



Schlussbericht zum Thema

**Biologischer Pflanzenschutz als
Ökosystemleistung im
integrierten Kernobstanbau**

FKZ: 2811NA017

**Projektnehmer: Julius Kühn-
Institut**

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung
und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des
Deutschen Bundestages im Rahmen des
Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere
Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische und nachhaltige Land- und Lebensmittelwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖLN-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in Bonn in die Praxis umgesetzt. Das Programm untergliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder, den Forschungs- und den Informationsbereich.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter
www.bundesprogramm.de

Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft
Deichmanns Aue 29
53179 Bonn
Tel: 0228-6845-3280
E-Mail: boeln@ble.de

Schlussbericht

zum Vorhaben

Thema:

Demoapfel – Biologischer Pflanzenschutz als Ökosystemleistung im integrierten und ökologischen Kernobstanbau in Deutschland

Zuwendungsempfänger:

**Julius Kühn-Institut,
Institut für Biologischen
Pflanzenschutz
Heinrichstr. 243
64287 Darmstadt**



Förderkennzeichen:

2811NA017

Laufzeit:

15.05.2015 bis 31.12.2019

Monat der Erstellung:

07/2020



Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau
und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft

Projektleitung und Bearbeitung:

Dr. Annette Herz
Dr. Regina G. Kleespies
Dr. Dietrich Stephan
Carina Ehrich
Helen Pfitzner

Institut für Biologischen Pflanzenschutz
Julius Kühn-Institut
Heinrichstr. 243, 64287 Darmstadt
Email: annette.herz@julius-kuehn.de

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgte über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Kurzfassung

Zielsetzung des Projektes „Demoapfel“ war die Bewertung von Vorkommen, Diversität und Ökosystemleistungen natürlich vorhandener Gegenspieler (Parasitoide, Mikrosporidien, entomopathogene Pilze) von Hauptschädlingen wie dem Apfelwickler *Cydia pomonella* L. im integrierten und ökologischen Obstbau. Dazu wurden in den Jahren 2015 bis 2018 umfangreiche Freilandhebungen dieser Antagonisten in insgesamt 26 Obstanlagen in drei Hauptanbauregionen Deutschlands (Altes Land, Bodenseeregion, Kraichgau) durchgeführt. In zwei eng miteinander verknüpften Aktionsbereichen (**Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge** und **Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen**) wurden neben dem regionalen Vorkommen das saisonale Auftreten und ökologische Interaktionen dieser Organismen untersucht. In begleitenden Laboruntersuchungen erfolgte die taxonomische Einordnung von mehreren 1000 Arthropoda, die molekulare Bestimmung zahlreicher Pilzisolat und Prüfung ihrer Effektivität gegenüber Zielschädlingen sowie die Diagnose von Krankheitserregern des Apfelwicklers und ihrer Befallsraten in verschiedenen Populationen. Potenzielle Nebenwirkungen unverzichtbarer Pflanzenschutzmittel im Kernobstanbau auf die Leistung ausgewählter Antagonisten wurden ebenfalls überprüft.

Im **Teilprojekt 'Nützlinge'** wurde die Parasitoiden-Fauna in Obstanlagen mittels Klopf- und Kescherproben vor Ort und durch Aufsammlung und Durchzucht von Wirtsstadien erfasst. Extensive Streu- und Mostobstflächen wiesen in den Erhebungen höhere Abundanzen von Arthropoden in der Baumschicht im Vergleich zu intensiven IP- und Bio-Erwerbsobstanlagen auf. Besonders pflanzensaugende Taxa wie Blattläuse und Zikaden, die eine notwendige Nahrungsquelle für viele Nützlinge darstellen, traten hier zahlreich auf. Parasitoide und Spinnen waren in den Klopfproben von Flächen der strukturreichen bzw. obstbaudominierten Regionen „Bodensee“ und „Altes Land“ häufiger als in der von Ackerland geprägten Region im Kraichgau. Dies galt auch für die Parasitoiden-Fauna in der Krautschicht, die mit Kescherproben erfasst wurde. Die Ergebnisse legen nahe, dass sich unabhängig von der Bewirtschaftungsform Populationen dieser Gegenspieler in den Anlagen halten können und Effekte auf Bestandesdichte einer typischen „Obst-Fauna“ vor allem von Faktoren wie der Landschaftsstruktur und -umgebung oder die Verfügbarkeit von Nahrungs- und Rückzugsressourcen zu erwarten sind. Allerdings wiesen die Gemeinschaften der auf Familienniveau bestimmten Taxa in Bio-Tafelobstanlagen eine signifikante höhere Diversität auf als in integriert bewirtschafteten. Dies kann auf eine höhere Vielfalt von herbivoren Primärkonsumenten im Vergleich zu IP-Flächen zurückgeführt werden, da die im Bioanbau bevorzugt eingesetzten hochselektiven und wenig persistenten Pflanzenschutzmittel ihre Populationen nur gering und kurzfristig beeinträchtigen. Wichtige Parasitoide des Apfelwicklers kamen regelmäßig in allen drei Regionen vor. Die Ichneumonide *Trichomma enecator* trat auch in integrierten Tafelobstanlagen mit sehr geringer Wirtsdichte auf. Die Brackwespe *Ascogaster quadridentata* dominierte in extensiven Anlagen ohne chemische oder biologische Apfelwickler-Bekämpfung. Die Parasitierungsraten lagen im Durchschnitt bei 10 % und waren in Bio-Tafelobstanlagen am stabilsten. In Extensivflächen sind zwar mehr Parasitoide vorhanden, die sich aber bei rasch zunehmenden Wirtsdichten dort nicht schnell genug vermehren können. Die Brackwespe *A. quadridentata* wurde im Adultstadium nur für wenige Stunden kurzzeitig und bei direkter Exposition im Laborversuch durch Kontakt mit den Pflanzenschutzmitteln (PSM) Spruzit®Neu, Coragen® und Stulln® beeinträchtigt. Bei Kontakt mit im Freiland gealterten PSM-Spritzbelägen auf Plastikmaterial wurde die Überlebensrate adulter Brackwespen nicht reduziert. Dagegen war ihre Fähigkeit zur Wirtslokalisierung nach einer Behandlung der Wirtseier mit NeemAzal®T/S vollständig blockiert. Inundativ eingesetzte Nützlinge wie *Trichogramma*-Eiparasitoide

und entomopathogene Nematoden beeinträchtigen *A. quadridentata* als Endoparasitoid im Wirt, da bereits parasitierte oder erkrankte Wirtsindividuen sich nicht mehr für die Vermehrung des Parasitoiden eignen. Die wichtigen Apfelwicklerparasitoide *A. quadridentata*, *Pristomerus vulnerator* und *T. enecator* traten gut synchronisiert mit ihrem Wirt auf. *A. quadridentata* und auch *P. vulnerator* parasitieren Wirtseier und frisch geschlüpfte Junglarven; ihre Populationen werden vor allem dadurch beeinträchtigt, dass ihre Wirtsstadien durch effiziente, für eine Apfelwicklerbekämpfung optimierte (auch biologische) PSM abgetötet werden. *T. enecator* parasitiert etwas ältere Stadien und kann sich in überlebenden Wirten vermehren. Vorhandene Parasitoide lassen sich durch Verbesserungen der Habitatbedingungen wie Blühpflanzen sehr gut unterstützen, da diese Ressourcen zur Lebensverlängerung und höherer Parasitierungsleistung führen. Der Einsatz eines „Augmentoriums“ (d.h. Durchzucht parasitierter Wirtsstadien vor Ort im Freiland mit anschließend gezielter Freilassung der Parasitoide, aber nicht der Schädlinge) ist vielleicht in Streu- oder Mostobstwiesen eine interessante Methode zur Anreicherung von Nützlingspopulationen bei gleichzeitiger Reduktion der Apfelwickler. Diese Möglichkeit sollte noch weiter erforscht werden, ebenso wie die Frage, ob eine räumliche Vernetzung von Intensivobstanlagen mit weniger intensiv bewirtschafteten Produktionsformen wie Mostobst- und Streuobstanlagen eine Förderung der Insektenwelt in der Kulturlandschaft allgemein und damit auch von spezifischen Gegenspielern der Schädlinge mit sich bringen kann. Allerdings muss auch untersucht werden, ob dadurch nicht ungewollt auch ein vermehrtes Aufkommen besonders kritischer Schädlinge wie dem Apfelwickler gefördert wird.

Ziel des **Teilprojektes 'Antagonistische Mikroorganismen'** war es, die Ökosystemleistung insektenpathogener Mikroorganismen und im Speziellen insektenpathogener Pilze anhand ihres Vorkommens, ihrer Wirksamkeit und ihrer Persistenz besser bewerten zu können. Von besonderem Interesse sind hier der Vergleich der integrierten und biologischen Wirtschaftsweise und der Einfluss von Pflanzenschutzverfahren auf das Vorkommen von Insektenpathogenen im Apfelanbau. Zu Projektbeginn wurden Boden- als auch Pflanzenproben aus den unterschiedlichen Anbauregionen zu verschiedenen Jahreszeiten und auf Flächen mit unterschiedlicher Bewirtschaftungsform genommen. Es zeigte sich, dass mit den verwendeten Isolierungsverfahren von Pflanzenproben keine nennenswerte Anzahl insektenpathogener Pilze isoliert werden konnte. Aus Bodenproben konnten dagegen überraschend viele Pilze mit insektenpathogener Wirkung isoliert werden, so dass sich auf diese Probenkonzentration konzentriert wurde. Aufgrund der hohen Anzahl an isolierten Pilzen wurden die Untersuchungen auf das Vorkommen der drei wichtigsten insektenpathogenen Gattungen *Beauveria*, *Isaria* und *Metarhizium* beschränkt. Über 1.000 Pilzisolat konnten in die institutseigene Sammlung insektenpathogener Pilze überführt werden. Diese Pilze stehen für weitere Forschungsarbeiten zur Verfügung.

Diese systematische Erfassung insektenpathogener Pilze aus Bodenproben über einen längeren Zeitraum ist einzigartig und lässt einige wichtige Schlussfolgerungen zu:

In den untersuchten Apfelanlagen unterschieden sich das Vorkommen und das Artenspektrum insektenpathogener Pilze nicht zwischen den Jahreszeiten und den Jahren. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass sich Jahreszeiten nicht wesentlich auf das Vorkommen der Pilze auswirken. Mit dem hier verwendeten Isolationsverfahren wurde das qualitative Vorkommen insektenpathogener Pilze erfasst und es kann somit keine quantitative Aussage über das Pilzvorkommen gemacht werden.

Das Vorkommen insektenpathogener Pilze wies deutliche regionale Unterschiede bezüglich des Gattungs- und Artenspektrums auf. Pilze unterscheiden sich insbesondere hinsichtlich ihres Temperaturspektrums auf Gattungs- bis hin auf Stammebene. Es ist zu vermuten, dass sich bei einer langfristigen Veränderung der Bodentemperatur das Artenspektrum im Boden ändern wird.

Die gewonnenen Ergebnisse legen nahe, dass Bewirtschaftungsformen das Vorkommen insektenpathogener Pilze beeinflussen. Wurden alle Daten gemeinsam verrechnet, so war die Biodiversität insektenpathogener Pilze in den untersuchten Böden bei den biologisch bewirtschafteten Flächen am höchsten, gefolgt von Streu/Most-Flächen und am geringsten bei den IP-Erwerbsobstflächen. In einem weiteren Versuch, bei dem IP- und BIO- Betriebe einer Region in einem Jahr verglichen wurden, konnten dagegen keine statistisch signifikanten Unterschiede der Pilzvorkommen in Bezug auf die Wirtschaftsweise nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu den Gattungen *Beauveria* und *Metarhizium* beschränkte sich das Vorkommen der Gattung *Isaria* auf die Baumreihen. In der Fahrgasse mit einhergehender Bodenverdichtung konnte dieser Pilz nicht nachgewiesen werden. Wurde der Einfluss chemischer Pflanzenschutzmittel auf die Hemmung des Mycelwachstums ausgewählter Pilzstämmen in Laborversuchen untersucht, hemmten diese die Pilze unterschiedlich. Auch konnten Unterschiede zwischen den Pilzstämmen festgestellt werden. Des Weiteren zeigte ein getestetes Herbizid starken Einfluss auf das Mycelwachstum der ausgewählten Pilzstämmen. Wurden insektenpathogene Pilze gegen Larven des Apfelwicklers *Cydia pomonella* getestet, konnten Virulenzunterschiede auf Gattungs- und Artebene beobachtet werden. Wurde in Laborversuchen die Wirksamkeit ausgewählter Pilzstämmen gegen weitere Schad- und Nichtzielorganismen getestet, so konnte bei diesen Pilzen nur eine geringe Insektenpathogenität beobachtet werden.

Die Mikrosporidie *Nosema carpocapsae* trat beim Apfelwickler in allen drei Untersuchungsgebieten und –jahren auf, im „Alten Land“ jedoch nur selten. Im „Kraichgau“ und der Region „Bodensee“ wurden die mit diesem Pathogen infizierten Apfelwicklerindividuen etwa gleich häufig diagnostiziert (ca. 9 % bzw. ca. 10 %). Auffallend war dabei das erhöhte Vorkommen in Streuobstgebieten mit ca. 12 %. Dies galt auch für die Anzahl der an entomopathogenen Pilzen wie *Beauveria* spp. und *Isaria* spp. eingegangenen *C. pomonella*. Aus den diagnostischen Untersuchungen zu schließen, wurden parasitische Hymenopteren nach unseren Befunden in allen Untersuchungsgebieten und verschiedenen Bewirtschaftungsflächen nicht durch die natürlich vorkommenden mikrobiellen Antagonisten beeinträchtigt. Aus allen untersuchten Individuen war nur eine Infektion mit einem Mikrosporidium nachweisbar. Diese Ergebnisse legen nahe, dass Mikroorganismen ständig zur Reduktion von Apfelwickler-Schädlingpopulationen beitragen.

Summary

The objective of the project “Demoapfel” was to assess occurrence, diversity and ecosystem services of naturally existing specific antagonists (parasitoids, microsporidia, entomopathogenic fungi) in integrated as well as organically managed fruit growing farms. For this purpose, extensive field surveys of these antagonists were conducted between 2015 and 2018 in a total of 26 orchards in three main growing regions in Germany (Altes Land, Lake Constance region, Kraichgau). The research project focused on antagonists of major pests such as the codling moth *Cydia pomonella* L.. The phenology and ecological interactions of these organisms were investigated in addition to regional incidence. Research activities were assigned to Subproject A: “Beneficial arthropods” and Subproject B: “Antagonistic microorganisms”. Laboratory studies were carried out for the taxonomic classification of several 1000 arthropods, the molecular determination of numerous fungal isolates and testing of their effectiveness against target pests as well as the diagnosis of codling moth pathogens and their infestation rates in different populations. Potential side effects of essential plant protection products in pome fruit cultivation on the performance of selected antagonists were also investigated.

The parasitoid fauna was documented in orchards with different management systems in several regions of Germany over four years in the sub-project 'Beneficial arthropods'. Important parasitoids of codling moth (*Cydia pomonella* L.) with widespread and regular occurrence were identified. Extensively managed cider orchards and orchard meadows hosted higher abundances of arthropods in our surveys compared to intensively managed integrated or organic commercial orchards. Especially plant-sucking taxa such as aphids, leaf- and planthoppers, which are a necessary food source for many beneficial organisms, were found in larger numbers. Parasitoids and spiders in tree canopy samples were more frequent in structurally rich or orchard dominated landscapes of the fruit growing regions "Lake Constance" and "Altes Land" than in the arable land dominated region “Kraichgau”. This also applied to the parasitoid fauna in the herb layer, which was recorded by sweeping net samples. The results suggest that populations of these antagonists can persist in all systems, regardless of the type of management, and that effects on population density of a typical "orchard fauna" can be expected mainly from factors such as landscape structure or the availability of food and retreat resources. However, the parasitoid communities of taxa determined at family level showed a significantly higher diversity in organic fruit orchards than in those managed in an integrated way. This can probably be attributed to a higher diversity of herbivorous primary consumers in organic compared to IP-orchards, as their populations are only slightly and temporarily affected by the highly selective and low persistent plant protection products preferred in organic farming. Important parasitoids of codling moth were regularly found in all three regions. The ichneumonid *Trichomma enecator* also occurred in integrated orchards with extremely low host density. The braconid wasp *Ascogaster quadridentata* dominated in orchards without chemical or biological control of codling moths. Parasitism rates account to 10% on average and were most constant in organic farms. Although more parasitoids are present in cider orchards or orchard meadows, they cannot multiply fast enough to limit rapidly increasing host densities. Adult *A. quadridentata* were only briefly affected by contact with the pesticides Spruzit® Neu, Coragen® and Stulln® during direct exposure in laboratory tests. The survival rate of adult braconids was not reduced when exposed to field-aged sprayed pesticide coatings on plastic material compared to the control treatment. On the other hand, their ability to localize the host was blocked after treatment of the host eggs with NeemAzal®T/S. Biocontrol agents used inundatively, such as *Trichogramma* egg parasitoids and entomopathogenic nematodes, impair *A. quadridentata* as an endoparasitoid in the host, since host individuals already parasitized or infected are no longer suitable

for reproduction of the parasitoid. The important codling moth parasitoids *A. quadridentata*, *Pristomerus vulnerator* and *T. enecator* appeared well synchronized with their host. *A. quadridentata* and *P. vulnerator* parasitize host eggs and newly hatched juvenile larvae; their populations are mainly affected by the fact that their host stages are killed by efficient (also biological) plant protection products optimised for codling moth control. *T. enecator* parasitizes slightly older stages and can reproduce in surviving hosts. Existing parasitoids could be well supported by improvements in habitat conditions such as establishment of flowering plants, as these resources lead to longer survival and higher parasitic performance. The use of an "augmentorium" (i.e. breeding of parasitic host stages on site in the field with subsequent targeted release of the parasitoids but not of the pests) may be an interesting strategy in cider orchards or orchard meadows to enrich natural enemies while reducing codling moth populations. This possibility should be further explored, as well as the question whether a spatial network of intensive fruit orchards with less intensively managed production forms such as cider orchards and orchard meadows can bring about a promotion insect populations in general and thus also of specific pest antagonists without enhancement of critical pests such as codling moth.

The aim of the subproject 'Antagonistic Microorganisms' was to better evaluate the ecosystem services of insect pathogens such as entomopathogenic fungi and microsporidia based on their occurrence, effectiveness and persistence. Of interest here is the comparison of integrated and organic farming and the influence of plant protection methods on the occurrence of insect pathogens in apple cultivation.

With the selected isolation method, it was impossible to isolate high quantities of entomopathogenic fungi from plant tissues. However, the isolation from soil was surprisingly successful so that we focused on analysing soil samples. Based on the high numbers of isolated entomopathogenic fungi, we concentrated on the isolation of the most important entomopathogenic genera *Beauveria*, *Isaria* and *Metarhizium*. In total, more than 1.000 single spore strains were characterized and integrated into the strain collection of the Institute for Biological Control. These strains are an important part of the strain collection and are available for further public research activities.

The systematic collection of entomopathogenic fungi from soil samples over a longer period is unique. This systematic approach leads to the following conclusions:

Our results indicate that between the years and the seasons no clear differences in the natural species composition exist. Our method used is more a qualitative than quantitative isolation method. To answer the question whether the concentration of specific fungi are varying over the seasons and years, more specific investigations on strain level are needed. This information is important based on the dose response relation of entomopathogenic fungi and for a final description of the ecosystem service of specific fungal strains.

The occurrence of entomopathogenic fungi on genus and species level is highly influenced by the region. Further laboratory experiments underlined that fungi have different temperature optima. Therefore, further long-term studies should follow to investigate the influence of climatic changes on the species composition on selected plots.

Our results of the three-year study indicated that the management system might influence the occurrence of entomopathogenic fungi. When all the regional and time dependent data were analysed together, the biodiversity index was highest on organic orchards, followed by extensively managed cider orchards and intensively managed integrated orchards. However, within an additional survey on organic and integrated managed orchards within one region and one year, no statistical differences were observed.

Further analyses of the fungal distribution in selected plots suggest that the distribution of fungi may differ between the species and may be influenced by agricultural practise. In contrast to the genera *Beauveria* and *Metarhizium* the study indicates that the occurrence of the genus *Isaria* was limited to the tree row and was not found in the tramline. In laboratory experiments, the negative impact of chemical pesticides on entomopathogenic fungi was proven. However, the influence depended on the used active ingredient and the tested entomopathogenic fungus. One tested herbicide was strongly influencing the growth of the tested fungi.

When selected fungal strains were tested against additional pest- and non-target insects, only limited or rather no pathogenicity was achieved. Further investigations on the importance of entomopathogenic fungi in agro-ecosystems must be carried out for better analysing the ecosystem service of these fungi.

The Microsporidium *Nosema carpocapsae* occurred in all three study areas and years, but only rarely in "Altes Land". In "Kraichgau" and "Lake Constance", the codling moth individuals infected with this pathogen were diagnosed with approximately the same frequency (ca. 9 % and 10 %, respectively). The strong occurrence in orchard meadows was striking with about 12 %. This also applies to the number of killed *C. pomonella* by entomopathogenic fungi such as *Beauveria* spp. and *Isaria* spp. Inferring from the diagnostic tests, parasitic hymenoptera in all study areas and cultivation managements were not affected by the naturally occurring microbial antagonists. Only one infection with a microsporidium was detectable from all examined individuals. These results suggest that microorganisms are constantly contributing to the reduction of codling moth pest populations.

Inhaltsverzeichnis

I.	Einführung	15
	I.1 Gegenstand des Vorhabens	15
	I.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes	15
	I.3 Planung und Ablauf des Projektes	16
II.	Wissenschaftlicher und technischer Stand	19
III.	Zusammenarbeit mit anderen Stellen und Danksagung	22
IV.	Methoden und Ergebnisse	23
	IV.1 Auswahl der Versuchsbetriebe und Erhebungsflächen	23
	IV.2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge	31
	Inhaltsverzeichnis	31
	Tabellenverzeichnis	32
	Abbildungsverzeichnis	33
	IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen	63
	Inhaltsverzeichnis	63
	Tabellenverzeichnis	
	Abbildungsverzeichnis	
V.	Gesamtdiskussion und Aussichten für eine Verwertung der Projektergebnisse	103
VI.	Erkenntnisse von Dritten	105
VII.	Gegenüberstellung Ziele, weiterführende Fragestellungen	106
VIII.	Literaturverzeichnis	107
IX.	Veröffentlichungen	113
	Anhang	117
	Publikation „Obstbau“	
	Publikation „Agrargewerbe intern“	
	Merkblatt	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zeitlicher Ablauf der Forschungsaktivitäten im Projekt Demoapfel.	16
Tab. 2: Liste der geplanten Meilensteine im Forschungsplan des Projektes Demoapfel.	17
Tab. 3: Liste der geplanten Endergebnisse im Forschungsplan des Projektes Demoapfel.	18
Tab. 4: Angaben zur Beprobungsdauer und zur Lage der Versuchsflächen.	24
Tab. 5: Pflanzenschutzmittel und ihre durchschnittlichen Anwendungshäufigkeiten bei den beteiligten Betrieben.	28

Weitere Tabellen in den Ergebnisberichten der Teilprojekte

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Lage der Untersuchungsgebiete im Projekt Demoapfel	23
Abb. 2: Beispielhafte Landschaftsansichten aus den Erhebungsregionen	25
Abb. 3: Beispielhafte Ansichten der Obstanlagen am Bodensee und im Alten Land	27

Weitere Abbildungen in den Ergebnisberichten der Teilprojekte

Abkürzungsverzeichnis

Bio, IP, Ext: biologisch, integriert oder extensiv bewirtschaftet

GLMM: General Linear Mixed Model

LMM: Linear Mixed Model

MAM: minimal adäquates Modell

EPF: entomopathogenic fungi (insektenpathogene Pilze)

VE-Wasser: vollentsalztes Wasser

I. Einführung

I.1 Gegenstand des Vorhabens

Der Apfelanbau ist europaweit gesehen eine landschaftsdominierende Dauerkultur, deren Bewirtschaftung und dabei insbesondere der Einsatz von Pflanzenschutzmaßnahmen mögliche Effekte auf den Naturhaushalt in der Obstanlage selbst und auch in der umgebenden Landschaft haben kann. Dabei stellt vor allem die funktionelle Biodiversität wichtige Ökosystemleistungen wie Bestäubung und Schädlingsregulierung für eine nachhaltige und umweltfreundliche Erzeugung von Obst zur Verfügung. Zielsetzung des Forschungsvorhabens „Demoapfel“ war die Bewertung natürlich vorkommender Gegenspieler im Kernobstanbau hinsichtlich ihrer schädlingsregulierenden Funktion und, darauf aufbauend, die Entwicklung von Strategien für ihre sinnvolle und nachhaltige Erhaltung, Förderung und Nutzung. Im Fokus stand dabei der Gegenspielerkomplex des Apfelwicklers, *Cydia pomonella* L., als Hauptschädling in den verschiedenen Apfelanbauregionen Deutschlands.

I.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Die Gegenspieler des Apfelwicklers rekrutieren sich aus Wirbeltieren (Vögel, Insektenfresser), Invertebraten (Prädatoren, Schlupfwespen, Nematoden), Mikroorganismen und Viren. Spezifische Antagonisten finden sich hauptsächlich bei den Parasitoiden und entomopathogenen Viren, Bakterien und Pilzen. Auch wenn die auftretenden Organismen grundsätzlich bekannt sind, ist das Wissen über ihr tatsächliches Vorkommen in den verschiedenen Anbauregionen Deutschlands, die Beeinflussung ihrer Häufigkeit durch verschiedene Bewirtschaftungsformen sowie über ihre tatsächliche Leistung bei der Schädlingsregulierung unzureichend. Das durchgeführte Projekt sollte diese Wissenslücke schließen und durch eine mehrjährige Erhebung des Antagonistenspektrums in unterschiedlich bewirtschafteten Betrieben (integriert, ökologisch, extensiv) in verschiedenen Anbauregionen die erforderliche Datenlage dazu schaffen. Hierbei war eine enge Verknüpfung mit dem aus Mitteln des BMEL geförderten BLE-Projektes „Demonstrationsbetriebe integrierter Pflanzenschutz“ („Demo-IPS“, BLE-Förderkennzeichen FKZ 2810MD001) zielführend. Außerdem war es erforderlich, neben dem regionalen Vorkommen auch saisonales Auftreten und ökologische Interaktionen dieser Organismen zu untersuchen. Potenzielle Nebenwirkungen unverzichtbarer Pflanzenschutzmittel im Kernobstanbau sollten hinsichtlich einer Beeinträchtigung der Leistung dieser Gegenspieler bewertet werden. Aus der Ausarbeitung und Bewertung dieser Grundlagen wurden Handlungsanweisungen für die obstbauliche Praxis entwickelt. Des Weiteren lieferten die Ergebnisse Hinweise zur Förderung der biologischen Vielfalt, der Boden- und Pflanzengesundheit im Kernobstanbau. Damit tragen die Projektergebnisse zur Entwicklung stabiler Agrarökosysteme und naturverträglicher Anbaukonzepte für diese Sonderkultur bei und folgen damit den Zielen der Nationalen Biodiversitätsstrategie der Bundesrepublik Deutschland sowie des Nationalen Aktionsplanes zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln.

