi Bötermö 10, in Schattenmorellen 17 und in Heckenkirschen 24 flüchtige Sekundärstoffe nachgewiesen. Substanzen die sowohl in Kirschen und Heckenkirschen auftraten sind in Tab. 1 angegeben. Interessanterweise wurde kein Benzaldehyd als Abbauprodukt der in beiden Pflanzenarten vorkommenden Cyanglucoside nachgewiesen. Ein Teil dieser gemeinsamen Wirkstoffe wurde in Biotests einzeln oder in Gemischen eingesetzt.

Zur Ermittlung eines geeigneten Biotests wurden zunächst Olfaktometeruntersuchungen (statisches und dynamisches Olfaktometer) durchgeführt. Dabei wurden Ammoniakverbindungen angeboten, die z.B. die Attraktivität von Gelbtafeln erhöhen. Desweiteren kam eine Futtermischung aus Trockenhefe und Zucker, Benzaldehyd sowie ein Kirschzweig mit Blättern und halbreifen Früchten zum Einsatz. Weitere Variationen in den Olfaktometeruntersuchungen bestanden in der unterschiedlichen Konzentration und Kombination der potentiellen attraktiven Stoffe sowie im Alter, Geschlecht, Ernährungszustand sowie Anzahl der Fliegen. In keinem der genannten Varianten konnte eine signifikante Reaktion der Fliegen nachgewiesen werden. Olfaktometertertests scheinen demzufolge ungeeignet für den