I.3 Planung und Ablauf des Projektes

Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge, Arbeitspakete (AP)

- AP A1. Vorkommen und Artenspektrum parasitoider Hymenoptera in Abhängigkeit von Anbausystem und Standort
- AP A2. Phänologie und Ökosystemleistung der Parasitoidengemeinschaft des Apfelwicklers
- AP A3. Kompatibilität mit Pflanzenschutzverfahren

Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen, Arbeitspakete (AP)

- AP B1. Vorkommen insektenpathogener Pilze (einschließlich Mikrosporidien) und anderer Pathogene in Abhängigkeit von Anbausystem und Standort
- AP B2. Einfluss von Pflanzenschutzverfahren auf insektenpathogene Pilze
- AP B3. Wirksamkeit insektenpathogener Pilze

Die Freilandhebungen zur Gewinnung von Versuchsmaterial wurden für Teilprojekt A und Teilprojekt B in gemeinsamer Arbeit durchgeführt. Dazu waren mehrere mehrtägige Versuchsfahrten pro Jahr in die jeweiligen Obstanbauregionen notwendig. Anschließend erfolgte die Aufarbeitung im Labor und ab 2017 erste ausführliche Datenanalysen (Tab. 1).

Tab. 1: Zeitlicher Ablauf der Forschungsaktivitäten im Projektes Demoapfel. Beginn war im April 2015. Die Freilandhebungen wurden 2018 abgeschlossen und das Material noch bis Ende 2019 ausgewertet.

	2015	2016	2017	2018	2019
Flächenauswahl					
Kommunikation Obstbauern, Demo-IPS					
Freilandhebungen					
Laboranalysen					
Datenanalysen					
Publikationen					
Präsentationen des Projektes					

Der Forschungsplan sah für jedes Teilprojekt bestimmte Zwischenergebnisse (Meilensteine), die das weitere Vorgehen modifizierten, und Endergebnisse vor. Eine Übersicht über die erreichten Meilensteine und Endergebnisse geben die Tab. 2 und Tab. 3.

Die Methoden zur Erfassung und Charakterisierung der Organismen sowie die anschließenden Analysen unterschieden sich sowohl im Freiland als auch im Labor sehr zwischen den beiden Teilprojekten und werden deshalb nach einer Einführung über die Erhebungsflächen, die von beiden Teilprojekten gemeinsam beprobt wurden, im Detail in den jeweiligen Kapiteln vorgestellt.

Tab. 2: Liste der geplanten Meilensteine im Forschungsplan des Projektes Demoapfel.

	Meilensteine	Erreicht?	Wann
Teilprojekt A: Nützlinge			
M1	Aufbau Laborzucht von mindestens einer Parasitoidenart: erfolgt (<i>Ascogaster quadridentata</i>)	ja	Ende 2015
M2	Liste der in IP-Betrieben bzw. Ökobetrieben verwendeten PSM (Fungizide, Insektizide)	teilweise	Ende 2018
M3	Erster Entwurf eines „Parasitoidenkalenders“ nach Daten aus Freilandhebungen und Labordaten zur Biologie der Parasitoide	ja	Mitte 2019 komplett
M4	Bewertung ausgewählter PSM hinsichtlich direkter Effekte auf 1 bis 2 Parasitoidenarten (frühes/spätes Wirtsstadium) im Laborversuch (Januar 2017)	ja	Anfang 2018
M5	Bewertung ausgewählter PSM hinsichtlich Freiland-Effekte auf 1 bis 2 Parasitoidenarten (Oktober 2017)	teilweise	Anfang 2018
M6	Laborzucht einer weiteren Parasitoidenart (späteres Wirtsstadium) (<i>Lyotryphon caudatus</i>)	ja	2016
M7	Bewertung Interaktion <i>Trichogramma</i> und systeminterne Parasitoide im Laborversuch	ja	2016
M8	Bewertung entomopath. Pilze - systeminterne Parasitoide hinsichtlich direkter Effekte im Laborversuch (März 2018)	Teilprojekt B	
M9	Bewertung Interaktion entomopathogene Nematoden und systeminterne Parasitoide im Laborversuch (Mai 2017)	ja	2016
M10	Bewertung <i>Trichogramma</i> /entomopathogene Nematoden/Pilze im Freiland-Modellversuch (Oktober 2017)	teilweise	2017
Teilprojekt B: Mikroorganismen			
M1	Die Auswahl der Betriebe ist erfolgt	Ja	Herbst 2015
M2	Publikation über Auswirkungen von Pflanzenschutzverfahren auf insektenpathogene Pilze ist erstellt	teilweise	2016, 2017, 2018
M3	Publikation über Wirksamkeit insektenpathogener Pilze gegenüber Apfelwicklern und auf ausgewählte Nützlinge ist erstellt	teilweise	2016, 2017, 2018
M4	Zwischenberichte bzw. Endbericht	Ja	2016, 2017, 2018, 2020

Tab. 3: Liste der geplanten Endergebnisse im Forschungsplan des Projektes Demoapfel.

Ergebnisse	Erreicht?	Wann
Nahrungsnetz um Apfelwickler im Vergleich in Öko- und IP-Betrieben	teilweise	2019
Darstellung der Diversität/Struktur der Parasitoidengemeinschaft des Apfelwicklers in unterschiedlichen Anbauregionen	ja	2019
Parasitoiden-Kalender (aktualisiert über vier Jahre)	ja	2019
Bewertung der Ökosystemleistungen der Schlüsselarten der Apfelwickler-Parasitoide und ihrer Interaktionen	ja	2019
Handlungsschema für nützlicherschonenden Einsatz von PSM	teilweise	2019
Ergebnisdarstellung bei den Feldtagen der Demonstrationsbetriebe. Ersatzweise bei den Ökofeldtagen vorgestellt.	teilweise	2017
Projektendbericht	ja	2020
Publikationen zu den einzelnen Fragestellungen	teilweise	2018-20xx
Erstellung eines Merkblattes als Handlungshilfe für die Praxis.	ja	2020

II. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Der Apfelanbau ist eine landschaftsdominierende Dauerkultur und besitzt ein besonderes ökonomisches Potential (Thünen-Institut 2018). Dabei ist besonders die Verbrauchernachfrage nach ökologisch produziertem Obst steigend (Weibel et al. 2013). Gleichzeitig besitzen umweltschonende Produktionsverfahren in dieser Dauerkultur eine hohe Bedeutung für den Erhalt und die Förderung der biologischen Vielfalt, sowohl in den Anlagen als auch in der umgebenden Landschaft (Simon et al. 2010). Neben der Bestäubung der Kulturpflanze sind weitere Elemente der so genannten funktionellen Biodiversität elementar wichtig für die Schädlingsregulierung im Kernobstanbau. So sind wirbellose Nützlinge als natürliche Gegenspieler wesentliche Bausteine für den Pflanzenschutz im ökologischen Kernobstanbau. Die Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates über einen Aktionsrahmen der Gemeinschaft für den nachhaltigen Einsatz von Pflanzenschutzmitteln (Directive 2009/128/EC) fordert die Mitgliedsstaaten auf, die Entwicklung und Einführung des integrierten Pflanzenschutzes sowie alternativer Methoden oder Verfahren zu fördern, um den Einsatz von chemischen Wirkstoffen auf das notwendige Maß zu beschränken. Die Regulierung von Schädlingen durch natürliche Gegenspieler als Ökosystemleistung wird dabei als wesentlicher Baustein eines Gesamtkonzeptes für den Integrierten Pflanzenschutz betrachtet. Alternative Anbauverfahren mit geringer Pflanzenschutzmittelanwendung haben Priorität. Biologische Methoden sind zu entwickeln bzw. zu optimieren. Eine Schonung und Förderung von im Ökosystem autochthon vorkommenden Nutzorganismen soll die natürliche Regulation von Schädlingen aktivieren und dauerhaft sicherstellen. Es ist davon auszugehen, dass die konkrete Bewirtschaftungsform (integriert, ökologisch, extensiv) wesentliche Auswirkungen auf das Vorkommen derartiger Nutzorganismen und ihr Potential für eine Schädlingsregulierung hat. Integrierte wie ökologische Anbauprinzipien zielen prinzipiell auf die Erhaltung der von diesen Organismen erbrachten Ökosystemleistung ab. Der Apfelwickler (*Cydia pomonella*) ist der Hauptschädling im Kernobstanbau. In der Vergangenheit traten in mehreren Regionen Deutschlands wiederholt Probleme bei der Apfelwickler-Bekämpfung auf. So wurden Mitte der 2000er Jahre trotz Anwendung aller zur Verfügung stehenden Insektizide, des Apfelwickler-Granulovirus und der Verwirrungstechnik sowie bei einer engen Spritzfolge mit bis zu 8-10 Anwendungen Fruchtbefall bis zu 30% gemeldet (Litterst et al. 2006). Im integrierten Anbau verbesserte sich die Bekämpfung erst nach Zulassung von Pflanzenschutzmitteln auf der Basis eines neuen Wirkstoffes (Chlorantraniliprole). Für den ökologischen Kernobstanbau verschärfte sich die Situation, da bei den Präparaten auf der Basis des Apfelwickler-Granulovirus über die Resistenzen einzelner Apfelwicklerpopulationen berichtet wurde (Fritsch et al. 2005, Schmitt et al. 2013). Trotz guter Erfolge bei der Neuentwicklung resistenzbrechender Isolate treten daher aber auch in jüngster Zeit wieder resistente Apfelwicklerpopulationen in Deutschland auf (Jehle et al. 2016). Die biotechnische Bekämpfung mittels der Verwirrungsmethode greift nur bei geringem Befallsdruck und erfordert als kostenintensive Maßnahme i.d.R. eine finanzielle Unterstützung durch Förderprogramme (Trautmann 2008). Diese Situation hat den Bedarf an neuen oder kombinierten Bekämpfungsverfahren und z.B. auch den möglichen Einsatz weiterer Insektenpathogene aufgezeigt (Cross et al. 1999a, 1999b, Siegel et al. 2001, Charmillot und Pasquier 2003, Lacey und Shapiro-Ilan 2008). Die Integration verschiedener Maßnahmen ist deshalb in Zukunft für ein konsequentes Resistenzmanagement von Apfelwicklerpopulationen unerlässlich. In den letzten Jahren und auch aktuell beschäftigen sich mehrere Forschungsvorhaben in Deutschland mit der Entwicklung von Alternativen bei der Bekämpfung des Apfelwicklers und anderer Schädlinge im Kernobstanbau (DBU-Projekt: „Erarbeitung einer Kombinationsstrategie mit verschiedenen biologischen Verfahren zur Reduktion des Insektizideinsatzes gegen den Apfelwickler (AZ23940)“; BLE-Projekt: „Einsatz von *Trichogramma*

Schlupfwespen gegen den Apfelwickler“; BÖLN-Projekt: „Entwicklung von Resistenz- und Virulenzmanagement-Strategien beim Apfelwicklergranulovirus im ökologischen Obstbau (2017-2022, FKZ 2815OE112)“; BÖLN-Projekt: „Erarbeitung von Bausteinen zur Optimierung der Regulierung der Apfelsägwespe, der Rotbeinigen Baumwanze und von Schalenwicklern und optimale Integration in die Gesamtstrategie zur Insektenregulierung im Ökologischen Kernobstanbau (2017-2022, FKZ 2815OE074)“.

Des Weiteren befasste sich das von der BLE geförderte Verbundforschungsprojekt (Nr.06OE198, 06OE057 und 06OE348) „Evaluierung und Optimierung biologischer Verfahren zur Regulierung des Pflaumenwicklers (*Cydia funebrana*) und der Monilia-Krankheit im ökologischen Steinobstanbau“ auch mit der Übertragbarkeit der Ergebnisse zum Einsatz insektenpathogener Pilze auf den Apfelwickler. Hier zeigte sich gerade der insektenpathogene Pilz *Isaria fumosorosea* auch gegen den Apfelwickler als besonders erfolgversprechend.

Das Konzept des ökologischen und auch des integrierten Pflanzenschutzes fordert auch die Verwirklichung präventiver Maßnahmen vor der Anwendung kurativer (auch biologischer) Bekämpfungsverfahren (Zehnder et al. 2006, Cross 2002). Die Basis dieses Konzeptes, der so genannte „Ökosystem-Service“, wird teilweise noch unzureichend in der obstbaulichen Praxis berücksichtigt. Doch wird ein effektiver Antagonistenkomplex gerade für die Regulierung von Apfelwickler-Populationen, auch im Rahmen eines Resistenzmanagements, immer wichtiger. Dies gilt auch für andere, wichtige Schädlinge im Kernobstanbau, z.B. dem Apfelschalenwickler (*Adoxophyes orana*). Der Apfelwickler besitzt eine vielfältige Gemeinschaft an spezifischen Parasitoiden aller Entwicklungsstadien (Cross et al. 1999b, Athanassov et al. 1997, Diaconu et al. 2000, Tschudi-Rein et al. 2004). Neben der Gattung *Trichogramma* sind hochspezialisierte Arten bekannt, die das Vermehrungspotential des Apfelwicklers wesentlich beeinflussen (Cross et al. 1999b), wie z.B. die Brackwespe *Ascogaster quadridentata*. Nach Mani et al. (1986) erreichte z.B. die Ichneumonide *Pimpla turionella* Parasitierungsraten bis zu 56 % bei Apfelwicklerpuppen, nach Mills (2005) wurden nach der Freilassung von *Mastrus ridibundus* in ungespritzten Anlagen in Kalifornien bis zu 70 % der überwinterten Stadien parasitiert. In Neuseeland erzielte *A. quadridentata* Parasitierungsraten von über 30 % in unbehandelten Obstanlagen (Suckling et al. 2002). Daten über das Vorkommen dieser Arten und ihre Leistung in den Hauptanbauregionen von Kernobst in Deutschland beschränken sich auf stichprobenartige Erhebungen, die allerdings schon mehrere Jahrzehnte zurückliegen (Zech 1959, Lehmann 1967, Dickler 1986, Athanassov et al. 1997). Nur wenig ist daher über Phänologie, das Wirtsspektrum und weitere wichtige biologische Daten dieser Arten in der aktuellen Situation, auch im Hinblick auf die moderne Kulturführung im Obstbau, bekannt. Ebenso ist bisher nicht analysiert worden, welche diese Arten als spezifische Latenzparasitoide einzustufen sind, die - im Gegensatz zu opportunistischen Generalisten - auch bei geringen Wirtsdichten wirksam sein können. Der Einsatz wenig selektiver Pflanzenschutzmittel (PSM) ohne Kenntnis über die Aktivitätsphasen dieser Nützlinge könnte deren Populationsentwicklung stören und ihre Effektivität langfristig herabsetzen.

Einzelne Krankheitserreger von *C. pomonella*, wie die Pilze *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, das Bakterium *Bacillus thuringiensis*, die Mikrosporidie *Nosema carpocapsae* oder Nematoden der Gattung *Steinernema*, wurden bereits früher im Rahmen einer mikrobiologischen und integrierten Bekämpfung erprobt (Cross et al. 1999a, Siegel et al. 2001, Lacey und Shapiro-Ilan 2008, Stephan 2012). Doch obwohl der Apfelwickler der bedeutendste Schädling im Apfelanbau ist, liegen nur wenige ökologische Untersuchungen über insektenpathogene Mikroorganismen und ihre Bedeutung als Mortalitätsfaktoren in Apfelwicklerpopulationen vor (Huger 1976, Subinprasert 1987, Zimmermann

und Weiser 1991, Cross et al. 1999a, Zimmermann et al. 2013). Abaajeh und Nchu (2015) konnten mit Hilfe von Köderinsekten aus südafrikanischen Apfelanlagen insektenpathogene Pilze isolieren. Die dominierende Art war in diesen Untersuchungen *Metarhizium robertsii*. Alle 39 identifizierten Pilze waren gegenüber dem Apfelwickler *C. pomonella* Larven (L₅) pathogen.

In diesem Zusammenhang fehlen auch genaue Studien über die Ursachen der Sterblichkeit während der Überwinterung diapausierender Larven, wobei Pathogene hier ebenfalls eine wichtige Rolle spielen können (Glen & Milsom, 1978). So geben z.B. Zelger et al. (2006) in ihren Versuchen eine Wintermortalität von 20 % bis 37 % an. Daten zur Bedeutung autochthon im Kultursystem vorhandener, mikrobieller Antagonisten als natürliche Mortalitätsfaktoren des Apfelwicklers und zu deren Ökosystemleistung fehlen. Mögliche Antagonisten, die dabei isoliert werden, könnten für die Weiterentwicklung biologischer Methoden im Kernobstbau genutzt werden, auch in Zusammenarbeit mit Firmen, die mikrobiologische Produkte entwickeln.

Der in zahlreichen wissenschaftlichen Untersuchungen belegte Verlust der biologischen Vielfalt (EASAC 2015, IPBES 2018) und alarmierende Befunde über einen globalen Schwund an Insekten (z.B. Review in Sánchez-Bayo und Wyckhuys 2019) haben den Fokus aktuell stark auf Maßnahmen zum Erhalt und zur Förderung von Biodiversität in der Agrarlandschaft gerückt (Stichwort: Aktionsprogramm Insektenschutz der Bundesregierung (BMU 2019). Vor Einführung von Richtlinien des Integrierten Pflanzenschutzes im Obstbau (z.B. IOBC 2002) war eine nachhaltige Obstproduktion durch den Einsatz wenig selektiver Pestizide mit Terminierungen nach dem Kalender infolge eines Verlustes funktioneller Biodiversität und essenzieller Ökosystemleistungen wie Bestäubung und Schädlingsregulierung stark gefährdet. Durch konsequente Anwendung eines Managements nach integrierten Prinzipien wurde die Situation in den letzten Jahrzehnten deutlich verbessert, wobei weitere Optimierungsmöglichkeiten, z.B. in dem vom BMEL geförderten Modellprojekt „Demonstrationsbetriebe Integrierter Pflanzenschutz“ (<https://demo-ips.julius-kuehn.de/>), angestrebt werden. Der ökologische Anbau vertraut auf umweltfreundliche und hochselektive Pflanzenschutzmethoden und setzt z.B. auf mechanische Methoden bei der Beikrautregulierung und Maßnahmen zur Erhaltung der Bodengesundheit, wodurch oft eine weniger intensive Kulturführung und verbesserter Schonung des Naturhaushaltes erzielt wird (Sanders und Heß 2019). Dies gilt in besonderem Maße auch für den ökologischen Obstbau (Simon et al. 2017). Natürlich vorkommende Nützlinge wie Parasitoide und Insektenpathogene könnten direkt von einer schonenderen Bewirtschaftungsweise profitieren. Ihr Vorkommen und ihre Zahl sind wichtige Indikatoren für die Ökosystemdienstleistung „Schädlingsregulierung“ und das Vorkommen bestimmter Wirtsarten. Vergleichende Untersuchungen über den Bestand und die Diversität dieser spezifischen Gegenspieler (Parasitoide und Insektenpathogene) in unterschiedlich bewirtschafteten Systemen sind selten und fehlen für die wichtigsten Anbauregionen Deutschlands. Diese Kernfrage sollte im Rahmen des Projektes „Demoapfel“ durch mehrjährige Erhebungen beantwortet werden.

III. Zusammenarbeit mit anderen Stellen und Danksagung

Die Durchführung unseres Projektes sowie die Auswahl unserer Erhebungsflächen erfolgt in enger Abstimmung mit den Verantwortlichen des vom BMEL geförderten Modellprojektes „Demonstrationsbetriebe Integrierter Pflanzenschutz – Demo-IPS“ (<https://demo-ips.julius-kuehn.de/>), der Landwirtschaftskammer Niedersachsen, dem Kompetenzzentrum Obstbau-Bodensee Bavendorf sowie der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V.. Zielsetzung und Arbeitsplan des Projektes Demoapfel wurde Vertretern der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. und Kolleginnen und Kollegen aus dem EU-Projekt Ecofruit bei einer Informationsveranstaltung am 6. Februar 2015 am JKI Darmstadt vorgestellt. Auf diesem Treffen aufbauend entwickelte sich auch eine Zusammenarbeit mit der TU-Darmstadt. Außerdem wurde das Projekt bei einem Arbeitstreffen des Demo-IPS-Projektes in Berlin am 18./19. März 2015 in Berlin präsentiert und für Zusammenarbeit geworben.

Erfreulicherweise sind wir dann auf großes Entgegenkommen bei allen Demo-IPS-Betreuern vor Ort und natürlich allen beteiligten Obstbauern gestoßen, wofür wir uns an dieser Stelle ganz herzlich bedanken möchten. Besonderer Dank gilt auch für die Bereitschaft der Demobetriebe, uns Zugang zu den Daten zu ihren Pflanzenbehandlungsplänen zu gewähren. Bei Frau Dr. Annett Gummert und ihren Kolleginnen und Kollegen vom Julius Kühn-Institut, Institut für Strategien und Folgenabschätzung im Pflanzenschutz, Kleinmachnow, möchten wir uns dafür bedanken, dass sie uns ihre Tabellen zu den Spritzbehandlungen der beteiligten Demobetriebe zur Verfügung gestellt haben. Auch für die Informationen zum Einsatz von Pflanzenschutzmitteln bei einigen Öko-Betrieben danken wir den Betriebsleitern ganz herzlich. Allen Obstbauern im Alten Land, im Kraichau, Saarland, Südhessen und am Bodensee sei gedankt für die Erlaubnis, die Erhebungen in den Betrieben durchführen zu können und uns bei der Arbeit vor Ort so großzügig und tatkräftig zu unterstützen. Danken möchten wir auch Herrn Burkard Wolff, in dessen Apfelanlagen ein Versuch zur Regulierung von Engerlingslarven durchgeführt werden konnten.

Wir danken außerdem dem Team der Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaft (BLE) für die großzügige und langjährige Unterstützung dieses Forschungsvorhabens im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

IV. Methoden und Ergebnisse

IV.1 Auswahl der Versuchsbetriebe und Erhebungsflächen

Die Erhebungen für Teilprojekt A und Teilprojekt B wurden auf denselben Flächen/Apfelanlagen durchgeführt, d.h. die Stichprobenkulisse war für den Hauptteil der Erhebungen identisch. Diese erfolgten bei gemeinsamen Dienstreisen der Projektmitarbeiter in drei verschiedene Anbauregionen (Bodensee, Kraichgau, Altes Land). Die Standortwahl entstand in Zusammenarbeit mit der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V., Beratern der Pflanzenschutzdienste der Länder und den Verbundpartnern des vom BMEL geförderten Modellprojektes „Demonstrationsbetriebe Integrierter Pflanzenschutz“ (<https://demo-ips.julius-kuehn.de/>). Die Auswahl der Flächen vor Ort orientierte sich an der herrschenden Apfelwickler-Problematik. Auf Grund der Region, der unterschiedlichen Bewirtschaftungsweise und der Lage bzw. Struktur war eine Heterogenität bezüglich Sorten, Größe und Alter der Probeflächen nicht zu vermeiden. In Absprache mit den lokalen Betreuern des Demo-IPS-Projektes wurden die IP-Erhebungsflächen meist so gewählt, dass sie nicht direkt mit den Probeflächen des Demo-IPS-Projektes interferierten. Im Jahr 2015 wurden insgesamt acht Probeflächen im Raum Bodensee (2 IP, 3 Bio, 2 Streuobst, 1 Most), acht Probeflächen im Alten Land (3 IP, 4 Bio, 1 Most) und sechs Flächen im Kraichgau (3 IP, 1 Bio, 2 Streuobst) ausgewählt (Tab. 4). Allerdings fielen im Laufe der Projektjahre einige Flächen weg, andere kamen hinzu. Im Teilprojekt A wurden weitere Beprobungen (Wellpappeausbringungen) im Raum Südhessen und im Saarland durchgeführt (Abbildung 1). Zusätzlich wurden im Teilprojekt B im Raum Bodensee im Jahr 2016 in Zusammenarbeit mit der Technischen Universität Darmstadt Bodenproben in weiteren 44 Anlagen (15 IP, Sorte Braeburn; 15 Bio, Sorte Braeburn, 14 Bio, Sorte Topaz) entnommen. Hierbei handelte es sich um Flächen, die im Rahmen des EU-Projektes „EcoFruit“ (Projekt Nr. BiodivERSa-FACCE2014) beprobt wurden.

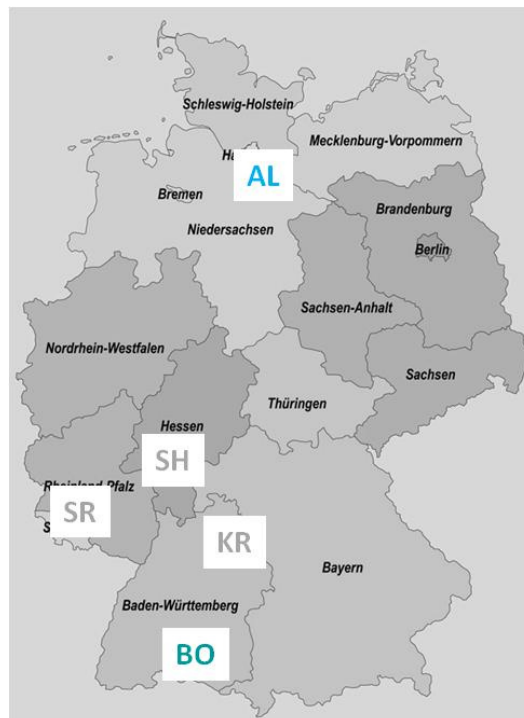


Abb. 1: Lage der Untersuchungsgebiete im Projekt Demoapfel: AL: Altes Land bei Hamburg, BO: Bodenseeregion, KR: Kraichgau, SH: Südhessen, SR: Saarland.

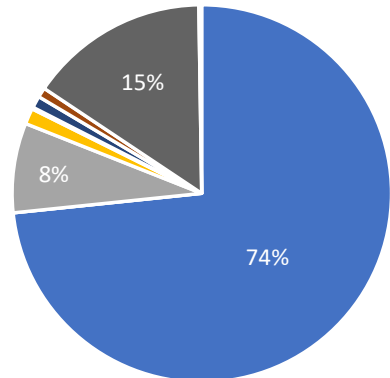
Tab. 4: Angaben zur Beprobungsdauer und zur Lage der Versuchsflächen der drei Erhebungsregionen „Altes Land (AL)“, „Bodensee (BO)“ und „Kraichgau (KR)“ im Projekt Demoapfel. Auf den Flächen im Saarland (SL) und Südhessen (SH) wurden nur Wellpappen an Apfelbäumen ausgebracht und keine weiteren Proben genommen.

ID-Fläche	Region	Management	Beprobung	Koordinaten	
				Breite	Länge
AL_1	Altes Land	Ext - Mostobst	2015-2018	53,6508	9,3025
AL_2	Altes Land	Bio - Mostobst	2015-2016	53,5280	9,7485
AL_3	Altes Land	Bio - Tafelobst	2015-2018	53,5419	9,7474
AL_4	Altes Land	Bio - Tafelobst	2015-2018	53,5419	9,6733
AL_5	Altes Land	Bio - Tafelobst	2015-2018	53,5283	9,8528
AL_6	Altes Land	IP - Tafelobst	2015-2018	53,5418	9,6055
AL_7	Altes Land	IP - Tafelobst	2015-2018	53,5231	9,6475
AL_8	Altes Land	IP - Tafelobst	2015-2018	53,5003	9,8743
BO_1	Bodensee	Bio - Tafelobst	2015-2018	47,6195	9,5710
BO_2	Bodensee	Bio - Tafelobst	2015-2018	47,6688	9,5457
BO_3	Bodensee	Bio - Tafelobst	2015-2018	47,7217	9,5048
BO_4	Bodensee	Ext - Mostobst	2015-2018	47,7230	9,5076
BO_5	Bodensee	IP - Tafelobst	2015-2016	47,6009	9,6018
BO_6	Bodensee	IP - Tafelobst	2015-2018	47,7943	9,2480
BO_7	Bodensee	Ext - Streuobst	2015-2018	47,7936	9,2483
BO_8	Bodensee	Ext - Streuobst	2015-2016	47,7629	9,1755
KR_1	Kraichgau	IP - Tafelobst	2015-2018	49,3716	8,6682
KR_2	Kraichgau	IP - Tafelobst	2015-2018	49,0097	8,6259
KR_3	Kraichgau	IP - Tafelobst	2015-2018	48,9861	8,5273
KR_4	Kraichgau	Bio - Tafelobst	2016-2018	49,3058	8,7476
KR_5	Kraichgau	Bio - Tafelobst	2015-2018	49,3060	8,7613
KR_6	Kraichgau	Ext - Streuobst	2015-2018	49,3652	8,6602
KR_7	Kraichgau	Ext - Streuobst	2015-2018	49,3014	8,7509
KR_8	Kraichgau	Ext - Streuobst	2015-2018	48,9857	8,5269
SL	Saarland	Bio-Tafelobst	2016-2018	49,3681	6,8466
SH	Südhessen	Ext-Streuobst	2015-2018	49,8511	8,7537

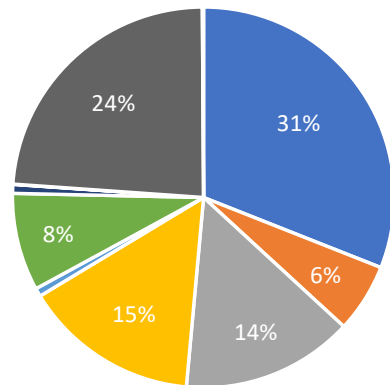
Die Flächen gehörten vier verschiedenen bodenklimatischen Regionen an: Altes Land (AL), Rhein-Main-Tiefland-Gebiet (KR, SH) und Saarland (SL), Bodensee (BO) (Roßberg et al. 2007). Außerdem sind diese Obstanbauregionen in ihrer Struktur durch regional-räumliche Faktoren deutlich unterschiedlich (Abbildung 2 und Abbildung 3).



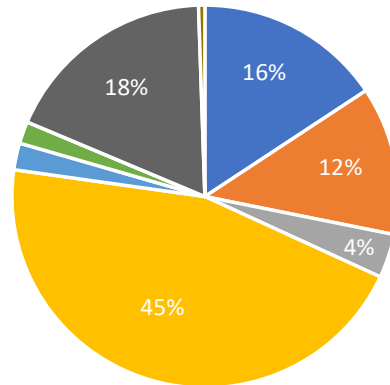
Altes Land



Bodensee



Kraichgau



- | | | | | |
|------------|-------------|------------|-------------|------------------|
| ■ Sonderk. | ■ Streuobst | ■ Grünland | ■ Ackerland | ■ Gehölz |
| ■ Wald | ■ Wasser | ■ Unland | ■ Siedlung | ■ Verkehrsfläche |

Abb. 2: Beispielhafte Landschaftsansichten aus den Erhebungsregionen „Altes Land“, „Bodensee“ und „Kraichgau“ sowie die durchschnittlichen prozentualen Anteile verschiedener Landschaftselemente in 500 m Umkreis der jeweiligen Untersuchungsflächen pro Region.



Abb. 3: Beispielhafte Ansichten der Obstanlagen am Bodensee (BO) und im Alten Land (AL) für die Bewirtschaftungssysteme „Bio“, „IP“ und „Ext“. Am Bodensee besitzen viele Erwerbsobstanlagen Hagelschutznetze. Die Extensiv-Anlagen weisen den typischen Charakter von Streuobstwiesen auf (am Bodensee) oder sind als Mostobstanlagen in Betrieb mit Niedrigstämmen und häufigerer Mahd (rechts im Alten Land).

Alle ausgewählten IP-Betriebe waren im Demo-IPS-Projekt aktiv und der eingesetzte Pflanzenschutz orientierte sich daher maßgeblich an den dort getroffenen Vorgaben während der Projektlaufzeit. Die Daten über die Pflanzenschutzmittelanwendungen waren vom JKI, Institut für Strategien- und Folgeabschätzung, in Kleinmachnow für das Demo-IPS-Projekt erhoben worden und wurden

dankenswerterweise mit Genehmigung der betroffenen Betriebe auch an das Demoapfel-Projekt weitergegeben. Bezüglich der Pflanzenschutzanwendungen in den beteiligten Bio-Betrieben war es möglich, von drei Betrieben konkrete Angaben über die verwendeten Mittel und Anwendungshäufigkeiten zu erhalten. Aus diesen Daten wurde eine Übersicht erstellt (Tab. 5), die auf den Anwendungen über vier Jahre (im Fall der IP-Betriebe) und über zwei Jahre (im Fall einzelner Bio-Betriebe) beruht. Auf Grund der lückenhaften Datenlage war es nicht möglich, einen flächenbezogenen Behandlungsindex für die einzelnen Erhebungsflächen zu erstellen und diesen, wie ursprünglich geplant, zur Bewertung der Flächen sowie der erfassten Antagonisten-Gemeinschaften heranzuziehen. Die IP-Betriebe setzten zahlreiche diverse Akarizide, Fungizide und PSM zur Bekämpfung des Apfelwicklers und anderer Schädlinge ein. Allerdings wurden viele PSM nur in bestimmten Jahren mit einer besonderen Schaderregersituation benutzt. Vor allem aber wurden regelmäßig Glyphosat-haltige Herbizide eingesetzt. Für den Öko-Obstanbau stehen weniger Wirkstoffe zur Verfügung (föko e.V. 2020), und so wurden von den Bio-Betrieben insgesamt weniger Präparate angewendet. Bestimmte PSM wurden im Splittingverfahren ausgebracht, was sich in einer relativ hohen Anwendungshäufigkeit (> 3x/Jahr für Kupferhydroxid und CpGV) widerspiegelt.

Tab. 5: Pflanzenschutzmittel und ihre durchschnittlichen Anwendungshäufigkeiten bei den beteiligten Betrieben. Es wurden nicht von allen Betrieben Daten genannt bzw. ausgewertet. Die hier dargestellte Zusammenfassung beruht auf den Angaben von sechs IP-Betrieben (2x Bodensee, 1x Kraichgau, 3 x Altes Land, im Rahmen des Demo-IPS-Projektes) für die Jahre 2015 bis 2018 und drei Bio-Betrieben mit je einem Betrieb pro Region für die Jahre 2015 und 2016. Das Mittel ist jeweils weniger als einmal pro Jahr (< 1x), einmal bis maximal dreimal (je nach Indikation) pro Jahr (1x-3x) oder mehr als dreimal pro Jahr (> 3x) appliziert worden. Aufwandmengen sind nicht mit einbezogen. Die im Projekt beprobten Flächen entsprechen nicht unbedingt den Schlägen, für die die Angaben gemacht wurden.

	Wirkstoff	Produkte	IP	Bio
Akarizid	Acequinocyl	Kanemite SC	<1	0
	Fenpyroximat	Kiron	<1	0
	Paraffinöl	Para Sommer, Promanal Neu	<1	<1x
	Schwefel	Kumulus WG	1x-3x	0
Fungizid	Captan	Malvin WG, Merpan 80 WDG, Consist Plus (+Trifloxystrobin)	>3	0
	Cyprodinil	Chorus	<1	0
	Difenoconazol	Score	<1	0
	Dithianon	Delan WG, Maccani (+Pyraclostrobin), Faban (+Pyrimethanil)	>3	0
	Dodin	Syllit	1x-3x	0
	Fludioxonil	GEOXE, Switch (+Cyprodinil)	<1	0
	Fluxapyroxad	Sercadis	<1	0
	Folpet	Folpan 80 WDG	<1	0
	Kupferhydroxid	Cuprozin progress, Funguran Progress	1x-3x	>3x
	Myclobutanil	Systhane 20 EW	1x-3x	0
	Penconazol	Topas	1x-3x	0

Tab. 5 (ff.): PSM und ihre durchschnittlichen Anwendungshäufigkeiten bei den beteiligten Betrieben

	Wirkstoff	Produkte	IP	Bio
Fungizid	Pyraclostrobin und Boscalid	Bellis	<1x	0
	<i>Aureobasidium pullulans</i> DSM 14940, A.p. DSM 14941	Blossom Protect	<1x	0
	Pyrimethanil	Scala	<1x	0
	Schwefel	Microthiol WG, Netzschwefel Stulln, THIOVIT JET, Curatio	>3x	>3x
	Tebuconazol, Fluopyram	Luna Experience	<1x	0
	Trifloxystrobin	Flint	1x-3x	0
	Calcium Chlorid	Calciumchlorid	0	1x-3x
	Kaliumhydrogencarbonat	Kumar	0	1x-3x
	Molke	Molkepulver	0	<1x
	Schwefelsaure Tonerde, Schachtelhalmextrakt	Myco-Sin	0	1x-3x
Herbizid	Glyphosat	Kyleo(+2,4-D Dimethylamin- Salz), ChA6710H, Clinic TF, Durano, DuranoTF, Glyfos, Glyfos Dakar, Glyfos Premium, Glyfos Supreme, Glyfosate 360TF, Glyphogan, Rosate 360TF, Rosate Classic 360TF, RoundUP PowerFlex, Roundup Solid, Vorox F, Chikara Duo (+ Flazasulfuron)	1x-3x	0
	MCPA Dimethylamin- Salz	MCPA 500, MCPA Berghoff, U46 M- Fluid	1x-3x	0
	Phosphinothricin Terbuthylazin, Dimethenamid-P	Basta Spectrum	<1x <1x	0 0
Insektizid	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Lepinox Plus (<i>Bacillus thuringiensis</i> subspecies kurstaki Stamm), Xentari (<i>Bacillus thuringiensis</i> subspecies aizawai, Stamm ABTS-1857)	<1x	<1x
	CpGV	Madex Max (<i>Cydia pomonella</i> Granulovirus Isolat , GV-0007 und GV-0006), Madex 3 (<i>Cydia</i> <i>pomonella</i> Granulovirus mexikanischer Stamm)	1x-3x	>3x
	Acetamiprid	Mospilan SG	<1x	0
	Chlorantraniliprole	Coragen	1x-3x	0
	Fenoxycarb	Insegar	<1x	0
	Flonicamid	Teppeki	<1x	0
	Imidacloprid	Confidor WG 70	<1x	0
	Indoxacarb	Steward	<1x	0
	lambda-Cyhalothrin	Karate Zeon	<1x	0
	Methoxyfenozide	Gladiator; Runner	<1x	0
	Primicarb	Pirimor Granulat	<1x	0
	Spirotetramat	Movento SC 100	<1x	0
	Tebufenozid	Mimic	<1x	0
Thiacloprid	Calypso	<1x	0	

Tab. 5 (ff..): PSM und ihre durchschnittlichen Anwendungshäufigkeiten bei den beteiligten Betrieben.

	Wirkstoff	Produkte	IP	Bio
Insektizid	<i>Adoxophyes orana</i>	Capex	0	<1
	Granulovirus Stamm BV-0001			
	Quassin	Quassia	0	1x-3x
	Azadirachtin	Neem Azal	0	1x-3x
	Pyrethrine + Rapsöl	Spruzit Neu	0	1x
Molluskizid				
	Eisen-III-phosphat	Sluxx	0	<1
Wachstumsregler				
	Ethephon	Flordimex 420	<1	0
	6- Benzyladenin	Exilis, Globaryll 100	<1	0
	Prohexadion	Regalis, Regalis Plus	1x-3x	0
Stärkungsmittel				
	Braunalgen (<i>Ascophyllum</i>)	Algo Vital	0	1x-3x
	Kaolin	Cutisan	0	1x-3x

IV.2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge

Inhaltsverzeichnis

Arbeitspaket A1: Vorkommen und Artenspektrum parasitoider Hymenoptera in Abhängigkeit von Anbausystem und Standort.....	35
Abundanz von Nützlingen in der Baumkrone.....	35
Abundanz und Diversität der Parasitica in der Krautschicht.....	37
Einfluss der Landschaftsstruktur auf Abundanz und Diversität der Parasitica	41
Arbeitspaket A2: Phänologie und Ökosystemleistung der Parasitoidengemeinschaft des Apfelwicklers, <i>Cydia pomonella</i>.....	43
Wellpappengewinnung.....	43
Freilandinsektarium und Schlupfraten.....	43
Parasitoidenkalender: Schlupfverlauf der Hauptparasitoide.....	44
Ökosystemleistung der Hauptparasitoide des Apfelwicklers.....	47
Anreicherung von Parasitoidenpopulationen durch Einsatz eines Augmentoriums.....	49
Arbeitspaket A3: Kompatibilität mit Pflanzenschutzverfahren.....	50
Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Apfelwickler-Parasitoide.....	50
Direkte Kontaktwirkung.....	51,53
Beeinflussung der Parasitierungsleistung.....	51,55
Interaktion mit anderen Nützlingen.....	58
Interaktionen mit <i>Trichogramma</i> -Eiparasitoiden.....	58
Interaktionen mit entomopathogenen Nematoden.....	59
Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse.....	60

Tabellenverzeichnis (Legenden aus Platzgründen abgekürzt)

Tab. A1: Ähnlichkeit der Parasitoidengesellschaften in Kescherproben (SIMPER-Matrix).....	40
Tab. A2: Einfluss von Diversität und % Ackerland der Landschaft auf Diversität der Parasitica.....	41
Tab. A3: Erhebungsflächen mit Auftreten von Apfelwicklern und daraus schlüpfenden Parasitoiden.....	45
Tab. A4: Netze als mögliche Trennbarriere zum Einsatz in einem Augmentorium.....	49
Tab. A5: Applikationszeitpunkt von ausgewählten Pflanzenschutzmitteln in Apfelanlagen.....	50
Tab. A6: Definitionen der beobachteten Verhaltensweisen von <i>A. quadridentata</i>	52
Tab. A7: Arena-Versuch zum Wirtsfindevermögen von <i>A. quadridentata</i> in Petrischale.....	57
Tab. A8: Versuch zum Wirtsfindevermögen von <i>A. quadridentata</i> im Olfaktometer.....	57
Tab. A9: Akzeptanz und Parasitierung von <i>C. pomonella</i> -Eier unterschiedlichen Alters durch Parasitoide.....	58

Abbildungsverzeichnis (Legenden aus Platzgründen abgekürzt)

Abb. A1: Anzahl der in Klopfprouben gefangenen Taxa in ökologisch, extensiv oder integriert bewirtschafteten Obstanlagen.....36

Abb. A2: Anzahl der in Kescherproben gefangenen Parasitica in ökologisch, integriert oder extensiv bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land, Bodensee, Kraichgau im Jahr 2016.....37

Abb. A3: Anzahl und Diversität der in Kescherproben gefangenen Parasitica in ökologisch, integriert oder extensiv bewirtschafteten Obstanlagen.....38

Abb. A4: Minimal adäquate Modelle mit signifikanten fixen Effekten für a) die Anzahl (und b) Diversität der in Kescherproben gefangenen Parasitica.....39

Abb. A5: Ähnlichkeit der Parasitoidengesellschaften in Kescherproben, die an 15 bis 17 Tafelobst-Flächen über vier Jahre (2015-2018) jeweils im Sommer genommen wurden.....39

Abb. A6: Bilder von Parasitoiden.....40

Abb. A7: Landschaftsdiversität und Anteil von Ackerland in der umgebenden Landschaft (500 m Umfeld) von ökologisch und integriert bewirtschafteten Tafelobstanlagen.....41

Abb. A8: Ähnlichkeit von Parasitoidengesellschaften in der Krautschicht auf Bio/IP-Tafelobstanlagen.....42

Abb. A9: Links: Anbringung Wellpappe an einem Apfelbaum. Rechts: Freilandinsektarium.....43

Abb. A10: Links: Anzahl in Wellpappen gesammelter Apfelwicklerlarven in Obstanlagen. Rechts: Anzahl nachgewiesener Parasitica in diesen Wirten in Abhängigkeit von der Wirtsdichte.....44

Abb. A11: Relative Häufigkeit von Apfelwickler-Parasitoiden auf Flächen von Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsform.....45

Abb. A12: Anzahl nachgewiesener Parasitoide pro gesammelter Wirtslarve in Obstanlagen.....45

Abb. A13: Schlupfverlauf von Apfelwickler und Parasitoiden aus Wellpappen mit Kokonlarven des Wirtes.....46

Abb. A14: Parasitierungsraten (Anzahl Parasitica/Wirtslarve) in ökologisch, extensiv oder integriert bewirtschafteten Obstanlagen in (links) Abhängigkeit von der Anzahl gesammelter Apfelwicklerlarven und (rechts) in den Regionen Altes Land, Bodensee, Kraichgau & Südhessen & Saarland.....48

Abb. A15: Minimal adäquates Model mit signifikanten fixen Effekten auf die Anzahl Parasitica/Wirtslarve (= Parasitierungsrate) in ökologisch, extensiv oder integriert bewirtschafteten Obstanlagen.....48

Abb. A16: Versuchsvorrichtungen zur Prüfung von PSM-Effekten auf das Wirtsfindevermögen von Weibchen der Apfelwickler-Brackwespe *A. quadridentata*.....52

Abb. A17: Überlebensdauer männlicher Apfelwickler-Brackwespen (*A. quadridentata*) bei Exposition auf mit Pflanzenschutzmitteln (praxisübliche Aufwandmenge) bzw. Wasser behandelten Glasplatten.....53

Abb. A18: Überlebensdauer männlicher Apfelwickler-Brackwespen (*A. quadridentata*) bei Exposition auf mit Pflanzenschutzmitteln (praxisübliche Aufwandmenge) bzw. Wasser behandelten Plastikdeckeln.....54

Abb. A19: Anzahl Antennenreaktionen (=Interesse, links) und Anzahl parasitierter Wirtseier (rechts) pro *A. quadridentata*-Weibchen nach unterschiedlicher Behandlung der Wirtseier mit Pflanzenschutzmitteln.....55

- Abb. A20: Anzahl erfolgreich entwickelter L1, L4 (parasitiert) und L5 (nicht parasitiert) Larven des Apfelwicklers nach unterschiedlicher Behandlung der Wirtseier mit Pflanzenschutzmitteln.....56
- Abb. A21: Verschiedene Entwicklungsstadien der Apfelwickler-Brackwespe *Ascogaster quadridentata*.....58
- Abb. A22: Mortalität von unparasitierten (links) bzw. von *A. quadridentata* parasitierten (rechts) Kokonlarven des Apfelwicklers nach Behandlung mit entomopathogenen Nematoden (EPN) in Petrischalen.....59

IV. 2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge

Arbeitspaket A1: Vorkommen und Artenspektrum parasitoider Hymenoptera in Abhängigkeit von Anbausystem und Standort

Zielsetzungen:

1. Erfassung der Abundanz von Nützlingen der Baumkrone in Klopfproben
2. Erfassung der Diversität von parasitoiden Hymenoptera (=Parasitica) in der Krautschicht in Kescherproben

Methoden & Ergebnisse:

Zu 1: Abundanz von Nützlingen in der Baumkrone

Auf den bewirtschafteten Flächen wurden je 10 Bäume in vier ausgewählten Reihen geklopft, wobei am jeweils zwanzigsten Baum von Beginn der Reihe an begonnen wurde. Pro Baum wurde ein zufällig ausgesuchter Ast dreimal kräftig beklopft, um das Herunterfallen aller darauf befindlichen Arthropoden in einen unter dem Ast platzierten praxisüblichen Klopfschirm (Wirkfläche 40x62 cm, 0,25 m²) zu veranlassen. Die geklopften Tiere wurden mit Essigsäureethylether getötet und die Klopfproben einer Reihe (=10 Bäumen) als eine Stichprobe vereinigt. Auf Streuobstwiesen wurden, da es hier keine Fahrgassen gab oder weniger Bäume verfügbar waren, je nach Gegebenheit mehrere Äste pro Baum geklopft. Insgesamt wurde hier aber auch mindestens 10 bis 40 Äste mit je drei Schlägen geklopft. Die Fänge wurden anschließend im Labor in 80 %iges Ethanol überführt und auf Ordnungs- und teilweise Familienniveau bestimmt. Die Sortierung unter dem Stereomikroskop erfolgte nach Bährmann (2011) gemäß folgenden Taxa: Brachycera, Nematocera, Parasitica (= hymenoptere Parasitoide), Vespoidea, Formicidae, Apoidea, Symphyta, Coccinellidae sonst. Coleoptera, Heteroptera, Aphidoidea, Auchenorrhyncha, Psylloidea, Neuroptera mit *Chrysoperla*, Lepidoptera, *Forficula*, Aranae, Collembola, Acari. Die Klopfprobenerhebung wurde je nach Untersuchungsjahr drei- bis fünfmal auf den Erhebungsflächen durchgeführt. Für die weitere Auswertung wurden nur die im Sommer gezogenen Proben berücksichtigt, da nur dann ausreichend Flächen beprobt wurden. Die pro Fläche festgestellten Anzahlen wurden pro Termin aufsummiert. Die Stichproben wurden von Jahr zu Jahr unabhängig voneinander betrachtet. Die Auswertung erfolgte mit den Software-Programmen R 3.6.2 und Past Version 4.0.

Insgesamt wurden an den vier Sommerterminen 4853 Tiere gefangen. Klopfproben erfassen vor allem wenig bewegliche oder flugunfähige Organismen, die den Kronenraum von Apfelbäumen besiedeln. Daher war der Anteil an Spinnentieren (Aranae, Acari), Collembola oder Pflanzensaugern der Phyllosphäre (Auchenorrhyncha, Aphidoidea, Psylloidea) überwiegend. Vor allem Acari und Collembola waren in einigen Stichproben mit sehr hohen Zahlen vertreten. Sehr flugaktive Tiere wie adulte Schwebfliegen, Bienen oder Wespen wurden dagegen gar nicht bis selten erfasst. Effekte von Bewirtschaftung (ökologisch, extensiv, integriert) und Region (Altes Land, Bodensee, Kraichgau) auf die Gesamtsumme der nachgewiesenen Arthropoda wurden in einem Gemischten Generalisierten Linearen Modell untersucht (Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace Approximation), ['glmerMod']: $y \sim \text{manag} * \text{region} + (1 | \text{year})$). Hierbei wurden außer allen gefangenen Arthropoda die zu den Pflanzensaugern gehörigen Gruppen sowie Wanzen, als auch entomophage Gruppen wie Webspinnen i.w.S., die Parasitica und Coccinellidae analysiert (Abb. A1).

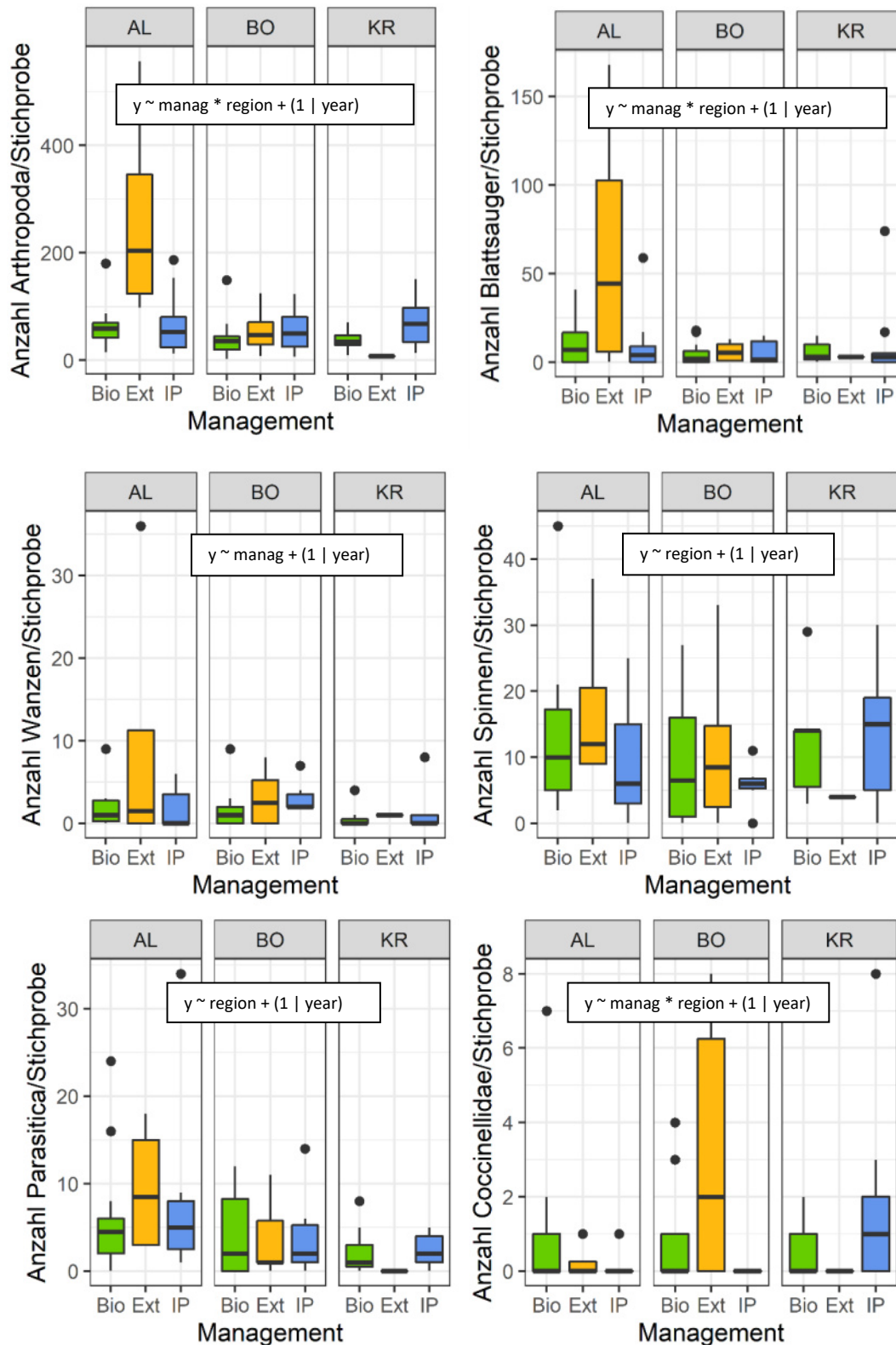


Abb. A1: Anzahl der in Klopffproben (Stichprobe = 40 Zweige/Fläche und Jahr) gefangenen Taxa in ökologisch (Bio, grün), extensiv (Ext, gelb, im Alten Land Mostobst, in den anderen Regionen Streuobst) oder integriert (IP, blau) bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land (AL), Bodensee (BO), Kraichgau (KR). Angegeben sind Box-Plots mit Median und Ausreißern (schwarze Kreise), außerdem das minimal adäquate Modell mit allen signifikanten Effekten. Versuchszeitraum über vier Jahre (2015-2018).

Die Gesamtarthropoda als auch die Pflanzensauger und Coccinellidae waren in extensiven Anlagen im Alten Land bzw. am Bodensee häufiger als in den Bio- und IP-Anlagen. Im Kraichgau dagegen verhielt es sich anders, mit weniger Arthropoda in den Bioanlagen und im Streuobst (dort nur wenige Bäume) und mehr Tieren in den IP-Anlagen. Wanzen waren in den Most- und Streuobstwiesen im Alten Land und Bodensee am häufigsten, während Spinnen unabhängig von der Bewirtschaftungsweise in etwas geringerer Zahl am Bodensee erfasst wurden (Median < 10 Tieren/Probe bei allen drei Managementregimen). Im Kraichgau wurden auch höhere Zahlen in den IP-Anlagen festgestellt. Dagegen traten die Parasitica dort am seltensten auf. Sie waren vor allem im Alten Land mit mehr als fünf Tieren pro Probe nachzuweisen. Auf Grund der insgesamt geringen Zahl der Parasitica wurden keine weitergehenden Diversitätsanalysen durchgeführt.

Zu 2: Abundanz und Diversität der Parasitica in der Krautschicht

Zur Erfassung der Parasitica in der Krautschicht wurden Kescherproben genommen. Es wurde dazu bei gutem Wetter (trocken, nicht zu windig) in jeweils vier Reihen ca. 50 m mit 25 Doppelschlägen gekeschert, wobei der Beginn des Transsektes etwa 8-10 m vom Rand der Reihe lag. Am Ende des Transsektes wurde der Kescher sofort so gedreht, dass keine Tiere entweichen konnten, mit einem Exhaustor alle Parasitica herausgesammelt und die restlichen Tiere wieder frei gelassen. Die im Exhaustorgefäß gesammelten Tiere wurden mit Essigsäureethylether getötet, anschließend im Labor in 80 %iges Ethanol überführt und unter dem Stereomikroskop mit Goulet & Huber (1993) nach Überfamilien bzw. Familien bestimmt und gezählt. Folgende Taxa wurden nachgewiesen: Chalcidoidea, Cynipoidea, Ceraphronidea, Ichneumonidae, Braconidae, Aulacidae, Gasteruptidae, Platygastridae, Scelionidae, Ceraphronoidea, Proctotrupidae, Diapriidae. Die Kescherprobenerhebung wurde je nach Untersuchungsjahr drei- bis fünfmal auf den Erhebungsflächen durchgeführt. Die Stichproben und Flächen einer Region wurden von Jahr zu Jahr unabhängig voneinander betrachtet. Die Auswertung erfolgte mit den Software-Programmen R 3.6.2 und Past Version 4.0.

Im Jahr 2016 wurden pro Fläche drei- bis viermal Kescherproben durchgeführt. Die damit abgeschätzte Bestandsentwicklung der Parasitoide erreichte im Alten Land ihren Höhepunkt im Sommer (Anfang August) bzw. am Bodensee und im Kraichgau je nach Fläche im Juli und August (Abb. A2).

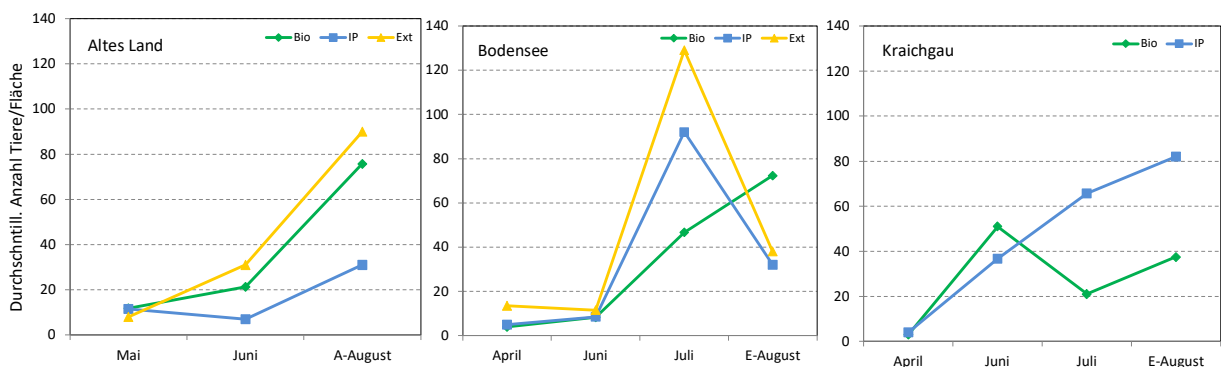


Abb. A2: Durchschnittliche Anzahl der in Kescherproben (Stichprobe = 4 x 25 Doppelschläge/Fläche) gefangenen Parasitica in ökologisch (Bio, grün), integriert (IP, blau) oder extensiv (Ext, Streuobst, Mostobst, gelb) bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land, Bodensee, Kraichgau im Jahr 2016. A-August: 01-02.August, E-August: 30.-31. August 2016.

Für die weitere Auswertung wurden die im Hochsommer (Juli oder August) der jeweiligen Jahre durchgeführten Probennahmen herangezogen, da nur dann in allen Regionen ausreichend Flächen beprobt wurden. Außerdem wurden in der weiteren Auswertung nur die Tafelobstanlagen berücksichtigt, da die Struktur der Mostobst- und Streuobstwiesen insbesondere bzgl. Baumdichte und Bodenvegetation anders war und die Kescherproben hier nicht in einer standardisierten Form durchgeführt werden konnten. Die Anzahlen pro Kescherung wurden für jede Fläche aus den vier Transekten pro Termin aufsummiert. Effekte von Bewirtschaftung (ökologisch, integriert) und Region (Altes Land, Bodensee, Kraichgau) auf die Gesamtsumme der nachgewiesenen Arthropoda wurden in einem Gemischten Generalisierten Linearen Modell untersucht (Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace Approximation), ['glmerMod']: $y \sim \text{manag} * \text{region} + (1 | \text{year})$, year = random effect). Außerdem wurde für jede Fläche und Termin aus den Anzahlen der unterschiedlichen Taxa der Shannon-Index berechnet (Past Version 4.0) und anschließend die Werte auf Effekte von Bewirtschaftung und Region geprüft.

Insgesamt wurden 3239 Parasitica in den ausgewerteten Proben nachgewiesen. Ihre Abundanz war im Alten Land in den Bio- und IP-Flächen ähnlich hoch (Abb. A3, links). Am Bodensee wurden deutlich mehr Tiere in den Bio-Flächen gefangen, aber der Unterschied war nicht signifikant, da auch zwei Proben mit mehr als 90 Tieren aus den IP-Flächen kamen. Deutlich weniger Tiere wurden in den Anlagen im Kraichgau nachgewiesen, vor allem in den Bio-Flächen. Die Abundanzwerte der Parasitica wurden damit weniger durch die Bewirtschaftung der Flächen beeinflusst als vielmehr durch regionale Effekte (Abb. A4a). Dagegen lag die Shannon-Diversität der Proben, die von Bio-Flächen kamen, in allen Regionen signifikant höher als bei den IP-Flächen (Abb. A3, rechts; A4b). Aktuell wurden die Chalcidoidea, Cynipoidea und Ceraphronidea nicht auf Familienniveau bestimmt. Dies wird noch erfolgen und u. U. ändert sich dann das Diversitätsniveau. Derzeit liegt der Wert des Shannon-Index H unter 2 bei Berücksichtigung folgender zehn Taxa: Chalcidoidea, Cynipoidea, Ceraphronidea, Ichneumonidae, Braconidae, Platygastridae, Scelionidae, Ceraphronoidea, Proctotrupidae, Diapriidae.

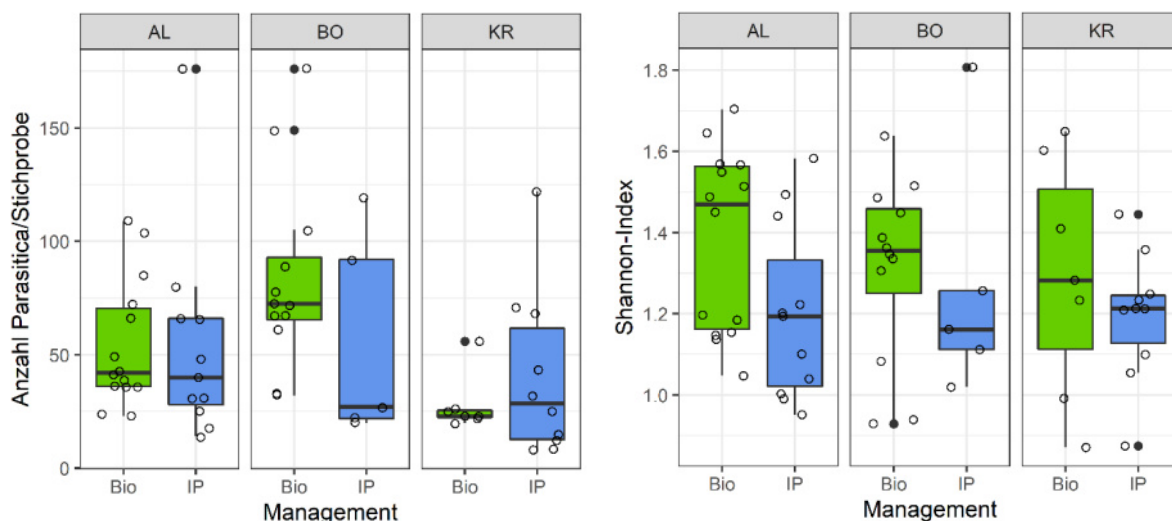


Abb. A3: Anzahl (links, als Gesamtsumme) und Diversität (rechts, als Shannon-Index) der in Kescherproben (Stichprobe = 4x25 Doppelschläge/Fläche und Jahr) gefangenen Parasitica in ökologisch (Bio, grün) oder integriert (IP, blau) bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land (AL), Bodensee (BO), Kraichgau (KR). Angegeben sind Box-Plots mit Median, Einzelwerten (helle Kreise) und Ausreißern (schwarze Kreise). Der Versuchszeitraum erstreckte sich über vier Jahre (2015-2018).

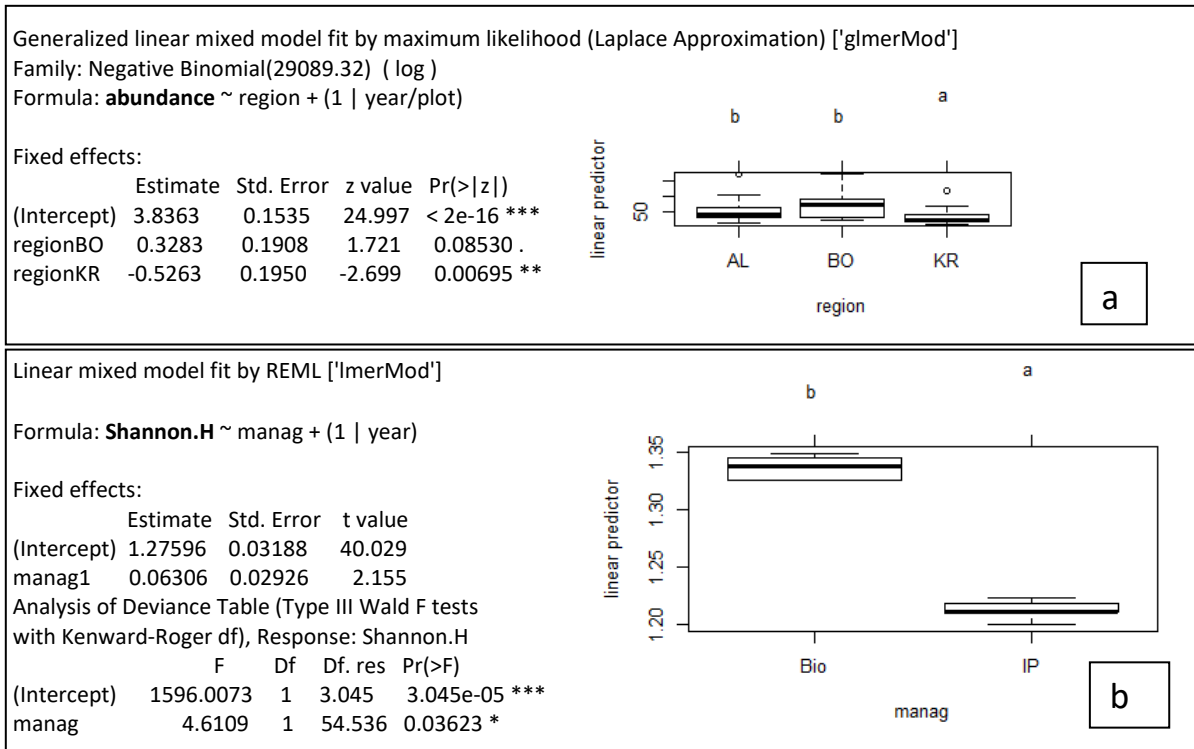


Abb. A4: Minimal adäquate Modelle mit signifikanten fixen Effekten für a) die Anzahl (GLMM, negativ binomial verteilte Daten) und b) Diversität (Shannon-Index, LMM) der in Kescherproben (Stichprobe = vier Transsekte mit je 25 Doppelschlägen pro Fläche und Jahr) gefangenen Parasitica in ökologisch (Bio-Tafelobst) oder integriert (IP-Tafelobst) bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land (AL), Bodensee (BO), Kraichgau (KR). Rechts eingblendet sind Unterschiede zwischen Effektstufen nach Testung von Tukey-Kontrasten auf die Modellparameter.

Ein Vergleich der Parasitoidengesellschaften an den einzelnen Standorten erfolgte mittels multivariater Verfahren (Ähnlichkeitsanalyse in einer Hauptkomponentenanalyse, Vergleich der Gruppen „Bio“ und „IP“ mit ANOSIM bzw. SIMPER-Analysen, Abb. A5, Tab. A1).

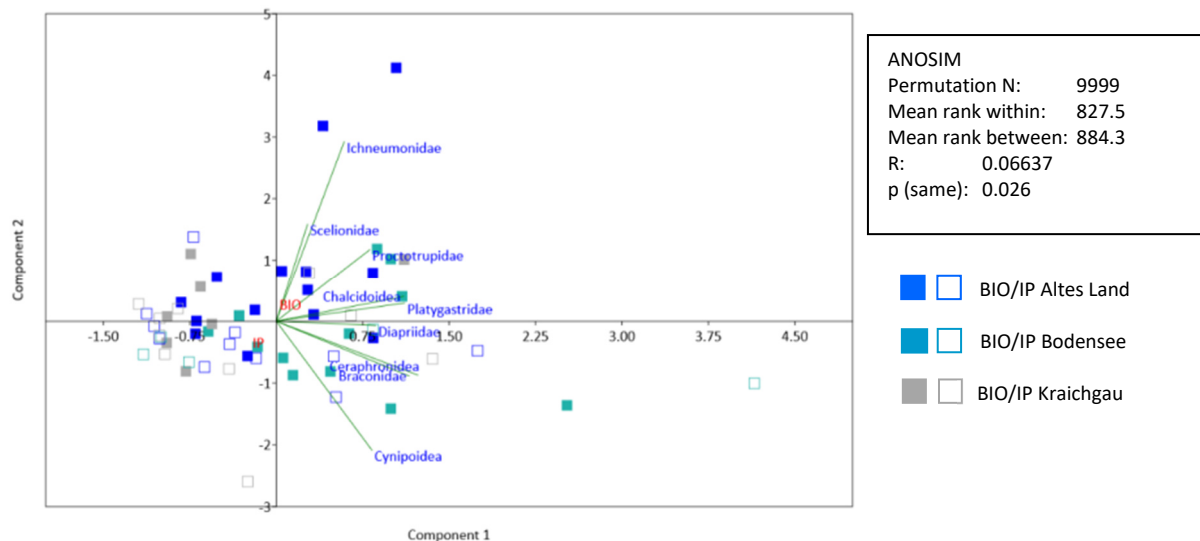


Abb. A5: Ähnlichkeit der Parasitoidengesellschaften in Kescherproben, die an 15 bis 17 Tafelobst-Flächen über vier Jahre (2015-2018) jeweils im Sommer genommen wurden. Jede Stichprobe ist durch ein Symbol dargestellt. Gefüllte Quadrate: Bio-Flächen, leere Quadrate: IP-Flächen. Regionen: blau: Altes Land, grün: Bodensee, grau: Kraichgau. PCA: die Länge der Vektoren zeigt die Bedeutung der einzelnen Taxa an der Verteilungsmatrix. Zunehmende Unähnlichkeit wird durch zunehmende Distanz zwischen Punkten dargestellt. Box: Ergebnis der ANOSIM mit Bray-Curtis-Dissimilarity-Index. Component 1 trennt Bio von IP.

Es wird hier deutlich, dass die den Bio-Flächen im Kraichgau entsprechenden Punkte links der Ordinate mit den Punkten vieler IP-Flächen clustern, während die Mehrheit der Bio-Flächen am Bodensee und vom Alten Land rechts der Ordinate liegen. Hier liegen auch einige IP-Flächen, unter anderem die Fläche IP-BO-6 ganz rechts. Die BIO-Flächen im Kraichgau gehören einem Besitzer, der im Jahr 2013 auf ökologischen Obstbau umgestellt hat. Sie sind hauptsächlich von Ackerfläche umgeben (Abb. 2, S. 25).

Insgesamt sind sich aber alle Flächen recht ähnlich (SIMPER Dissimilarity 50,31). Alle Taxa sind auf fast allen Flächen in ähnlicher Häufigkeit vertreten, wobei allerdings die mittleren Anzahlen auf den Bio-Flächen durchschnittlich höher liegen als auf den IP-Flächen (Tab. A1).

Tab. A1: Ähnlichkeit der Parasitoidengesellschaften in Kescherproben, die an 15 bis 17 Flächen über vier Jahre jeweils im Sommer genommen wurden (SIMPER-Matrix, Bray-Curtis Dissimilarity 50,31). Mittlere Anzahl (Mean) der einzelnen Parasitoiden-Taxa über alle Beprobungsjahre errechnet.

Taxon	Av. dissim	Contrib. %	Cum. %	Mean Bio	Mean IP
Chalcidoidea	19,56	38,87	38,87	24,9	20
Braconidae	14,29	28,4	67,28	18	16,2
Ichneumonidae	3,869	7,69	74,97	4,55	2,81
Cynipoidea	3,509	6,97	81,94	2,18	3,46
Ceraphronidea	3,274	6,51	88,45	2,88	2,81
Platygastridae	2,428	4,83	93,27	2,15	1,5
Diapriidae	1,498	2,98	96,25	1,15	0,654
Proctotrupidae	1,131	2,25	98,5	0,939	0,538
Scelionidae	0,7545	1,5	100	0,545	0,231

Die Braconidae bilden die zahlenmäßig stärkste Familie. Sie umfassen wichtige Gegenspieler von Obstschädlingen: z.B. die Aphidiinae als Gegenspieler der Blattläuse oder die Cheloninae und Meteorinae als Gegenspieler vieler Tortricidae und Coleoptera. Alyssiinae und Opiinae sowie die Familie der Diapriidae und Figitidae (Cynipoidea) parasitieren vor allem bei Dipteren, z.B. bei Drosophilidae, das Fallobst befallen.



Abb. A6: Der Blick durchs Stereomikroskop enthüllt die Vielfalt der Parasitica, die oft bizarre Formen aufweisen (rechts: Eulophidae, Männchen mit „Geweih“-artigen Antennen).

Zu 2: Einfluss der Landschaftsstruktur auf Abundanz und Diversität der Parasitica in der Krautschicht

Die Erhebungsflächen sind je nach Region in unterschiedliche Landschaften eingebettet (Siehe Einleitung). So sind im Alten Land Obstanlagen das prägende Landschaftselement, während im Kraichgau die Erhebungsflächen meist von Acker- und Grünland umgeben sind. Am Bodensee ist die Landschaft sehr vielgestaltig. Aus den Landschaftsanteilen in 500 m Umkreis (Datengrundlage: Amtliches Topographisch-Kartographische Informationssystem, ATKIS-Daten 2013) wurde für die einzelnen Flächen ein Diversitätswert berechnet. Demnach ist die Landschaftsdiversität im Alten Land am niedrigsten und am Bodensee am höchsten (Abb. A7, links). Im Kraichgau lagen die ökologischen Flächen in einer relativ gleichförmigen Landschaft mit mehr als 80 % Ackerland in der Umgebung (Abb. A7, rechts). Dagegen war das Umfeld der IP-Flächen hier diverser; bei zwei Flächen (IP_KR_1 und IP_KR_3) waren Streuobstwiesen in der Nähe.

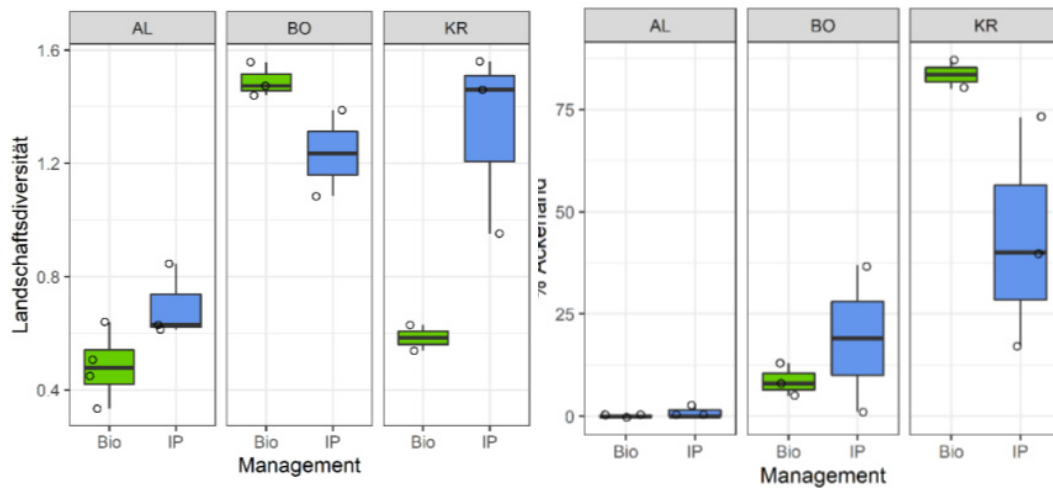


Abb. A7: Landschaftsdiversität (Shannon-Index) und prozentualer Anteil von Ackerland in der umgebenden Landschaft (500 m Umfeld) von ökologisch (Bio) und integriert (IP) bewirtschafteten Tafelobstanlagen im Alten Land (AL), am Bodensee (BO) und im Kraichgau (KR).

Die Landschaftsdiversität hatte keinen Effekt auf die Vielfalt der Parasitica (Shannon-Index, aus Summe über vier Jahre) in der Krautschicht in den betreffenden Obstanlagen; diese war von der Bewirtschaftungsform abhängig und war auf den integrierten Flächen geringer (Tab. A2).

Tab. A2: Einfluss von Diversität (Shannon-Index H.Land) und prozentuaalem Anteil von Ackerland (% Acker) in der umgebenden Landschaft (500 m Umfeld) von ökologisch (Bio) und integriert (IP) bewirtschafteten Tafelobstanlagen auf die dort in Kescherproben erfasste Diversität (Shannon-Index/Fläche aus Durchschnitt über vier Jahre: H.Parasitica) und Anzahl (Durchschnitt über vier Jahre/Fläche, Nr. Parasitica) der hymenopteren Parasitoide der Krautschicht. MAM: Minimal adäquates lineares Modell mit signifikanten Faktoren, DF: Freiheitsgrade.

	Altes Land		Bodensee		Kraichgau	
	Bio (n=3)	IP (n=3)	Bio (n=3)	IP (n=2)	Bio (n=2)	IP (n=3)
H. Parasitica	1,4 ± 0,15	1,21 ± 0,10	1,31 ± 0,06	1,21 ± 0,14	1,29 ± 0,08	1,2 ± 0,10
H.Land	MAM = lm(formula = H.Par ~ Manag), F = 7,407, DF = 1,15, p = 0,01576					
% Acker	Mit MAM H.Land identisch					
Nr. Parasitica	52,7 ± 11,7	54,1 ± 24,0	83,5 ± 25,2	45,1 ± 25,6	27,2 ± 6,1	38,2 ± 12,1
H.Land	MAM = lm(formula = Par.Abu ~ H.Land + Manag + Region), F = 3,958, DF = 4,12, p = 0,02836					
% Acker	MAM = lm(formula = Par.Abu ~ Ackerland), F = 3,417, DF = 1,15, p = 0,08436					

Auch das Ackerland in der Umgebung hatte keinen Einfluss auf die Diversität der Parasitoide. Ihre Abundanz dagegen wurde mit von der Landschaftsvielfalt geprägt; je höher diese war, desto höher war auch die durchschnittliche Anzahl an Parasitica in den Kescherproben, wobei dies aber auch von der Bewirtschaftung und der Region abhing. Es ließ sich zudem eine (nicht signifikante) Tendenz feststellen, dass ein zunehmender Ackerlandanteil in der Umgebung mit geringeren Parasitica-Anzahlen korreliert war (Tab. A2, $p=0,08$).

Die Ausformung der Parasitoidengesellschaften in den einzelnen Jahren auf den verschiedenen Tafelobstanlagen wird demnach nur tendenziell durch Bewirtschaftung und Region bestimmt. Lokale Gemeinschaften werden sehr wahrscheinlich von vielen weiteren Faktoren, wie Umgebungseinflüssen oder auch Sortenzusammensetzung und Alter der Obstbäume, Management der Krautschicht und anderen standörtlichen Besonderheiten beeinflusst. Dadurch ergibt sich eine hohe Variabilität in dem Vorkommen bestimmter Parasitica-Familien und ihrer Häufigkeit, zumal die Stichprobennahme im Sommer an sich auch nur einen Schnappschuss liefert (wenn auch über vier Jahre). Mittels einer Clusteranalyse (Nearest Neighbour-Methode, Bray-CurtisDissimilarity-Index) lassen sich die Erhebungsflächen anhand der Ähnlichkeit ihrer Parasitica-Gesellschaften in drei große Gruppen ordnen (Abb. A8).

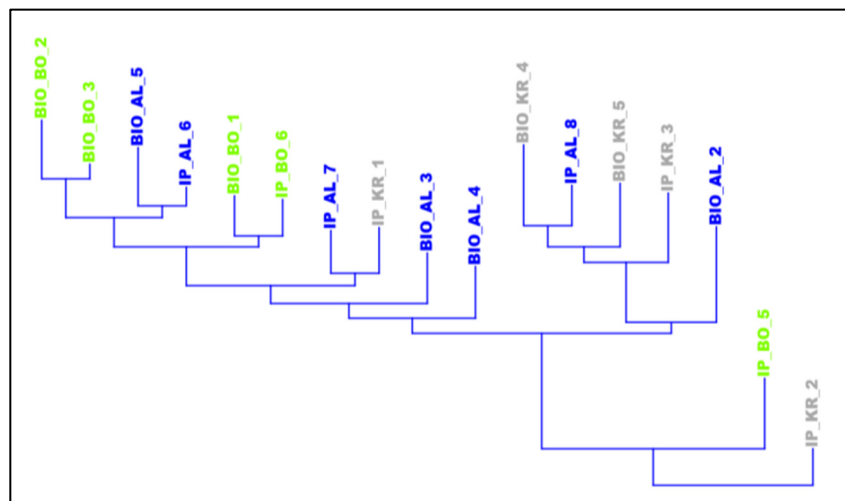


Abb. A8: Ähnlichkeit von Parasitoidengesellschaften in der Krautschicht auf Bio/IP-Obstanlagen. Basis sind die durchschnittlichen Anzahlen pro Fläche in Kescherproben über vier Jahre (Sommertermin). Blau: Flächen im Alten Land, Grün: Flächen am Bodensee, Grau: Flächen im Kraichgau.

So wiesen z.B. die Flächen IP_AL_7, IP_KR_1 und IP_BO_6 eine relativ hohe durchschnittliche Parasitica-Diversität von 1,3 auf und „clustern“ mit den meisten Bio-Flächen. Die Braconidae in den Kescherproben aus dem Jahr 2018 wurden einer genaueren Analyse auf Subfamilien-Niveau unterzogen. Auf diesen integrierten Flächen waren vor allem Opiinae und Alysiinae häufig, die vornehmlich Diptera und hier vor allem Drosophilidae parasitieren. Die Wirte dieser Parasitica können sich z.B. in Fallobst gut vermehren. IP_BO_6 grenzte direkt an die Streuobstwiese EXT_BO_7 und die Parasitoidengesellschaften dieser beiden Flächen ähnelten sich. Damit könnten sich nah gelegene Streu- oder Mostobstflächen vorteilhaft auf die Populationen dieser Parasitoidenfamilien auswirken, die von dort in Flächen einwandern, die intensiver bewirtschaftet werden. Ebenfalls häufig waren Vertreter der Meteorinae, die z.B. verschiedene Tortricidae parasitieren. Die genauere Analyse bis auf das Artniveau bei ausgewählten Gruppen vermag eventuell weitere Hinweise auf bestimmte Habitatbedingungen in den betreffenden Anlagen geben.

IV. 2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge

Arbeitspaket A2: Phänologie und Ökosystemleistung der Parasitoidengemeinschaft des Apfelwicklers, *Cydia pomonella*

Zielsetzungen:

1. Parasitoidenkalender: Schlupfverlauf der wichtigsten Parasitoide in Relation zum Apfelwickler
2. Ökosystemleistung (Parasitierungsleistung) der wichtigsten Parasitoide des Apfelwicklers

Methoden & Ergebnisse:

Wellpappengewinnung von Apfelwicklerlarven

Die Methode der Wellpappenausbringung beruht auf dem Angebot von Überwinterungsorten für Apfelwicklerlarven. Da die meisten Parasitoidenarten in ihrer Wirtslarve überwintern, ist es möglich, mit dieser Methode parasitierte Larven bzw. nach Entwicklung Parasitoidenimagines zu gewinnen. Dazu wurden ab Sommer 2015 bis Herbst 2018 zu bestimmten Zeitpunkten (Frühjahr bis Sommer, Sommer bis Herbst, teilweise auch Herbst bis Frühjahr) etwa 10-12 cm breite und 50 cm lange Wellpappestreifen (in bewirtschaftete Anlagen) bzw. 100 cm lange Wellpappestreifen (extensive Flächen) im unteren (30 cm bzw. 100 cm) Bereich von Apfelbäumen angebracht (Abb. A9, links). Pro bewirtschaftete Anlage wurden in vier Reihen jeweils 10 Wellpappen angebracht, die auf maximal 20 Bäume pro Reihe verteilt wurden (ab Baum 20 in einer Reihe). Auf Streuobstwiesen wurden alle verfügbaren Bäume mit Wellpappe versehen.



Abb. A9: Links: Anbringung Wellpappe an einem Apfelbaum in einer bewirtschafteten Anlage. Rechts: Freilandinsektarium mit Photoelektoren unterschiedlicher Größe.

Freilandinsektarium und Schlupfraten

Die Wellpappen wurden in einem Freilandinsektarium auf dem Versuchsfeld des JKI Darmstadt bis zum Schlupf der Apfelwickler und Apfelwickler-Parasitoide gelagert bzw. überwintert. Die Pappen wurden z.T. einzeln (pro Baum), z.T. alle Pappen pro Fläche in Schlupfkäfige (so genannte Photoelektoren) unterschiedlichen Fassungsvermögens gegeben. Diese sind so konstruiert, dass sich aktive Insekten positiv phototaktisch und negativ geotaktisch orientieren, aus abgedunkelten Bereichen herauswandern und sich in beleuchteten Fangröhrchen oder -dosen ansammeln (Abb. A9, rechts). In

den kleinsten Gefäßen (ca. 1 l) befanden sich Wellpappen aus biologisch wirtschaftenden, in mittleren (ca. 6 l) und großen (ca. 20 l) Eklektoren dagegen die Pappen aus integriert wirtschaftenden und in Streuobstwiesen. Nach der Überwinterung in diesen Eklektoren unter vor Regen geschützten Bedingungen (Freilandinsektarium) wurde jeweils im darauffolgenden Frühjahr ab April fünfmal pro Woche kontrolliert, ob Tiere geschlüpft waren. Nach Abschluss der wichtigsten Apfelwicklerparasitoide wurden die Eklektoren einmal wöchentlich bis in den Sommer hinein begutachtet.

Zu 1: Parasitoidenkalender: Schlupfverlauf der Hauptparasitoide in Relation zum Wirt

Die Erhebung wurde in den Jahren 2015 bis 2018 (mit Schlupf im Jahr 2019) durchgeführt. Neben der Hauptflächen im Alten Land, am Bodensee und im Kraichgau wurden zusätzlich ein Biobetrieb im Saarland und eine schon seit mehr als 10 Jahren aufgegebene Tafelobstanlage in Südhessen beprobt. Die folgende Analyse basiert auf den Daten von insgesamt 3852 Überwinterungslarven, d.h. die Einsammlung der Wellpappen erfolgte in der Regel frühestens im Oktober, so dass damit überwinternde Kokonlarven des Apfelwicklers erfasst wurden. Insgesamt schlüpfen 3580 Apfelwickler und 272 Primärparasitoide, wodurch sich eine durchschnittliche Parasitierungsrate von 7 % ergibt. Die meisten Apfelwickler wurden in Streuobstwiesen am Bodensee und im Kraichgau gesammelt. Im Alten Land waren mehr Apfelwickler in den Bioflächen zu finden (Abb. A10, links). Die Parasitica traten dabei in den Streuobstwiesen mit zunehmender Apfelwicklerdichte häufiger auf. Auf den ökologisch bewirtschafteten Tafelobstanlagen stieg die Zahl mit zunehmender Wirtsdichte an, während sie auf den IP-Flächen wie auch der Wirt selten waren (Abb. A10, rechts).

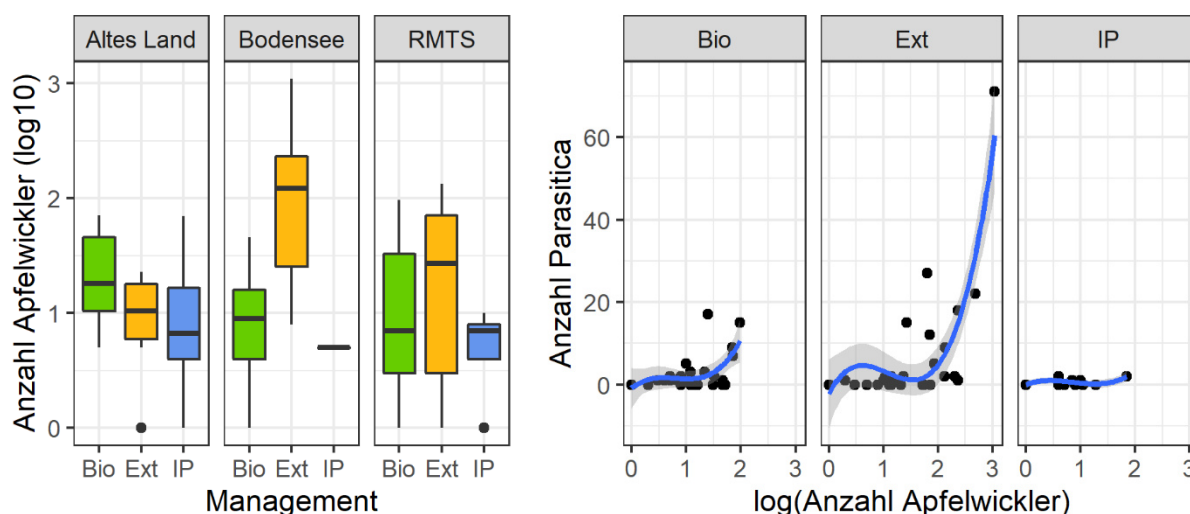


Abb. A10: Links: Anzahl in Wellpappen gesammelter Apfelwicklerlarven in Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftung. Rechts: Anzahl nachgewiesener Parasitica in diesen Wirten in Abhängigkeit von der Wirtsdichte. Bio: ökologisch, IP: integriert, Ext: Most- und Streuobstwiesen. Die Erfassung von Kokonlarven des Apfelwicklers fand in den Jahren 2015-2018 auf Flächen im Alten Land, Bodensee und der Region RMTS (Kraichgau, Südhessen und Saarland) statt.

Die Art *Ascogaster quadridentata* (Braconidae, Ei-Larvalparasitoid) war mit 124 adulten Tieren am häufigsten, gefolgt von 90 Exemplaren von *Trichomma enecator* (Ichneumonidae, Parasitoid aller Wirtslarvenstadien) und 58 *Pristomerus vulnerator* (Ichneumonidae, Parasitoid des ersten Wirtslarvenstadiums). In Einzelfunden trat die Ichneumonide *Liotryphon caudatus* auf, die vor allem bereits in der Borke des Apfelbaumes eingesponnene Kokonlarven parasitiert sowie einige zu den Erzwespen gehörende Hyperparasitoide, die hier nicht berücksichtigt wurden. Dabei wurden auf den

Flächen aller Bewirtschaftungsformen Wirtslarven gewonnen und auch Parasitoide in ihnen nachgewiesen (Tab. A3). In den Bioanlagen trat *T. enecator* am häufigsten auf, während in den extensiven Most- und Streuflächen, die i.d.R. nicht mit Insektiziden gegen den Apfelwickler behandelt wurden, vor allem *A. quadridentata* dominant war (Abb. A11).

Tab. A3: Erhebungsflächen in Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsform (ökologisch, integriert, extensiv) im Alten Land, am Bodensee, Kraichgau, Saarland und Südhessen mit Auftreten von überwinterten Apfelwicklern und daraus schlüpfenden Parasitoiden.

Bewirtschaftung	Flächen mit Apfelwickler	Flächen mit Parasitoiden
Bio	9 von 9, - 100 %	8 von 9, - 90 %
IP	6 von 8, - 75 %	4 von 6, - 75 %
Ext	9 von 9, - 100 %	9 von 9, - 100 %

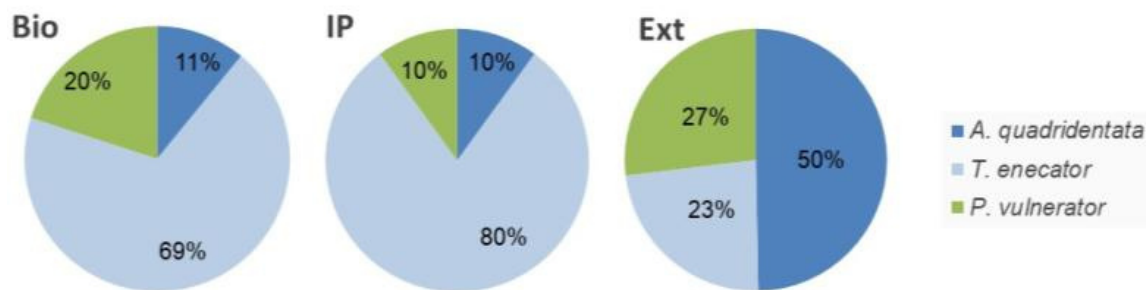


Abb. A11: Relative Häufigkeit von Apfelwickler-Parasitoiden auf Flächen von Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsform. Bio: ökologisch, IP: integriert, Ext: Most- und Streuobstwiesen. Die Erfassung von Kokonlarven des Apfelwicklers fand in den Jahren 2015-2018 auf Flächen im Alten Land, Bodensee, Kraichgau, Südhessen und Saarland statt.

Diese drei Parasitoidenarten kamen in allen Regionen bis auf das Saarland mit nur einem beprobten Betrieb vor (Abb. A12). *T. enecator* war hierbei im Alten Land, Südhessen und im Saarland am häufigsten in Apfelwicklerlarven nachzuweisen, weiter südlich (Bodensee, Kraichgau) dagegen *A. quadridentata*. *P. vulnerator* wurde seltener in den Proben gefunden.

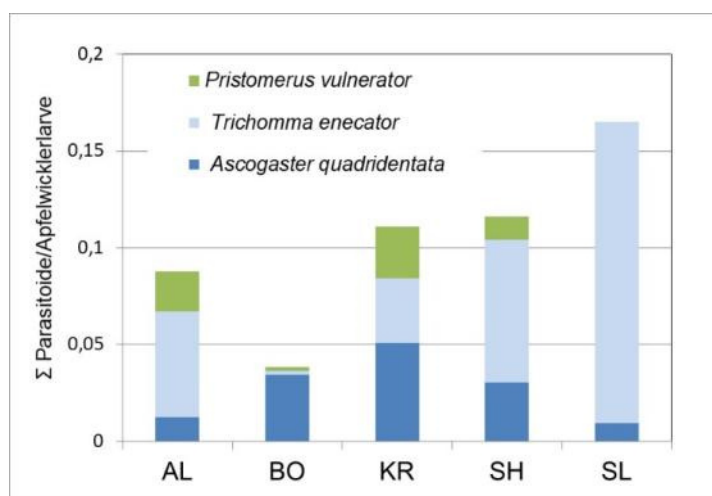


Abb. A12: Anzahl nachgewiesener Parasitoide pro gesammelter Wirtslarve in Obstanlagen in den Regionen Altes Land (AL), Bodensee (BO), Kraichgau (KR), Südhessen (SH) und Saarland (SL). Die Erfassung von Kokonlarven des Apfelwicklers fand in den Jahren 2015-2018 durch Ausbringen von Wellpappen statt.

Die genannten Parasitoidenarten befallen unterschiedliche Entwicklungsstadien ihres Wirtes. *A. quadridentata* parasitiert die Eier des Apfelwicklers und entwickelt sich anschließend im Wirt. Auch *P. vulnerator* parasitiert frühe Wirtsstadien, i.d.R. das erste Larvenstadium, das sich auch noch nach dem Schlupf aus dem Ei auf der Frucht befindet und noch nicht im Innern. Dagegen parasitieren die Weibchen von *T. enecator* sowohl frühe als auch späte, zum Abwandern aus der Frucht bereiten Kokonlarven des Apfelwicklers. Diese Parasitoidenarten besitzen noch andere Wirte als *C. pomonella*, doch richtet sich ihr saisonales Auftreten in Obstanlagen und demnach ihr Schlupf aus der Wirtslarve nach Überwinterung offensichtlich nach dem Auftreten der von ihnen jeweils bevorzugten bzw. notwendigen Wirtsstadien. Der Schlupfverlauf dieser Parasitoide und ihres Wirtes in dem Freilandinsektarium auf dem Versuchsfeld des JKI in Darmstadt erfolgte in den Jahren 2016 bis 2019 relativ gut synchronisiert mit den im Freiland zu erwartenden Wirtsstadien (Abb. A13). Es zeigten sich keine regionalen Unterschiede im Schlupf der Überwinterungsgeneration von *C. pomonella*, daher wurden die Daten über Regionen und Bewirtschaftungsformen hinaus zusammengefasst.

Der Ei-Larvalparasitoid *A. quadridentata* schlüpfte über mehrere Wochen i.d.R. mit Beginn des Schlupfhöhepunktes des Wirtes. Somit wäre im Freiland die Aktivität von Parasitoidenweibchen gut mit der Hauptflugzeit des Wirtes und dem vermehrten Auftreten von Wirtseiern synchronisiert. Die Parasitoide leben auch bei Zugang zu Blütennektar über mehrere Wochen (Herz et al. 2012, Matráy & Herz, in Vorbereitung). Der Schlupf des Larvalparasitoiden *P. vulnerator* trat relativ konzentriert eher gegen Ende der Hauptschlupfwelle des Apfelwicklers auf (außer 2019). In dieser Zeit wären im Freiland sicher schon erste Eilarven des Wirtes zu erwarten und damit einer Parasitierung zugänglich.

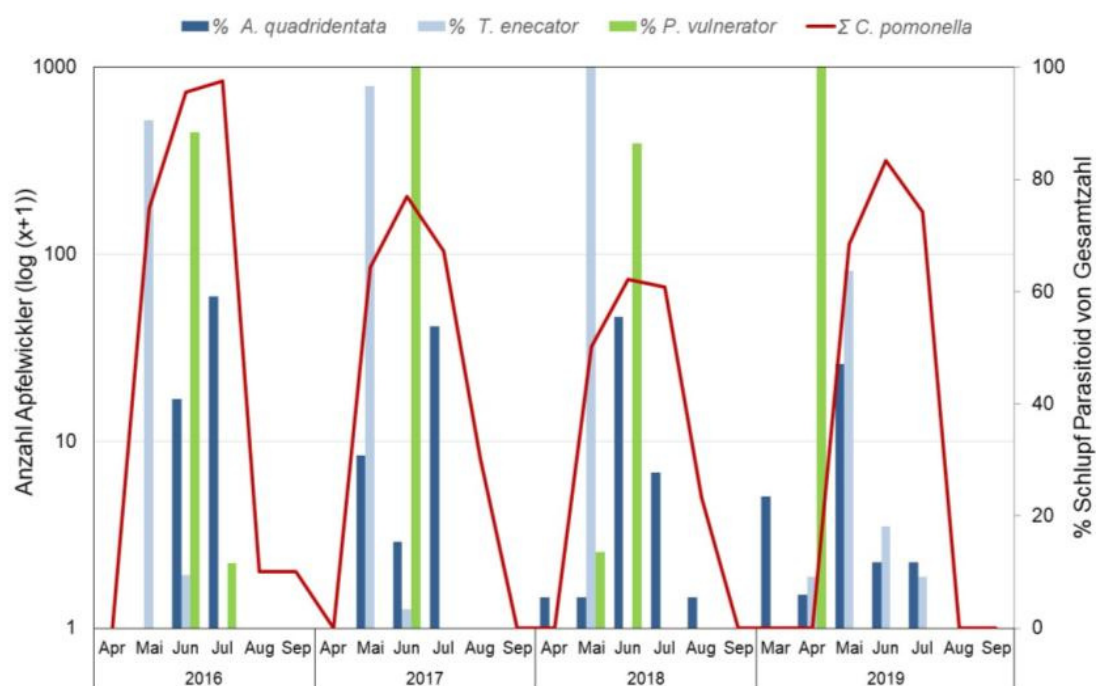


Abb. A13: Schlupfverlauf von Apfelwickler und Parasitoiden aus Wellpappen mit Kokonlarven des Wirtes. Diese waren in Obstanlagen in unterschiedlichen Regionen (Altes Land, Bodensee, Kraichgau, Südhessen und Saarland) in den Jahren 2015-2018 ausgebracht und für die Überwinterung in einem Freilandinsektarium auf dem Versuchsfeld des JKI in Darmstadt gelagert worden.

Dagegen erfolgt der Schlupf des Larven-Parasitoiden *T. enecator* früher als der des Wirtes und damit weniger gut synchronisiert mit dem im Freiland zu erwartendem Auftreten der geeigneten Wirtslarven des jeweiligen Schlupfjahres. Allerdings werden nach Scaramozzino et al. (2018) auch jüngere Wirtslarvenstadien, die sich noch in der Frucht befinden, parasitiert. Es wäre auch möglich, dass die Parasitoiden-Weibchen noch nicht geschlüpfte Kokonlarven des Vorjahres parasitieren. Der Apfelwickler selbst schlüpfte über einen relativ langen Zeitraum von Ende April bis in den August, wodurch bis weit in den Sommer hinein noch geeignete Wirtslarven für *T. enecator* vorhanden sein dürften. Diese Art bringt eine zweite Generation im Spätsommer hervor, die dann die nächste Überwinterungsgeneration des Apfelwicklers parasitieren könnte. Die Art *T. enecator* parasitiert natürlich auch noch andere Wirte, die für die Vermehrung der im Frühjahr geschüpften Tiere herangezogen werden könnten. Mehr als 40 Wirtsarten sind bekannt, wobei mindestens 25 Tortricidae dazu gehören. Gerade diese Art war relativ häufig in bewirtschafteten Intensivanlagen, was für ein dauerhaftes Vorkommen in dieser Kultur spricht. Auch diese Tiere sind Blütenbesucher und können bei vorhandenen Nahrungsressourcen mehrere Wochen leben.

Zu 2: Ökosystemleistung der Hauptparasitoide des Apfelwicklers

Die Ökosystemleistung natürlicher Gegenspieler von Agrarschädlingen besteht in der Regulierung der Populationen ihrer Wirte sowie in einer Reduktion in der Schädigung der Kulturpflanzen. Auf Grund des methodischen Aufbaus dieses Projektes war eine direkte Messung der Mortalität des Zielschädlings Apfelwickler vor Ort in den Obstanlagen oder auch eine Erhebung des Fruchtbefalls oder der Fruchternte nicht möglich. Als Schätzwert für die Parasitierungsleistung wurde daher die Parasitierung der in Wellpappen eingesammelten Apfelwicklerlarven herangezogen, indem die Schlupfanzahl der Parasitica der Anzahl eingesammelten Apfelwickler gegenübergestellt wurde. Nicht berücksichtigt wurden Larven, die aus unbekanntem Gründen abgestorben waren, die aber i.d.R. weniger als 20 % des eingesammelten Materials ausmachten. Insgesamt lag die Parasitierungsrate der in den vier Jahren gesammelten Wirtslarven nur selten über 10 %. Bei steigender Apfelwicklerdichte sank die Parasitierungsrate ab, wobei dies besonders rasch in den integrierten Anlagen der Fall war (Abb. A14, links). Die Parasitierungsrate (nicht die Anzahl!) lag in den ökologisch bewirtschafteten Betrieben am höchsten. Am Bodensee war die Parasitierungsleistung in allen drei Bewirtschaftungssystemen am niedrigsten (Abb. A14 rechts). In den dortigen IP-Flächen trat aber so gut wie kein Apfelwickler auf (z.B. Fläche IP_BO_6: 0 Apfelwickler in vier Jahren). In der mittleren Region (Rhein-Main-Tiefebene: Kraichgau, Südhessen, Saarland) waren teilweise höhere Parasitierungsraten sowohl in Bio- als auch in extensiven Anlagen festzustellen.

Bei Anpassung eines gemischten linearen Modells unter Berücksichtigung des Probejahres als Zufallseffekt und der Apfelwicklerdichte ergab sich ein positiver Zusammenhang zwischen Parasitierungsrate und Wirtsdichte, der aber durch die lokale Situation modifiziert wird (Abb. 15). Die Höhe der Parasitierungsrate wird nicht durch die Bewirtschaftung beeinflusst (keine signifikanten Tukey-Kontraste), ist aber in den Regionen unterschiedlich. Am Bodensee ist sie signifikant geringer als im Alten Land und in der Region RMTS.

Eine durchschnittliche Parasitierungsrate von 10 % ist sicherlich zu gering, um einen ausreichend begrenzenden Einfluss auf das Populationswachstum des Apfelwicklers zu haben, was auch an den z.T. hohen Apfelwicklerdichten in Extensivanlagen festzustellen ist.

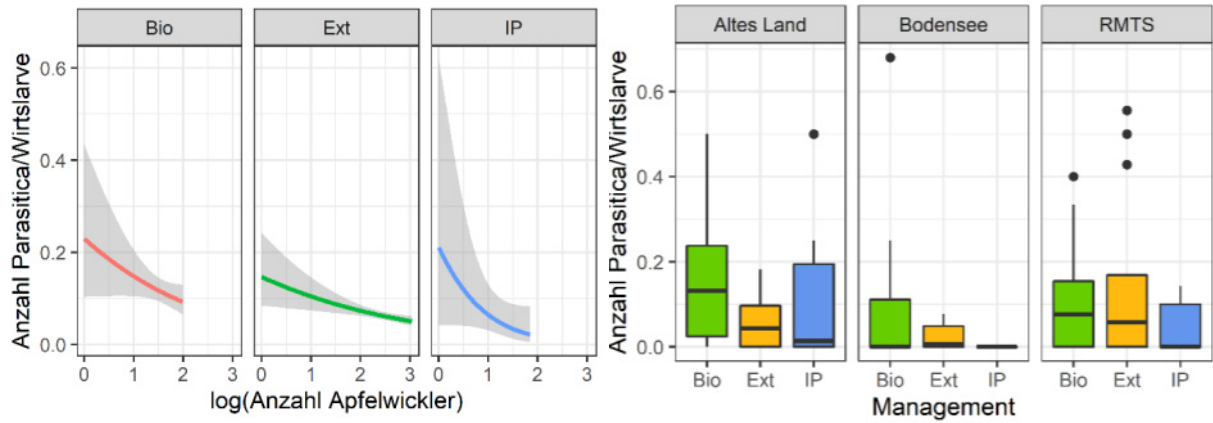


Abb. A14: Parasitierungsraten (Anzahl Parasitica/Wirtslarve) in ökologisch (Bio), extensiv (Ext = Most-/Streuobstwiesen) oder integriert (IP) bewirtschafteten Obstanlagen in (links) Abhängigkeit von der Anzahl gesammelter Apfelwicklerlarven (logarithmisch aufgetragen) und (rechts) in den Regionen Altes Land, Bodensee, Kraichgau + Südhessen + Saarland (RMTS). Die Apfelwicklerlarven wurden in Wellpappen in den Jahren 2015-2018 gesammelt und in einem Freilandinsektarium bis zum Schlupf im Folgejahr überwintert.

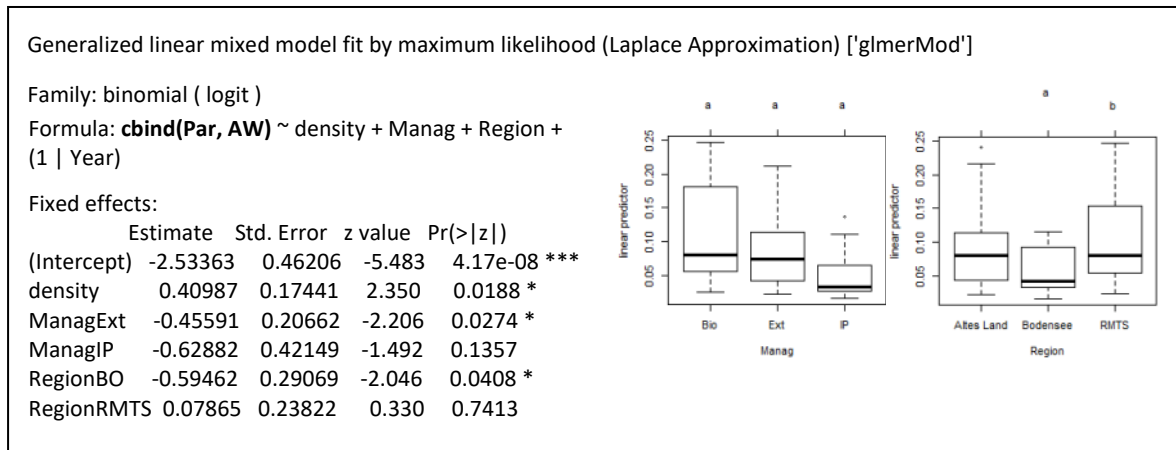


Abb. A15: Minimal adäquates Model mit signifikanten fixen Effekten auf die Anzahl Parasitica/Wirtslarve (= Parasitierungsrate), (GLMM, binomial verteilte Daten), in ökologisch (Bio), extensiv (Ext, Most-/Streuobstwiesen) oder integriert (IP) bewirtschafteten Obstanlagen in den Regionen Altes Land (AL), Bodensee (BO), Kraichgau + Südhessen + Saarland (RMTS). Rechts eingebildet sind Unterschiede zwischen Effektstufen nach Testung von Tukey-Kontrasten auf die Modellwerte.

Allerdings schränkt die Wellpappenmethode die Erhebung auf diejenigen Parasitoide ein, die in den Kokonlarven des Apfelwicklers zu finden sind. Weder Ei- noch Puppenparasitoide werden so erfasst. Außerdem könnte es sein, dass sich parasitierte Apfelwicklerlarven anders verhalten und nur zum Teil in der Borke des Apfelbaumes bzw. in den Wellpappen zu finden sind. Der zwar nur selten gefundene Parasitoid *Liotryphon caudatus* z.B. übt ein ausgeprägtes Hostfeeding (Pfitzner & Herz, 2018) an späten Kokonlarven auf und verursacht u.U. dadurch eine weitere Reduktion vitaler Apfelwickler. Auch diese Mortalität wurde nicht erhoben.

In den Bio-Tafelobstanlagen war die Parasitierung teilweise höher und könnte gerade dort ein begrenzender Faktor für diejenigen Wirte sein, die z.B. einer CpGV-Behandlung erfolgreich entkommen sind. Da dort eigentlich immer Apfelwicklerlarven zu finden sind (Tab. A3), ist die Förderung dieser Gegenspieler doch wichtig. Teilweise sind diese Arten sehr langlebig und profitieren von Nahrungsquellen wie Blühpflanzen (Herz et al. 2012, Matráy & Herz, in Vorb.). Sie könnten auch

von benachbarten Streuobstwiesen in die bewirtschafteten Anlagen einfliegen und so die Populationen dort zahlenmäßig verstärken.

Zu 2: Anreicherung von Parasitoidenpopulationen durch Einsatz eines Augmentoriums

Ein Augmentorium dient zur gezielten Vermehrung von spezifischen Gegenspielern wie Parasitoiden auf ihren Wirtsstadien direkt in der Kultur, wobei nur die Gegenspieler, nicht aber die Schädlinge ins Freie gelangen können. Es handelt sich i.d.R. um ein Gefäß mit ausreichendem Fassungsvermögen, das so konzipiert ist, dass die notwendigen Entwicklungsstadien des Schädlings eingelagert werden können, und das gleichzeitig durch z.B. ein Netz bestimmter Maschengröße verschlossen ist, welches die Schädlinge zurückhält, den erfolgreichen Schlupf der Parasitoidenimagines erlaubt. Diese Strategie wurde z.B. bei der Vermehrung von Parasitoiden von Fruchtfliegen bereits erfolgreich getestet (Deguine et al., 2011). Wellpappen lassen sich leicht an Apfelbäumen anbringen und würden den Obstbauern erlauben, einen Teil der Apfelwicklerpopulation im Herbst einzusammeln. Diese Wellpappen könnten dann auch in ein Augmentorium eingelagert werden mit dem Ziel, im folgenden Frühjahr Parasitoide schlüpfen zu lassen. In einem Laborversuch wurde untersucht, mit welchen gängigen Insektenschutznetzen den erfolgreichen Schlupf von Parasitoiden erlauben, ohne Falter des Apfelwicklers zu entlassen. Dazu wurden einzelne Wellpappenrollen mit darin eingesponnenen Apfelwicklerlarven in Plastikeimer gelegt (2 l Volumen), diese mit Netzen unterschiedlicher Maschenweite (Tab. A4) verschlossen und im Gewächshaus bis zum Schlupf der Insekten gelagert. Die Proben stammten sowohl aus dem Freiland als auch aus der Laborzucht mit definierter Anzahl unparasitierter und von *A. quadridentata* parasitierten Apfelwicklerlarven. Die mit den Freiland- bzw. Kontrollproben versehenen Plastikbecher wurden in größere Netzkäfige (Volumen ca. 0,4 m³, Firma BugDorm) überführt, welche die aus dem Eimer entkommenen Tiere zurückhielten. Somit konnte ausgezählt werden, wie viele Tiere durch das jeweilige Netz schlüpfen konnten und wie viele nicht. Jede Maschenweite wurde in vierfacher Wiederholung getestet (Tab. A4).

Tab. A4: Verschiedene Netze mit Maschenweiten und Verwendungszweck als mögliche Trennbarriere zum Einsatz in einem Augmentorium für Apfelwickler-Parasitoide. Es wurden aus dem Freiland und Labor stammende, mit Apfelwicklerlarven versehene Wellpappen eingelagert und der Schlupf von Imagines aus den Pappen und durch das Netz beobachtet. Schlupf AW: Daten der einzelnen in dem Versuch verwendeten Netze.

Firma	Maschengröße	Farbe	Verwendung	Schlupf AW	Schlupf AQ	Schlupf andere
Howitec	1,35x1,35mm	weiß	Kohlfliegenetz	0 %	77 %	66 %
Windhager	3x3mm	weiß	Gemüsefliegen	0 %	75 %	62 %
Agroflor	5x5mm	schwarz	Laubschutznetz	91 %	90 %	93 %
Agroflor	3x8mm	schwarz	Hagelschutznetz	96 %	84 %	71 %

Engmaschige, weiße Fliegenetze (1,35 x 1,35 mm, 3 x 3 mm) hielten demnach die Falter von *C. pomonella* zurück, während *A. quadridentata*-Imagines zu einem großen Anteil durch diese Maschen schlüpfen konnte. Kleinere Parasitoide, die zu den Erzwespen gehörten, kamen mit allen Netzen zurecht (Schlupf 100 %). Insgesamt gab es nur zwei größere Schlupfwespen; diese schlüpfen erfolgreich durch die Netze mit den Maschenweiten 5x5mm und 3x8 mm. Bestimmte Schädlinge wie der Apfelblütenstecher und vor allem die in Proben der Obstbauregionen Altes Land und Bodensee unerwartet häufig auftretenden Miniermotten schlüpfen allerdings ebenfalls zu einem hohen Anteil auch durch die engmaschigen Netze (1,35x1,35 mm, 3x3 mm).

IV. 2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge

Arbeitspaket A3: Kompatibilität mit Pflanzenschutzverfahren

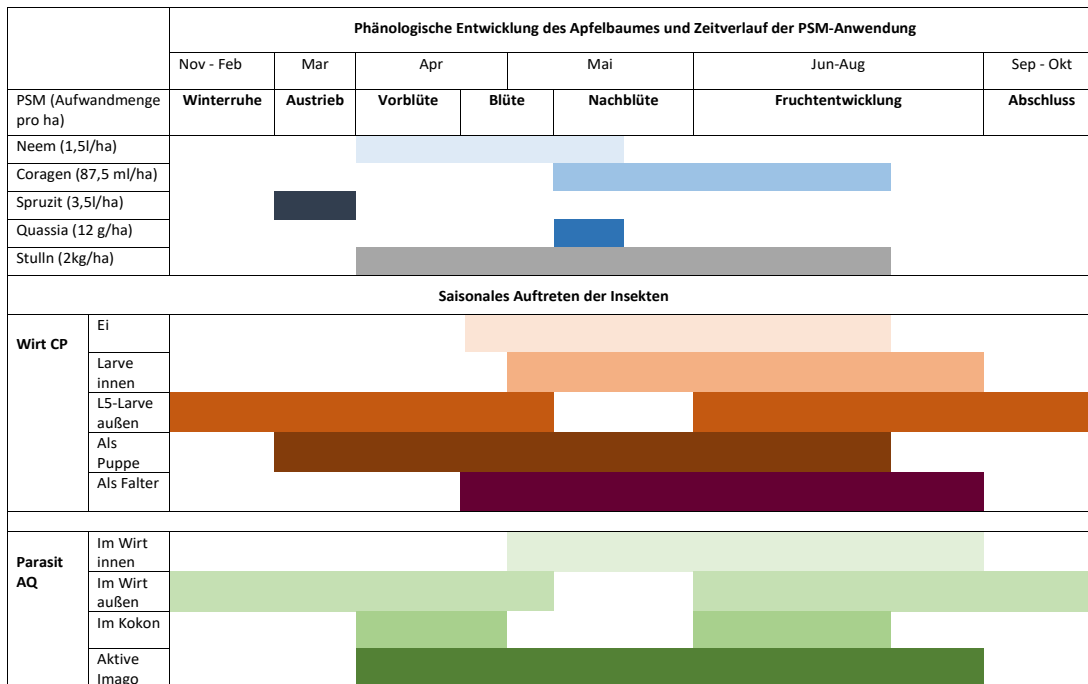
Zielsetzungen:

1. Auswirkung von Pflanzenschutzmitteln auf Apfelwickler-Parasitoide
2. Interaktion der Apfelwickler-Parasitoide mit anderen Nützlingen

Zu 1: Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln

Mögliche Nebenwirkungen häufig verwendeter Pflanzenschutzmittel (PSM) in Obstanlagen wurden auf die Apfelwickler-Brackwespe *A. quadridentata* als Stellvertreterart geprüft. Bei dieser Art parasitieren die Weibchen das Wirtsei bzw. den darin empfindlichen Embryo, in dem sich aber die Parasitoidenlarve sich zunächst nicht weiterentwickelt. Erst wenn die Wirtslarve das 4. Stadium erreicht, setzt die Parasitoidenentwicklung ein. Die Wirtslarve verlässt die Frucht und spinnt sich an der Borke des Baumes ein. Der Parasitoid setzt dann seine Entwicklung fort, tötet den Wirt ab und schlüpft entweder nach der Verpuppung oder aber nach der Überwinterung im darauffolgenden Frühjahr. *A. quadridentata* ist damit sowohl im Wirtsei, der -larve und dem -kokon als auch als adultes Tier im Obstbau eingesetzten Pflanzenschutzmitteln direkt oder indirekt ausgesetzt. Zu Prüfung kamen wichtige Insektizide im integrierten (Coragen, eingesetzt gegen Apfelwickler) und ökologischen Anbau (Neem gegen Blattläuse, Spruzit gegen Apfelblütenstecher, Quassia gegen Apfelsägewespe) als auch das sowohl im IP- als auch Ökoanbau eingesetzte Fungizid Stulln (Netzschwefel). Diese Mittel werden auch appliziert, wenn adulte Brackwespen aktiv sind (Tab. A5)

Tab. A5: Applikationszeitpunkt von ausgewählten Pflanzenschutzmitteln in Apfelanlagen im Vergleich zum Auftreten des Wirtsorganismus *Cydia pomonella* (CP, bivoltine Population) und der Apfelwickler-Brackwespe *Ascogaster quadridentata* (AQ). Larve innen: Stadium L1-L5 im Inneren der Frucht. Larve außen: L5-Larve, die die Frucht verlassen hat und sich außerhalb in einen Kokon spinnt zur Verpuppung oder Überwinterung.



Methoden:

Die Versuche prüften entweder eine direkte Kontaktwirkung der PSM-Anwendung auf adulte Brackwespen (je nach Verfügbarkeit nur Männchen oder beide Geschlechter von *A. quadridentata* = AQ), auf die Entwicklung des Parasitoiden im behandelten Wirt oder aber auf das Wirtsfindervermögen adulter Weibchen. Dazu wurden auch verschiedenen Versuchsgefäße eingesetzt (Abb. A16).

In allen Versuchen wurden die Pflanzenschutzmittel in praxisüblicher Aufwandmenge verwendet. Die Applikation erfolgte in einer Sprühapplikationsanlage auf entsprechende Medien (Glasplatten im Mortalitätstest, Plastikdeckel im Persistenztest) oder aber durch Eintauchen in entsprechend konzentrierter PSM-Lösungen (Wirtsfindung in Petrischalenarena bzw. Olfaktometer).

Direkte Kontaktwirkung

Mortalitätstest: Als Versuchskäfig dienten Metallrahmen, die mit zwei Glasplatten versehen wurden (Abb. A17). Diese waren zuvor in der Sprühapplikationsanlage mit PSM (Spruzit®Neu, Coragen® oder Stulln®) behandelt worden. Nachdem das Produkt getrocknet war wurde jeweils ein AQ-Männchen pro Käfig eingesetzt. Zur Versorgung diente eine mit Zuckerlösung (5 %) befeuchtete Dentalwatte. Die Käfige wurden für 10 Tage bei 25 °C im Lichtthermostat (70 % r.H., 16 h/8 h Licht/Dunkelheit) gelagert. Es wurde täglich notiert, ob Tiere gestorben waren. Die Versuche wurden in vier Wiederholungen pro PSM bzw. unbehandelte Kontrolle (Wasser) mit jeweils fünf Versuchskäfigen (Behandlung von 10 Glasplatten) durchgeführt.

Persistenztest: Hier wurde die Kontaktwirkung der PSM Spruzit®Neu, Coragen® und Stulln® nach unterschiedlich langen Alterungsprozessen im Freiland (Wind, Sonneneinstrahlung/ UV-Strahlung, Regen) auf adulte Brackwespen getestet. Der Versuch wurde für jedes Pflanzenschutzmittel zweimal im Juni/Juli 2018 mit je fünf Wiederholungen pro PSM und Zeitpunkt durchgeführt. Die PSM wurden in der Sprühapplikationsanlage auf die Deckel von Plastikbechern (ca. 10 cm Durchmesser) gesprüht. Anschließend wurden die behandelten Deckel auf dem Versuchsfeld in belaubte Apfelbäume gehängt und nach 0, 1, 2, 3, und 4 Tagen Exposition anschließend im Labor auf die passenden Becher gesetzt. Pro Becher wurden zwei Versuchstiere (beide Geschlechter, max. 48 h alt, insgesamt also 10 Tiere pro Mittel und Tag) eingebracht worden. Zur Ernährung diente eine mit Zuckerlösung (5 %) befeuchtete Dentalwatte. Die Becher wurden seitlich und am Boden mit schwarzer Pappe abgedeckt, so dass sich die Tiere hauptsächlich nach oben zum Licht orientierten und damit am behandelten Deckel aufhielten. Der Versuch wurde im Lichtthermostat bei 22 °C, 70 % r.H. und 16 h Licht gelagert und es wurde für sieben Tage täglich kontrolliert, ob Tiere gestorben waren. Als Kontrolle wurden Deckel mit Wasser behandelt.

Beeinflussung der Parasitierungsleistung

Wirtsfindervermögen: Ziel dieses Versuchs war es herauszufinden, ob eine Behandlung der Wirtseier mit verschiedenen PSM (NeemAzal-T/S, Stulln, Quassia Extrakt, Coragen) das Wirtsfindervermögen von AQ-Weibchen beeinflusst. Als Versuchsarena dienten Petrischalen (8 cm Durchmesser), deren Bodenfläche in sechs gleichgroße Bereiche unterteilt wurden, in denen mittig jeweils ein Ei des Apfelwicklers platziert werden sollte (Abb. A16). Dazu wurden frisch abgelegte Eier mittels Tauchapplikation mit der jeweiligen Behandlung (PSM: praxisübliche Aufwandmenge, Wasser als Kontrolle) versehen bzw. eine Gruppe wurde auch nicht getaucht (unbehandelte Kontrolle). Nach Einlegen von jeweils sechs Eiern der gleichen Behandlung pro Petrischale wurde ein AQ-Weibchen

(frisch geschlüpft, naiv) eingesetzt und für zwei Stunden das Verhalten dokumentiert (Tab. A6). Gleichzeitig waren immer sechs Versuchsansätze (=Petrischalen) mit unterschiedlichen Behandlungen im Einsatz. Nach einem Versuchsdurchgang wurden die Weibchen entfernt und die Apfelwickler-Eier einzeln auf Zuchtmedium überführt und durchgezüchtet. Die Versuche wurden in jeweils mit 30 Wiederholungen pro Behandlung durchgeführt.

Tab. A6: Definitionen der beobachteten Verhaltensweisen von *A. quadridentata* im Laborversuch zum Wirtsfindevermögen gegenüber mit Pflanzenschutzmitteln behandelten Wirtseiern.

Verhaltensweise	Definition
Nicht-Beachtung des Wirtseis	Nicht-parasitiertes Ei wird ohne weitere Reaktion überlaufen
Interesse an Wirtsei	Arretierung und Haltung der Antennen dicht beieinander am Substrat
Parasitierung des Wirtseis	Weibchen sticht den Ovipositor länger als 10 Sekunden in das Ei
Ablehnung des Wirtseis	Weibchen läuft über ein bereits parasitiertes Ei ohne weitere Reaktion
nicht-parasitierungsrelevante Aktion	Laufen, Sitzen und Putzen

Erfolg der Parasitierung: Hierfür wurden die Tiere nach dem Schlupf auf ein Nährmedium gesetzt, welches sie erst zum letzten Larvenstadium verließen. Danach wurden die Tiere in Wellpappe gegeben, um sich dort verpuppen zu können. Nun wurde noch der Schlupf der Adulten abgewartet. Die Imagines wurden dann in Feinkostbecher überführt und bis zu ihrem Tod mit Wasser und einer 5%-igen Zuckerlösung versorgt. Folgende Daten wurden erhoben: Entwicklungsstopp der Eier (Anfangsstadium, Rotringstadium, Schwarzkopfstadium), Entwicklungsstopp Larve (totes Larvenstadium), Entwicklungsstopp Puppe, Lebensdauer der Imagines.

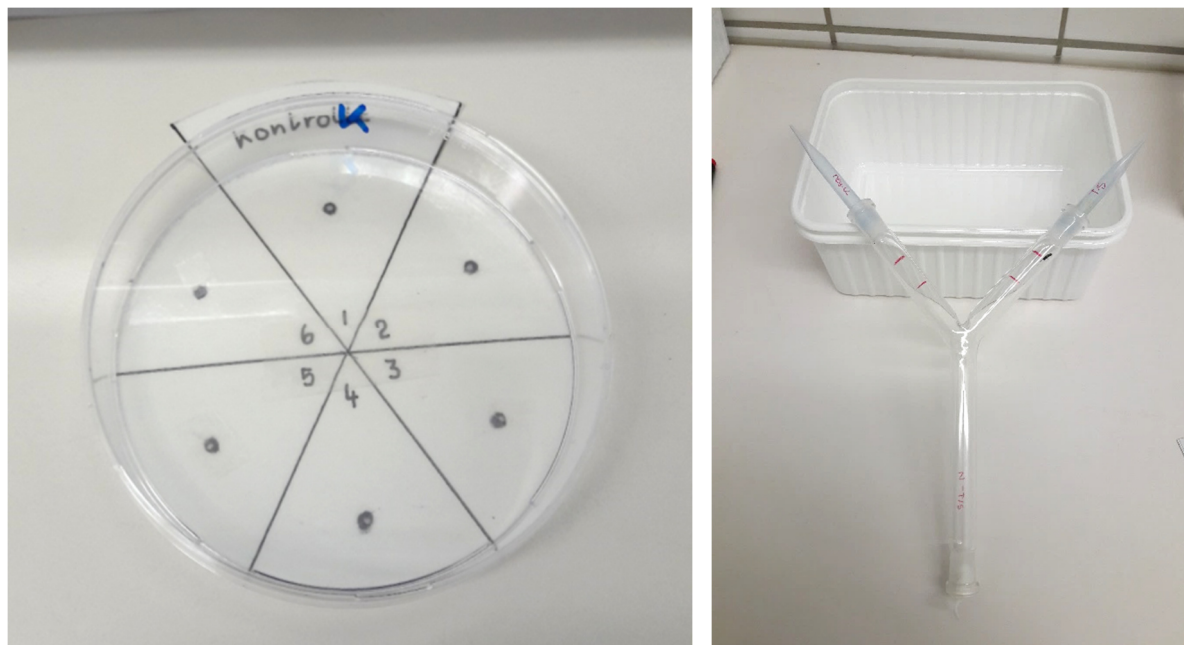


Abb. A16: Versuchsvorrichtungen zur Prüfung von PSM-Effekten auf das Wirtsfindevermögen von Weibchen der Apfelwickler-Brackwespe *A. quadridentata*. Links: Arena-Versuch mit Wirtseiern. Rechts: Y-Olfaktometer.

Effekt von NeemAzal®-T/S auf die Akzeptanz von Wirtseiern: Die Verhaltensbeobachtung der *A. quadridentata* während des Wirtsfindungsversuchs zeigte, dass die beobachteten Weibchen die mit NeemAzal®-T/S behandelten Eier meist ignorierten. In zwei Versuchsserien wurde daraufhin geprüft, ob das Präparat NeemAzal® oder die Leerformulierung T/S eine maskierende oder repellente Wirkung

Negativkontrolle (Eifolie ohne Wirtseier), Positivkontrolle (Eifolie mit Wirtseiern), T/S (Folie mit Eiern, 30 sec in T/S-Formulierung eingetaucht) und Neem (Folie mit Eiern, 30 sec in mit NeemAzal®-T/S-Lösung eingetaucht). Folgende Kombinationen wurden zur Wahl gestellt: 1) Negativkontrolle gegen Negativkontrolle; 2) Negativkontrolle gegen Positivkontrolle; 3) Negativkontrolle gegen T/S; 4) Negativkontrolle gegen Neem, 5) T/S gegen Neem.

In der ersten Versuchsserie wurde die AQ-Weibchen (24 h, naiv) einzeln in Petrischalen gesetzt, in den zuvor die Folienstücke auf jeweils einer Hälfte des Bodens eingelegt worden waren. Hier bestand Kontaktmöglichkeit zur Folie. Für die zweite Versuchsserie wurde ein Y-Olfaktometer eingesetzt, wodurch das Testtier nur dem Duft der Folie ausgesetzt wurde. In beiden Versuchen wurde die Position bzw. die Wahl und Aufenthaltsdauer des Versuchstieres in einem bestimmten Aufenthaltsbereich dokumentiert. Es wurden jeweils fünf Weibchen getestet, die nacheinander allen fünf Situationen ausgesetzt wurden. Die Dokumentation erfolgte jeweils für 30 min und wurde als Video aufgenommen.

Ergebnisse:

Direkte Kontaktwirkung

Bei direktem Kontakt mit frisch behandelten Glasplatten ergaben sich reduzierte Überlebensraten in den Behandlungen mit den Präparaten SpruzitNeu (SN) und Stulln (S) gegenüber der Kontrolle ohne PSM (Abb. A17). Eine kurzfristige Beeinträchtigung in Form einer Aktivitätsminderung wurde bei Kontakt mit Coragen behandelten Glasplatten beobachtet.

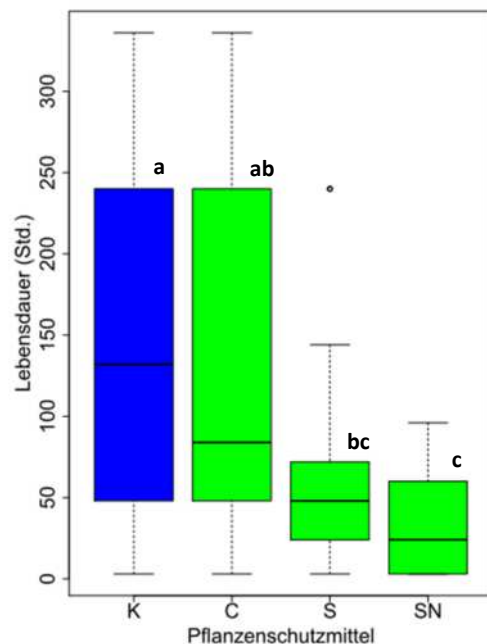


Abb. A17: Überlebensdauer (Stunden) männlicher Apfelwickler-Brackwespen (*A. quadridentata*) bei Exposition auf mit Pflanzenschutzmitteln (praxisübliche Aufwandmenge) bzw. Wasser behandelten Glasplatten (links, n = 20/Behandlung). Unterschiedliche Buchstaben weisen auf signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen Varianten K = Kontrolle mit Wasser, C = Coragen, S= Stulln, SN = SpruzitNeu. Kruskal-Wallis-ANOVA, $X^2 = 28,919$, $df = 3$, $p < 0,0001$ mit Dunns-post hoc Test, Bonferroni-Korrektur).

Bei Kontakt mit unterschiedlich im Freiland gealterten PSM-Spritzbelägen auf Plastikscheiben (Deckel von Bechern) waren in der Regel keine Unterschiede in der Überlebensdauer der *A. quadridentata* im

Vergleich zur Kontrollsituation (Behandlung mit Wasser) zu verzeichnen (Abb. A18). Allerdings war beim ersten Versuchsdurchgang bei der Variante mit dem Präparat Stulln® am 4. Tag eine reduzierte Lebensdauer im Vergleich zur Kontrolle festzustellen. Sonst zeigten sich keine Beeinträchtigungen der Überlebensdauer der Brackwespe bei Kontakt mit den PSM-behandelten Plastikdeckeln. Im Vergleich zu der Exposition gegenüber frischen Belägen könnten die geringen Effekte zum einen durch die geringe Persistenz der PSM im Freiland, aber auch in der Substrathaftung (Plastik gegenüber Glas) und der geringeren Kontaktfläche bedingt sein, denn bereits direkt nach der Applikation (Tag 0) war keine erhöhte Mortalität bei den Brackwespen zu verzeichnen.

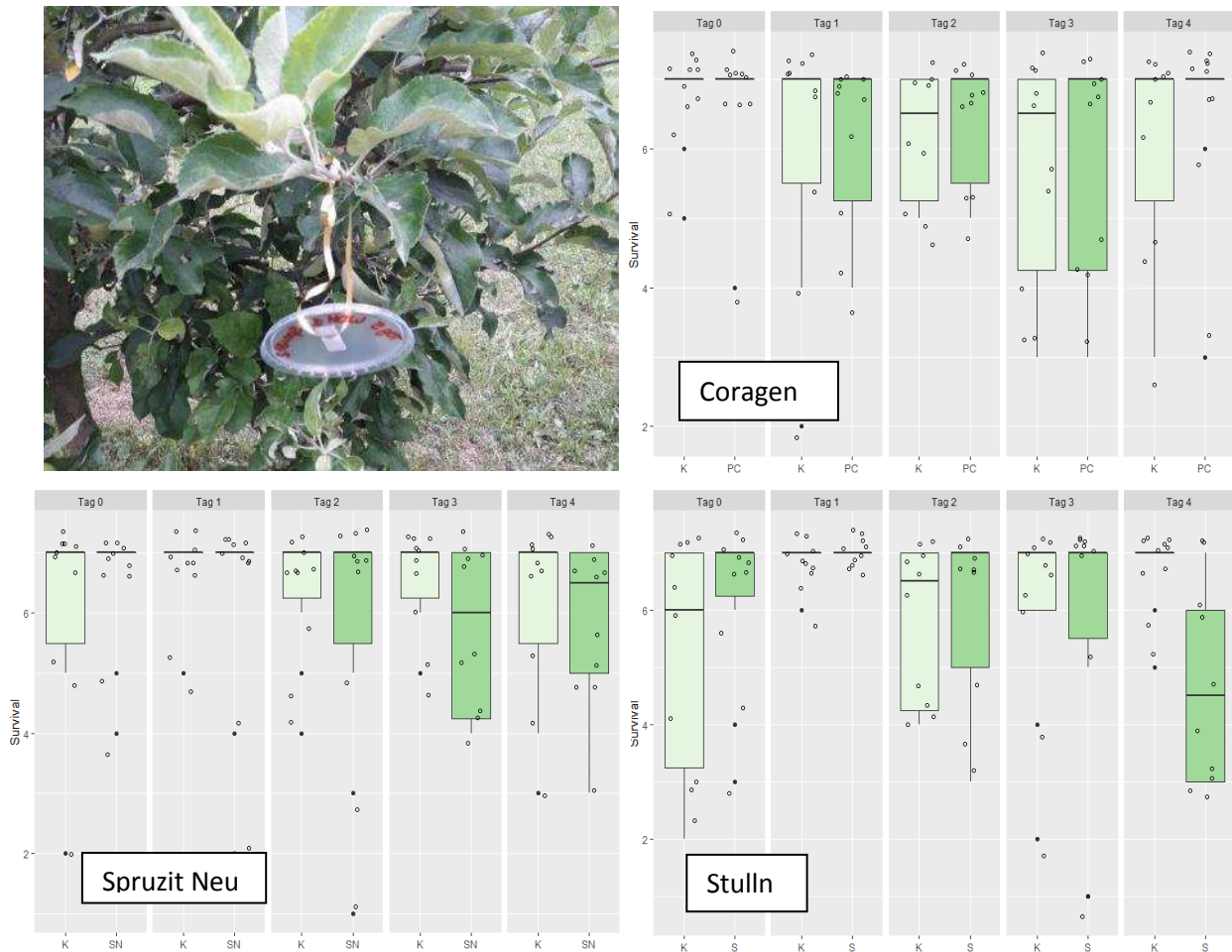


Abb. A18: Überlebensdauer in Tagen (Survival) männlicher Apfelwickler-Brackwespen (*A. quadridentata*) bei Exposition auf mit Pflanzenschutzmitteln (praxisübliche Aufwandmenge) bzw. Wasser behandelten Plastikdeckeln, die zuvor für 0 bis 4 Tagen (Tag0, Tag1, Tag2, Tag3, Tag4) in die Krone von Apfelbäumen gehängt worden waren (oben links). Variante K = Kontrolle (hellgrün) mit Wasser, PC = Coragen, SN= SpruzitNeu, S = Stulln (jeweils dunkelgrün).

Coragen wird im Apfelanbau gegen den Apfelwickler bei Eiablage eingesetzt. Gegen die adulte Brackwespe wirkt ein Kontakt mit dem Präparat offensichtlich nicht lebensverkürzend. Stulln (Netzschwefel) reagiert mit Wasser, Luft und Licht zu Schwefeldioxid, was bei direktem Kontakt toxisch für die adulten Brackwespen sein könnte. Netzschwefel wird häufig in der Praxis eingesetzt und könnte daher *A. quadridentata* bei direkter Exposition gefährden, eventuell auch nach mehreren Tagen nach der Anwendung, wenn entsprechende abiotische Bedingungen vorliegen (Persistenzversuch). SpruzitNeu enthält als Wirkstoff das Kontaktinsektizid Pyrethrum, das die erhöhte Sterblichkeitsrate von *A. quadridentata* bei Kontakt mit frischen PSM-Belägen auf

Glasplatten bewirkt hat. Im Freiland wird der Wirkstoff bei UV-Strahlung sehr schnell abgebaut. Es wird in der Regel früh in Vorblüte eingesetzt gegen den Apfelblütenstecher, so dass zumindest *A. quadridentata* weniger in Kontakt kommen sollte.

Beeinflussung der Parasitierungsleistung

Wirtsfindervermögen: Weibchen von *A. quadridentata* beachteten mit dem Produkt NeemAzal®-T/S behandelte Eier nicht (z.B. keine Antennenreaktion) und parasitierten diese im Gegensatz zu anderen Varianten auch nicht (Abbildung A19; $\chi^2= 62,3982$; $df=5$, $p< 0,001$). Die Reaktionen gegenüber den anderen Behandlungen unterschieden sich dagegen nicht gegenüber den Kontrollen. Allerdings wurde bei der unbehandelten Variante die höchste Anzahl an Parasitierungsaktionen beobachtet.

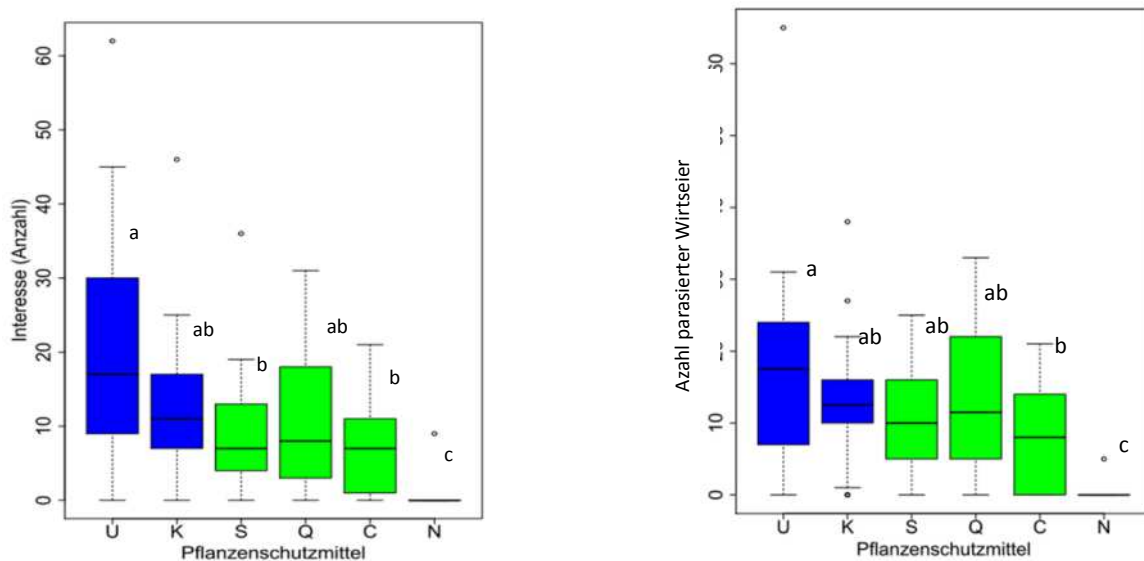


Abb. A19: Anzahl Antennenreaktionen (=Interesse, links) und Anzahl parasitierter Wirtseier (rechts) pro *A. quadridentata*-Weibchen nach unterschiedlicher Behandlung der Wirtseier mit Pflanzenschutzmitteln. Unterschiedliche Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede ($p< 0,05$) zwischen Varianten U = Folie mit unbehandelten Apfelwickler-Eiern aus der Zucht, K = Kontrolle mit Wasser, S= Stulln, Q = Quassia, C = Coragen, N = NeemAzal ($n = 30$, Kruskal-Wallis-ANOVA mit Dunns-post hoc Test, Bonferroni-Korrektur).

Erfolg der Parasitierung: *A. quadridentata* entwickelt sich als koinbionter Endoparasitoid in der Wirtslarve und bedingt eine verkürzte Entwicklung bis zum 4. Larvenstadium. Nicht-parasitierte Apfelwicklerlarven entwickeln sich dagegen bis zum 5. Larvenstadium. Die Behandlungen der Wirtseier im Versuch zum Wirtsfindervermögen bedingten einen unterschiedlichen Schlupferfolg der Apfelwicklerlarven (Abb. A20). Die PSM-Behandlungen hatten eine unterschiedliche Auswirkung auf den Schlupf der L1-Larven aus dem Ei (Kruskal-Wallis-Test: $\chi^2=72,582$, $df=5$, $p<0,0001$). Aus mit NeemAzal®-T/S behandelten Eiern schlüpfte nur eine einzige L1-Larve. Auch auf die weitere Entwicklung der Larven konnten Effekte beobachtet werden. So hemmte der Kontakt mit dem Präparat Coragen® sowohl die Entwicklung von parasitierten Apfelwickler-Larven (kein Schlupf von L4-Larven) als auch nicht parasitierten Apfelwickler-Larven (kein Schlupf von L5-Larven). Bei der Variante „unbehandelt“ war die höchste Anzahl von erfolgreich parasitierten L4-Larven zu verzeichnen (Abb. A20, Mitte). Ein ähnliches Bild ergab sich bezüglich des erfolgreichen Schlupfes adulter Brackwespen bzw. Apfelwickler.

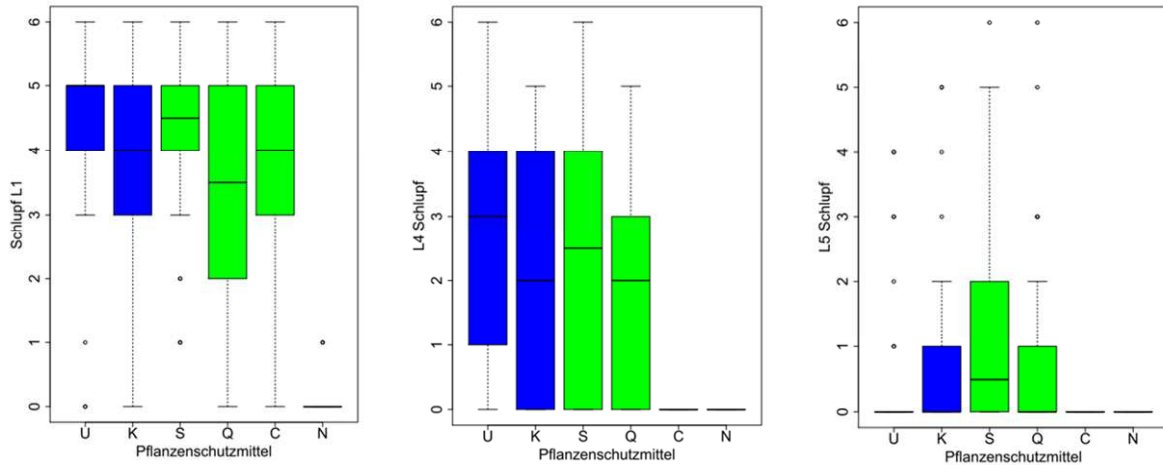


Abb. A20: Anzahl erfolgreich entwickelter L1, L4 (parasitiert) und L5 (nicht parasitiert) Larven des Apfelwicklers nach unterschiedlicher Behandlung der Wirtseier mit Pflanzenschutzmitteln und Exposition gegenüber *A. quadridentata* Weibchen. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) waren zwischen N und allen Varianten beim L1-Schlupf bzw. N und C und allen weiteren Varianten beim L4 und L5 Schlupf festzustellen ($n = 30$, Kruskal-Wallis-ANOVA mit Dunns-post hoc Test, Bonferroni-Korrektur). U = Folie mit unbehandelten Apfelwickler-Eiern aus der Zucht, K = Kontrolle mit Wasser, C = Coragen, S= Stulln, Q = Quassia.

Die aus den Varianten Stulln oder Quassia erfolgreich geschlüpften Brackwespen oder Apfelwickler unterschieden sich nicht bezüglich ihrer anschließenden Lebensdauer im Vergleich zu Tieren aus unbehandelten Eiern. Dies betraf auch die Dauer der Entwicklung insgesamt. Demnach konnten keine sublethale Effekte dieser Präparate festgestellt werden. Das Insektizid Coragen dagegen tötete – wie erwartet – die Apfelwicklerlarven im L1-Stadium ab, wovon natürlich auch parasitierte Apfelwickler-Larven betroffen waren. Die Wirkung des Präparates NeemAzal war so nicht erwartet, ist aber erklärbar durch Effekte auf die Embryonalentwicklung, was auch durch Beobachtungen in dem Versuch nahegelegt werden kann. Es kam offensichtlich zu einem Entwicklungsstopp des Embryos, wovon auch parasitierte Wirte betroffen waren.

Effekt von NeemAzal®-T/S auf die Akzeptanz von Wirtseiern: Mit Neem behandelte Eier waren im Gegensatz zu Coragen-behandelten Eiern für Weibchen von *A. quadridentata* nicht interessant und wurden nicht parasitiert (siehe oben). Ob der für die Wirtsfindung notwendige Geruch der Eier maskiert war oder aber volatile Stoffe des Neem-Präparates eine Repellenz bei den Weibchen hervorgerufen haben, wurde im Folgenden in einem Arena- und Olfaktometerversuch untersucht.

Bei Angebot von Neem bzw. T/S behandelten Folien mit Eiern im Vergleich zu Folie ohne Eier in der Petrischale, die den Versuchstieren auch Kontakt zu Eiern ermöglichten, hielten sich die Weibchen in den beiden Schalenbereichen ungefähr gleich häufig auf (Tab. A7); dies war auch bei gleichzeitigem Angebot von Neem behandelte und T/S behandelte Folie mit Eiern der Fall. Nur bei der Variante mit unbehandelter Folie mit Eiern hielten sich die Weibchen länger in dem Bereich auf, in dem diese Folie ausgelegt war.

Bei Angebot von Neem bzw. T/S behandelten Folien mit Eiern im Vergleich zu Folie ohne Eier im Olfaktometer hielten sich die Weibchen hauptsächlich im Hauptrohr auf und trafen somit keine Wahl zwischen den Röhren mit den Folien, ähnlich wie bei dem Angebot mit Folien ohne Eier. Dagegen wurden sie offensichtlich von Folien mit unbehandelten Eiern eindeutig angezogen und hielten sich länger in bei diesen Folien auf (durchschnittlich über 90 % der Beobachtungszeit von 1800 sec) (Tab. A8).

Tab. A7: Arena-Versuch zum Wirtsfindevermögen von *A. quadridentata* in Petrischale. Positionen ①, ②: hälftige Bereiche der Petrischale mit Eifolien, Position ③: in der Mitte der Petrischale, Freilassungspunkt. Die Werte geben den Durchschnitt von fünf Weibchen an, die allen Testvarianten gemäß der angegebenen Reihenfolge ausgesetzt wurden. NK: unbehandelte Folie ohne Eier, PK: unbehandelte Folie mit Eiern, T/S: mit Leerformulierung T/S behandelte Folie mit Eiern, NA: mit Präparat NeemAzal T/S behandelte Folie mit Eiern. Statistischer Test: je nach Datenverteilung Repeated Measure ANOVA (verbundene Stichproben) oder Friedman-Test (Ranganalyse mit verbundenen Stichproben). Signifikante Unterschiede in Aufenthaltszeit werden durch unterschiedliche Buchstaben angezeigt (nach Tukey, bzw. Dunn's posthoc-Test für multiple Vergleiche).

Test	% Aufenthaltsdauer von 1800 sec im Bereich			Ergebnis Stat. Test mit Absolutdaten (sec)
	①	②	③	
① versus ②				
NK – NK	45 ± 6 ^{ab}	51 ± 8 ^a	4 ± 2 ^b	Chi ² = 7,6, 2 d.f., P= 0,024
NK – PK	32 ± 7^a	64 ± 7^b	4 ± 4^c	F=74,741, d.f.=2,14, p<0,001
NK – T/S	52 ± 14 ^a	41 ± 12 ^a	6 ± 4 ^b	F=16,431, d.f.=2,14, p<0,001
NK – NA	43 ± 8 ^{ab}	51 ± 19 ^a	6 ± 5 ^b	Chi ² = 8,4, 2 d.f., P= 0,008
T/S – NA	46 ± 12 ^a	47 ± 9 ^a	7 ± 4 ^b	F=21,997, d.f.=2,14, p<0,001

Tab. A8: Versuch zum Wirtsfindevermögen von *A. quadridentata* im Olfaktometer. Aufenthaltsdauer (% von insgesamt 1800 sec) von *A. quadridentata*-Weibchen in verschiedenen Positionen innerhalb eines Y-Rohr-Olfaktometers. Positionen ①, ②: kurze Schenkel des Olfaktometers, in die der Duft von unterschiedlich behandelten Eifolien eingebracht wurde. Position ③: langes Endrohr des Olfaktometers, in den das Versuchstier eingebracht wurde. Weitere Erklärungen siehe Tab. A7.

Test	% Aufenthaltsdauer von 1800 sec im Bereich			Ergebnis Stat. Test mit Absolutdaten (sec)
	①	②	③	
① versus ②				
NK – NK	15 ± 4 ^a	22 ± 9 ^a	63 ± 8 ^b	RM-ANOVA, F = 44,317, p<0,001
NK – PK	1 ± 2^a	91 ± 10^b	8 ± 9^a	RM-ANOVA, F = 132,877, p<0,001
NK – T/S	29 ± 23 ^a	15 ± 15 ^a	56 ± 21 ^a	RM-ANOVA, F = 3,277, p<0,091
NK – NA	23 ± 27 ^{ab}	14 ± 5 ^a	63 ± 25 ^b	RM-ANOVA, F = 4,978, p<0,039
T/S – NA	11 ± 9 ^a	10 ± 6 ^a	78 ± 14 ^b	RM-ANOVA, F = 48,083, p<0,001

Diese Befunde sprechen dafür, dass die Behandlung mit NeemAzal T/S bzw. auch T/S allein vor allem den attraktiven Geruch von Wirtseiern überdeckt und der Foliengeruch die Weibchen dadurch nicht mehr anlockt (Vergleich Test NK-PK gegenüber den Varianten NK-T/S, NK-NA, T/S-NA). Substanzen an abgelegten Eiern von *C. pomonella* bzw. dort befindliche Flügelschuppen des Falters besitzen eine kairomonale Wirkung auf *A. quadridentata*-Weibchen (De Lury et al. 1999). Die in dem Präparat bzw. auch in der Leerformulierung enthaltenen ölhaltigen Substanzen könnten diese Wirkung ausdünnen bzw. auch durch eigene Geruchsstoffe maskieren. Im Prinzip wäre aber dieser Effekt für den Parasitoiden vorteilhaft: da die NeemAzal T/S behandelten Eier sich nicht entwickeln konnten, wäre ein darin befindlicher Parasitoid sowieso abgestorben. Werden diese Eier aber nicht entdeckt, wird kein Parasitoiden-Ei „verschwendet“. NeemAzal T/S wird im Obstbau relativ früh gegen die Mehligke Apfelblattlaus und eventuell auch gegen Frostspanner eingesetzt, nicht jedoch gegen Apfelwickler. Hier wären nur sehr früh abgelegte Eier betroffen (etwa Mitte April) und damit auch nur die ersten der geschlüpften Parasitoiden. Eine Beeinträchtigung erfolgt durch gegen *C. pomonella* ausgebrachte PSM

wie Coragen und Granulovirus-Präparate. Beide PSM töten die Wirte und damit die Nahrungsressource für die nächste *A. quadridentata* – Generation ohne „Vorwarnung“.

Zu 2: Interaktion mit anderen Nützlingen

Insbesondere in ökologisch bewirtschafteten Anlagen kommen zur Bekämpfung des Apfelwicklers auch regelmäßig kommerziell vermehrte Nützlinge wie *Trichogramma*-Eiparasitoide (Sigsgaard et al., 2017) und vor allem entomopathogene Nematoden zum Einsatz (Fördergemeinschaft ökologischer Obstbau, foeko e.V., 2020). Mögliche Interaktionen bzw. auch Beeinträchtigungen vorkommender Schlüsselantagonisten, wie z.B. der Ei-Larvalparasitoid *Ascogaster quadridentata* (Abbildung A21) wurden in Labor- bzw. Halbfreilandversuchen geprüft.

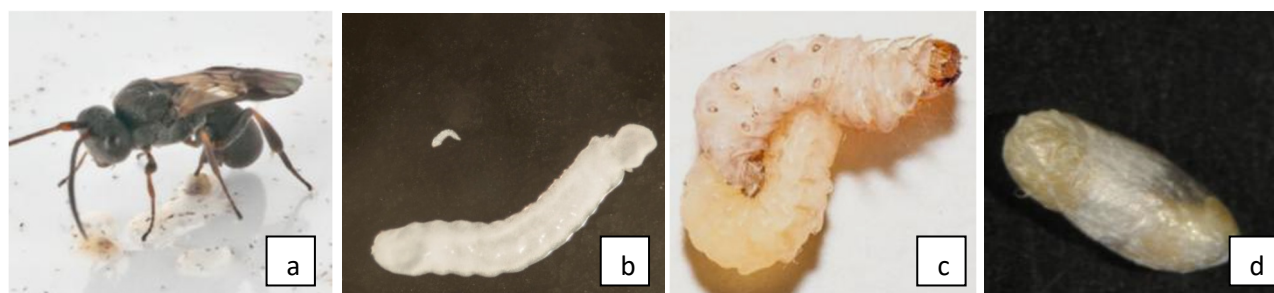


Abb. A21: Verschiedene Entwicklungsstadien der Apfelwickler-Brackwespe *Ascogaster quadridentata*. Von links nach rechts: a) Weibchen (ca. 5 mm) parasitiert ein Apfelwickler-Ei. b) Endoparasitisch lebendes erstes (oben) und zweites (unten) Larvenstadium des Parasitoiden, aus der Wirtslarve herauspräpariert, beide unter 1 mm groß. c) Drittes Larvenstadium (ca. 4-5 mm) des Parasitoiden verlässt Wirtslarve (oben). Dieser Vorgang findet normalerweise im Kokon des Apfelwicklers statt. Es erfolgt noch eine kurzzeitige ektoparasitische Fraßphase an dem Wirt. d) Kokon des Parasitoiden (ca. 4 mm lang).

Interaktionen mit Trichogramma-Eiparasitoiden

Laborversuche zu dieser Fragestellung wurden teilweise während eines DAAD-finanzierten Aufenthaltes einer Gastwissenschaftlerin durchgeführt. Bei Belegung eines Wirtseies durch beide Parasitoiden-Arten war die Parasitierung durch *Trichogramma* erfolgreich, während der Endoparasitoid *A. quadridentata* im Ei- oder ersten Larvenstadium abgetötet wurde. Weibchen beider Parasitoiden-Arten nahmen aber eine Belegung durch die jeweils andere Art wahr und parasitierten diese Eier tendenziell weniger. Dies spricht für eine Nischendifferenzierung zwischen beiden Arten. Zudem vermag *A. quadridentata* auch ältere Wirtseier erfolgreich zu belegen, was *Trichogramma* eher vermeidet (Tab. A9). Die Ergebnisse der Laborversuche sind z.T. veröffentlicht in Ksentini & Herz (2019).

Tab. A9: Akzeptanz und Parasitierung von *C. pomonella*-Eier unterschiedlichen Alters durch *T. cacoeciae* bzw. durch *A. quadridentata*. No-Choice-Versuch mit jeweils 10 Weibchen pro Parasitoidenart und Wirtsstadium und einer Testdauer von 2 h. Werte gefolgt von unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant unterschiedlich (Kruska-Wallis-ANOVA mit posthoc-Test).

Status Wirtsei	<i>Trichogramma cacoeciae</i>		<i>Ascogaster quadridentata</i>	
	N Kontakte	N par Eier	N Kontakte	N par Eier
Frisch abgelegt, < 24 h	10,3 ± 1,69a	3,3 ± 1,78a	10,5 ± 11,8a	3,9 ± 3,69a
Rotring-Stadium, 72 h	6,9 ± 4,28ab	4,5 ± 3,50a	8,2 ± 6,07a	3,9 ± 2,85a
Schwarzkopf-Stadium, 144 h	5,4 ± 3,50b	0,3 ± 0,67b	11,1 ± 5,02a	4,5 ± 3,10a
	H=12,2, d.f.=2, P=0,002	H=16,2, d.f.=2, P< 0.001	H=0,61, d.f.=2, P=0,736	H=0,29, d.f.=2, P=0,862

Ein Zeltversuch zur Interaktion unter Freilandbedingungen mit künstlich an Apfelbäumen exponierten Wirtseiern (in zwei Versuchen insgesamt 3051 Eier) und freigelassenen Parasitoiden war nicht erfolgreich, da nur äußerst wenige Eier parasitiert wurden (*T. cacaoeciae*: 27 Eier, *A. quadridentata*: 2 Eier). Da die Eier nicht direkt von Apfelwicklern abgelegt wurden, sondern auf Blätter aufgeklebt, waren die Parasitoide offensichtlich nicht in der Lage, ohne natürliche Signalstoffe von z.B. Flügelschuppen der Falter ihre Wirte zu finden.

Interaktionen mit entomopathogenen Nematoden

Eine Anwendung von *Steinernema*-Nematoden gegen die am Stamm überwinterten Kokonlarven des Apfelwicklers könnte auch dort in oder an der Wirtslarve befindliche Parasitoidenlarven beeinträchtigen. Es wurden verschiedene Szenarien getestet und herausgefunden, dass durch *A. quadridentata* parasitierte Wirtslarven gegenüber einer Infektion mit entomopathogenen Nematoden (*S. feltiae*) ähnlich empfindlich sind als nicht parasitierte Apfelwicklerlarven (Abb. A22). Dabei wird zwar die Parasitoidenlarve selbst nicht parasitiert, stirbt aber durch das rasche Absterben ihrer Wirtsressource.

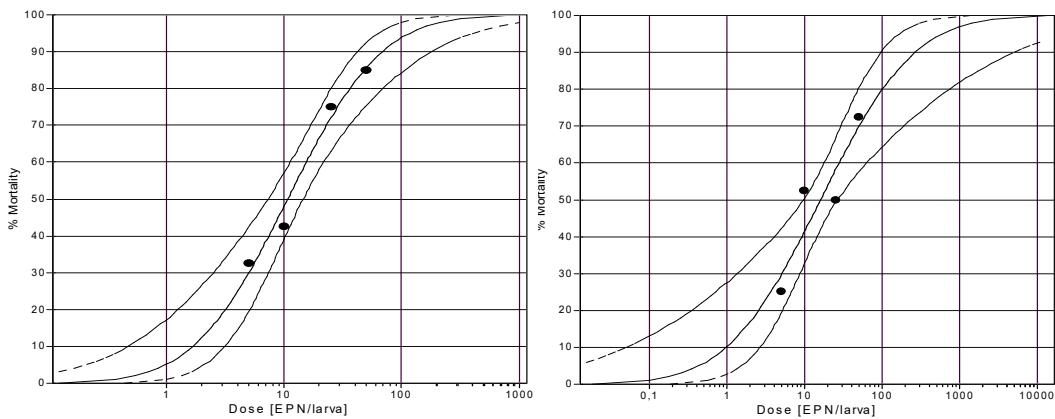


Abb. A22: Mortalität von unparasitierten (links) bzw. von *A. quadridentata* parasitierten (rechts) Kokonlarven des Apfelwicklers nach Behandlung mit entomopathogenen Nematoden (EPN) in Petrischalen. Pro Larve wurden 0, 5, 10, 25 oder 50 *Steinernema feltiae* appliziert. Ergebnisse aus vier Wiederholungen mit jeweils 10 Wirtslarven pro Dosierung.

Hatten die Parasitoidenlarven ihre Entwicklung bereits abgeschlossen, die Wirtslarve bereits abgetötet, verlassen und ihren eigenen Kokon ausgebildet (Abb. 21 c und d), waren sie weniger empfindlich gegenüber den Nematoden. Danach wäre eine Frühjahrsbehandlung vorzuziehen, um den Zeitpunkt abzusichern, zu dem die Parasitoiden-Larve die Wirtslarven bereits verlassen haben. Allerdings ist dieses Zeitfenster sehr eng (fünf Tage bei 20 °C nach Beendigung der Diapause) und wäre in der Praxis nicht vorhersehbar. Durch *A. quadridentata*-parasitierte Apfelwicklerlarven entwickeln sich allerdings schneller und könnten bereits im Spätsommer mit Wellpappen abgesammelt und dann in ein Augmentorium gebracht werden, während die später auftretenden, unparasitierten Apfelwickler anschließend nach Ausbildung ihres Kokons am Stamm des Wirtsbaumes mit Nematoden behandelt werden könnten. Aber auch dieses Vorgehen würde eine sehr genau zeitlich geplante Anwendung erfordern, die nicht einfach zu prognostizieren und somit für den kommerziellen Anbau nicht akzeptabel ist.

IV. 2 Teilprojekt A: Invertebrate Nützlinge

Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse

- **Extensive Streu- und Mostobstflächen** sind **reich** an Arthropoden in der Baumschicht im Vergleich zu intensiven Erwerbsobstanlagen. Sie bieten auch zahlreiche Beutetiere für Nützlinge, z.B. Blattläuse für aphidophage Arten. Spinnen und Parasitica der Baumschicht waren in den teilweise strukturreichen und obstbaudominierten Regionen Bodensee und Altes Land häufiger als in der von Ackerland dominierten Region im Kraichgau. Die Bewirtschaftungsweise hatte bei einigen Taxa (Arthropoda, Pflanzensauger, Wanzen, Marienkäfer) einen Effekt auf ihr Vorkommen, denn sie waren signifikant häufiger in Klopffproben aus extensiven Anlagen (Ext, Streu-/Mostobst) als aus intensiv bewirtschafteten (Bio, IP) Tafelobstanlagen. Bei einer vergleichenden Untersuchung in Neuseeland stellten Malone et al. (2017) mehr Arthropoda bei Bioobstflächen im Vergleich zu integrierten fest, wobei dies aber vor allem durch höhere Anzahlen von herbivoren Invertebraten bedingt war. Die „Taxon-Richness“ bzw. die Shannon-Diversität der betrachteten Arthropoden-Gruppen war dagegen nicht von der Bewirtschaftung beeinflusst und die Autoren führen dies auf eine generelle Verbesserung der Nachhaltigkeit in den integriert wirtschafteten Betrieben zurück. In unserer Untersuchung variierte die Situation in den einzelnen Betrieben zwar stark, doch setzten die IP-Betriebe durch ihre mehrjährige Einbindung in das **Demo-IPS-Projekt** die Prinzipien des Integrierten Pflanzenschutzes vorbildlich um, was positive Effekte auf die Arthropoden-Fauna (v.a. Spinnen, Parasitica, Coccinellidae) in ihren Anlagen bewirkt haben könnte.
- Die **Abundanz** von parasitoiden Hymenoptera in der Krautschicht von Tafelobstanlagen erwies sich als unabhängig von der Bewirtschaftungsweise. Ihre durchschnittliche Anzahl war in der **strukturreichen Bodenseeregion**, aber auch **im vom Obstanbau dominierten Alten Land** deutlich höher als im Kraichgau mit einem **hohen Anteil von Ackerland** in der Umgebung der beprobten Obstanlagen.
- Die Parasitoidenfauna in der Krautschicht von ökologisch bewirtschafteten Tafelobstanlagen erwies sich als diverser in dem Vorkommen der auf Familienniveau bestimmten Taxa als die von integriert bewirtschafteten. Dieser Befund zeigte sich in allen drei Obstanbauregionen. **Bioanbau** fördert demnach die **Vielfalt** von parasitoiden Hymenoptera in Obstanlagen.
- Weitergehende taxonomische Analysen müssen prüfen, ob sich eine typische „Obstgesellschaft“-Parasitoidenfauna herausgebildet hat, die z.B. in Streu- oder Mostobstwiesen erhalten und gefördert werden kann (z.B. auch durch Liegenlassen von Fallobst). Es gilt zu prüfen, inwieweit dann Parasitoide aus Extensivflächen in intensiver bewirtschaftete Obstanlagen in der Nähe einwandern und ob ein diverses Mosaik aus Obstanlagen mit unterschiedlich intensiver Bewirtschaftung in den wichtigsten Obstbauregionen Deutschlands die Häufigkeit und Diversität ihrer typischen „Bewohner“ fördern kann. Dazu gehören natürlich auch Apfelwickler und andere Schädlinge, weshalb deren potentielle Ausbreitung in benachbarte Intensivobstanlagen ebenfalls betrachtet werden muss, um mögliche Risiken einer Schädlingsvermehrung auszuschließen. In einer Studie von Horak et al. (2013) stieg der Artenreichtum bestimmter Organismen in Obstanlagen mit zunehmenden Anteilen von Obstwiesen in der umgebenden Landschaft. Dagegen dokumentierten Samnegård et al. (2018) einen geringeren Artenreichtum von natürlichen Gegenspielern bei zunehmendem Anteil von Obstanbau in der Landschaft und führen dies auf ein Überwiegen von IP-Intensivflächen zurück. In dem gleichen Forschungsprojekt dokumentierten Happe et al. (2018; 2019) eine große Variationsbreite in den Effekten von Landschaftsstruktur und

lokalen Faktoren wie Pflanzenschutz, Vegetationsmanagement, Habitatqualität auf verschiedene Taxa von Prädatoren. Zu beachten ist, dass diese Studien nicht die Gruppe der Parasitoide, die an bestimmte Wirtsgruppen gebunden sind, betrachten, weswegen die Ergebnisse nicht direkt mit unseren Untersuchungen vergleichbar sind.

- Wichtige Parasitoide des Apfelwicklers kamen in allen drei Regionen regelmäßig vor. Dabei tritt die **Ichneumonide *Trichomma enecator*** auch in integrierten Tafelobstanlagen mit sehr geringer Wirtsdichte auf und kann dort Latenzbestände des Apfelwicklers parasitieren. Die **Brackwespe *Ascogaster quadridentata*** dominiert in extensiven Anlagen ohne chemische oder biologische Apfelwickler-Bekämpfung. Die Parasitierungsraten lagen **im Durchschnitt bei 10 %** und waren in Bio-Tafelobstanlagen am stabilsten. In Extensivflächen sind zwar mehr Parasitoide vorhanden, die sich aber bei zunehmenden Wirtsdichten dort nicht schnell genug vermehren können. Trotzdem ist denkbar, dass von diesen Habitaten aus die wichtigsten Apfelwickler-Parasitoide in umliegende Tafelobstanlagen einwandern können. Nebenwirte dieser Arten könnten in Streuobstwiesen zur Verfügung stehen oder auch z.B. durch die Anlage von Weißdornhecken gefördert werden. In einer ähnlichen Studie in Frankreich wurde eine durchschnittliche Parasitierungsrate von 4,5 % festgestellt, wobei die Parasitierung in ökologisch bewirtschafteten Anlagen höher lag. Zudem stieg die Parasitierungsrate in diesen Anlagen in Abhängigkeit von dem Vorhandensein von Hecken und anderen ökologisch bewirtschafteten Obstbau-Flächen in der Nähe, was von den Autoren als förderlich für eine allgemeine Steigerung der Ökosystemleistung dieser Arten angesehen wird (Maalaouly et al. 2013).
- Die Brackwespe *A. quadridentata* wird im Adultstadium **nur kurzzeitig und bei direkter Exposition** im Laborversuch durch Kontakt mit den Pflanzenschutzmitteln **Spruzit Neu, Coragen und Stulln** beeinträchtigt. Bei Kontakt mit im Freiland gealterten PSM-Spritzbelägen auf Plastikmaterial wurde die Überlebensrate adulter Brackwespen im Vergleich zur Kontrollbehandlung nicht reduziert. Das **Wirtsfindevermögen** der Brackwespe war bei einer Behandlung der Wirtseier mit **NeemAzal T/S** stark beeinträchtigt. Diese Eier wurden nicht gefunden und nicht parasitiert. Dagegen wurden Eier, die mit Stulln, Quassia oder Coragen behandelt waren, kontaktiert und erfolgreich parasitiert. Die Wirtslarven bzw. auch die darin befindliche Parasitoidenlarve entwickeln sich aber in Coragen-behandelten Eiern nicht weiter. Coragen wird gegen den Apfelwickler eingesetzt und wirkt ovi- bzw. larvizid. Eine ähnliche Wirkung ist auch beim Einsatz von Viruspräparaten zu erwarten. Auch die mit Neem behandelten Eier entwickelten sich nicht zum Apfelwickler und starben ab. Der Einsatz von NeemAzal T/S gegen die Mehligte Apfelblattlaus erfolgt i.d.R. vor dem zeitlichen Auftreten von Apfelwickler-Eiern oder *A. quadridentata*. Erfolgt aber ein Einsatz gegen die Nordische Apfelwanze oder andere Wanzenarten kann sich die Anwendung des Präparates mit der Präsenz adulter Brackwespen, die auf der Suche nach ihren Wirten sind, durchaus überschneiden.
- Die wichtigen Apfelwicklerparasitoide *A. quadridentata*, *Pristomerus vulnerator* und *Trichomma enecator* treten **gut synchronisiert** mit ihrem Wirt auf. *A. quadridentata* und auch *P. vulnerator* parasitieren Wirtseier und frisch geschlüpfte Junglarven; ihre Populationen werden dadurch beeinträchtigt, dass diese Stadien durch effiziente PSM abgetötet werden. *T. enecator* parasitiert etwas ältere Stadien und kann sich in überlebenden Wirten vermehren. Vorhandene Parasitoide kann man durch **Verbesserungen der Habitatbedingungen** wie **Blühpflanzen** sehr gut unterstützen, da diese Maßnahmen zur Lebensverlängerung und höherer Parasitierungsleistung führen können (Cahenzli et al., 2019; Herz et al., 2019; Matráy & Herz, in prep.).

- Bei Einsatz von **alternativen biologischen Pflanzenschutzverfahren** auf der Basis von Nützlingen wie *Trichogramma*-Eiparasitoiden und entomopathogene Nematoden werden auch die spezifischen Apfelwicklerparasitoide durch Beseitigung ihrer Wirtsressourcen geschädigt. Eventuell vermeidet *A. quadridentata* aber bereits durch *Trichogramma* belegte Wirtseier. Entomopathogene Nematoden dagegen töten die Wirtslarve und somit auch alle darin befindlichen Endoparasitoidenlarven.
- Der Einsatz eines **Augmentoriums** ist vielleicht in Streu- oder Mostobstwiesen eine interessante Methode zur Anreicherung von Parasitoidenpopulationen bei gleichzeitiger, PSM-freier Reduktion der Apfelwicklerpopulation. Diese Möglichkeit sollte noch weiter erforscht werden.

IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	64
Abbildungsverzeichnis	65
Allgemeine Methoden.....	67
Medium für Pilzkulturen	67
Herstellung von Konidien suspensionen	67
Zucht von <i>Galleria mellonella</i>	67
Arbeitspaket B1: Vorkommen insektenpathogener Pilze (einschließlich Mikrosporidien) und anderer Pathogene in Abhängigkeit des Anbausystems und des Standortes	69
I Proben aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands	69
II Einfluss von Bewirtschaftungsform und Apfelsorte auf das Vorkommen insektenpathogener Pilze ..	74
Lage der Probeflächen	74
Bodenprobenahme und -auswertung	74
III Umweltverhalten von drei ausgewählten Pilzstämmen	75
Herkunft der Pilze	75
Wirkung von UV-Strahlung auf die Keimung von EPF-Sporen	76
Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von EPF	77
Verteilung der Pilze um den jeweiligen Zielbaum	78
Arbeitspaket A2: Einfluss von Pflanzenschutzverfahren auf insektenpathogene Pilze	79
Zielsetzungen:.....	79
Wirkung von Fungiziden auf das Wachstum von EPF.....	79
Wirkung eines Herbizids auf das Wachstum von EPF.....	80
Arbeitspaket A3: Wirksamkeit insektenpathogener Pilze	81
Wirkung von EPF auf <i>Forficula auricularia</i>	81
Wirkung entomopathogener Pilze auf <i>Trichogramma cacoeciae</i>	83
Wirkung entomopathogener Pilze auf Apfelwickler (<i>Cydia pomonella</i>)	84
Wirkung entomopathogener Pilze auf Apfelblütenstecher (<i>Anthonomus pomorum</i>).....	87
Versuche zur Anwendung von <i>Beauveria brongniartii</i> gegen Engerlinge in Obstanlagen	89
Arbeitspaket A4: Diagnostische Untersuchungen an toten Apfelwickler-Individuen sowie an antagonistischen Parasitoiden	94
Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse	101

Tabellenverzeichnis (Legenden aus Platzgründen abgekürzt)

Tab. B1: Entomopathogene Pilze, die für die Tests in Kapitel III verwendet werden.	75
Tab. B2: Herkunft der getesteten entomopathogenen Pilze (IP=Integrierter Pflanzenschutz, Bio=biologisch, BB=Braeburn, TOP=Topaz).....	81
Tab. B3: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2016 an adulten Apfelwicklern (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund).....	95
Tab. B4: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2017 an Raupen und Adulten des Apfelwicklers sowie an parasitischen Hymenopteren (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökoogisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund, Mik. Mikrosporidien, EPF Entomopathogene Pilze, sap. saprophytisch).	96
Tab. B5: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2018 an Raupen und Adulten des Apfelwicklers sowie an parasitischen Hymenopteren (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökoogisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund, Mik. Mikrosporidien, EPF Entomopathogene Pilze, sap. saprophytisch).	98
Tab. B6: Gesamtanzahl diagnostisch untersuchter Apfelwickler-Individuen und darin aufgefundener entomopathogener Pilze, einschließlich Mikrosporidien (ohne Saprophyten) der Jahre 2016 - 2018 in den verschiedenen Regionen. (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökoogisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, Ent. MO Entomopathogene Mikroorganismen (Pilze, einschließlich Mikrosporidien, % gesamt gemittelt über Tieranzahl)).	99
Tab. B7: Gesamtanzahl diagnostisch untersuchter Apfelwickler-Individuen und darin aufgefundener entomopathogener Mikroorganismen der Jahre 2016-2018 in den verschiedenen Bewirtschaftungsweisen. (IP Integriert Tafelobst, Bio Ökoogisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, Ent. MO Entomopathogene Mikroorganismen).....	99

Abbildungsverzeichnis (Legenden aus Platzgründen abgekürzt)

Abb. B1: Vorkommen der insektenpathogenen Pilzgattungen *Beauveria*, *Metarhizium* und *Isaria* in Bodenproben in Abhängigkeit der Jahreszeit, Region und Bewirtschaftungsform des Versuchsjahres 2016..... 71

Abb. B2: Vorkommen der insektenpathogener Pilzarten der Gattungen *Beauveria*, *Metarhizium* und *Isaria* in Bodenproben in Abhängigkeit der Jahreszeit, Jahr, Region und Bewirtschaftungsform..... 73

Abb. B3: Vorkommen der Arten insektenpathogener Pilze in Abhängigkeit von der Bewirtschaftungsform (BIO = biologisch wirtschaftend, IP = Integrierter Pflanzenschutz) und dem Probenahmeort (Außen: 2. Baum einer Reihe, Innen: Baum, der ca. 20 m im Inneren der Anlage steht) 75

Abb. B4: Einfluss einer UV-Bestrahlung auf die Keimfähigkeit von drei verschiedenen Pilzstämmen, Mittelwert und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Versuchen. 76

Abb. B5: Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von drei verschiedenen Pilzstämmen, Mittelwert und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Versuchen. 77

Abb. B6: Pilzvorkommen (farblich markierte Kreuze) um den Zielbaum, Links: *I. fumosorosea*, Mitte: *M. guizhouense*, Rechts: *B. bassiana*, Entfernungen Probenahme vom Zielbaum: 0,3 m; 0,6 m; 0,9 m; 1,2 m; 1,8 m; 2,4 m; 3,0 m; 3,6 m und 4,2 m, Nord, Süd, Ost, West: mit zusätzlicher Probe direkt am Baum (0,0 m) 78

Abb. B7: Wirkung von Fungiziden auf das Radialwachstum ausgewählter insektenpathogener Pilze 79

Abb. B8: Einfluss eines Herbizids mit Wirkstoff Glyphosat auf entomopathogene Pilze, Radialwachstum auf Nährmedium mit Herbizid nach neun Tagen Inkubation bei 25 °C (½, einfache, doppelte max. Aufwandmenge) 80

Abb. B9: Mortalität von weiblichen (w) und männlichen (m) Tieren des Gemeinen Ohrwurms nach Tauchbehandlung mit insektenpathogenen Pilzen (MW ± Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit je 25 Tieren je Variante)..... 82

Abb. B10: Schlupfrate von *Trichogramma cacoeciae* nach Pilzbehandlung parasitierter Eier 84

Abb. B11: Einfluss verschiedener insektenpathogener Pilze auf die Schlupfrate behandelte Larven von *Cydia pomonella* (MW und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit jeweils 10 Larven). 85

Abb. B12: Einfluss verschiedener Konzentrationen insektenpathogener Pilze auf die Mortalität behandelte Larven von *Cydia pomonella* (MW und Standardabweichung von fünf zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit jeweils 25 Larven) 87

Abb. B13: Anzahl toter Tiere nach Behandlung mit verschiedenen insektenpathogenen Pilzen 88

Abb. B15: Luftbildaufnahme des Biohofs Wolff in Schaafheim mit Versuchsfeld.(Quelle: google maps, 27.06.2017) 90

Abb. B14: Schematische Darstellung des Versuchsfelds..... 90

Abb. B16: Ausbringung der verschiedenen *B. brongniartii*-Formulierungen auf der Versuchsfläche (Schlitzen des Bodens Einbringen des Granulates bzw. der Flüssigformulierung, Verschießen des Bodens) 90

- Abb. B17: Wetterdaten von der unabhängigen Wetterstation in Schaafheim (49° 55' N 8° 58' O) von der 1. Probeentnahme (27.04.2017) bis zur 3. Probeentnahme (16.11.2017) wie von den Pfeilen angezeigt, die ebenfalls den Applikationszeitpunkt (02.05.-05.05.2017) und die 2. Probeentnahme (16.06.2017) anzeigen. Im Diagramm dargestellt sind die Lufttemperatur mit gleitendem Mittelwert, die relative Luftfeuchtigkeit mit gleitendem Mittelwert und die Niederschlagsmenge. 91
- Abb. B18: Einfluss verschiedener *B. brongniartii*-Formulierungen auf die Mortalität von *Galleria mellonella* – Larven, Mittelwert und Standardabweichung aus 25 Bodenproben mit jeweils 10 Larven 92
- Abb. B19: Anzahl Engerlinge auf 0,25qm Beprobungsfläche im Grünstreifen zwischen Fahrgasse und Baumreihe (24.10.2019) 93

Das Teilprojekt B „Antagonistische Mikroorganismen“ befasst sich mit insektenpathogenen Krankheiten in Apfelanlagen Deutschlands. Ziel dieses Teilprojektes war es, die Bedeutung insbesondere von insektenpathogenen Pilzen, einschließlich Mikrosporidien in Obstanlagen zu erfassen. In vier Arbeitspaketen wurde das Vorkommen insektenpathogener Pilze (B1), der Einfluss von Pflanzenschutzverfahren (B2) die Wirksamkeit insektenpathogener Pilze (B3) sowie diagnostische Untersuchungen an toten Apfelwicklerindividuen sowie antagonistischer Mikroorganismen (B4) untersucht.

Allgemeine Methoden

Medium für Pilzkulturen

Für die Kultivierung der EPF wurde Malz-Pepton-Agar als künstliches Kultursubstrat verwendet. Das Medium besteht aus 6 g Agar, 1,5 g Sojapepton, 9 g Malz und 300 ml VE-Wasser. Das Medium wurde bei 121 °C für 20 min autoklaviert und anschließend circa 15 ml Malz-Pepton-Agar in Petrischalen (Ø 9 cm) gegossen.

Herstellung von Konidiensuspensionen

Für die Herstellung von Konidiensuspensionen wurden die Pilze zunächst von Schrägagarkultur auf Petrischalen mit MPA-Medium überimpft. Die Schalen wurden ca. drei Wochen bei 25 °C ohne Licht inkubiert, bis ausreichend Konidien produziert waren. Die Sporen wurden mit 10 ml Tween® 80 (0,5 %) von den Platten abgewaschen und durch autoklavierten Mull filtriert, um Myzel- und Agarstücke zu entfernen. Anschließend wurden die Suspensionen für 15 min in ein Ultraschallbad gegeben, um die Konidien in Sporenketten zu trennen. Die Konzentrationen der Stammsuspensionen wurden durch Zählen mit einem Hämocytometer bestimmt und die jeweils gewünschte Sporenkonzentration hergestellt. Als Kontrolle wurde, wenn sinnvoll, Tween® 80 (0,5 %) mitgeführt.

*Zucht von *Galleria mellonella**

Die *Galleria mellonella*-Larven, die für die Köder-Methode verwendet wurden, stammten aus der institutseigenen Zucht. Alle Stadien wurden bei 20-25 °C im Dunkeln gehalten. Ausgewachsene Motten und Larven des Stadiums L₃ und höher wurden in Kunststoffboxen mit Drahtgaze zur Belüftung gehalten. Die Larven des ersten und zweiten Stadiums wurden in Einmachgläsern aufgezogen. Um Tageslicht zu vermeiden, wurden Boxen und Einmachgläser in Pappkartons gestellt. Die Nahrung für die Larven im ersten und zweiten Stadium bestand aus 500 g Honig (flüssig), 500 g Glycerin, 139 g Bienenwachs, 722 g Vollkornmehl und 222 g Bierhefepulver. Das Bienenwachs wurde geschmolzen und alle Zutaten wurden miteinander vermischt. Aus dieser Masse wurden abgeflachte Kugeln geformt, die in die Einmachgläser (ca. 6 cm Durchmesser) passen. Für die älteren Larven enthielt das Futter 500 g Haferflocken, 500 g Honig (flüssig), 500 g Glycerin, 200 g Bierhefepulver, 200 g Magermilchpulver und 200 g Weizenkeime. Zuerst wurden die trockenen Zutaten von Hand gemischt und dann Honig und Glycerin hinzugefügt. Die Diäten wurden in einem Kühlschrank aufbewahrt. Für die Eiablage wurden Filterpapierstreifen in die Mottenkisten eingespannt. Die Papiere mit den Eiern wurden zweimal wöchentlich entfernt und in ein Einmachglas mit einem Futterball gegeben. Nachdem die Larven das L₃-Stadium erreicht hatten, wurden sie in eine Plastikbox mit Futter für ältere Larven überführt und zweimal pro Woche gefüttert. Einmal pro Woche wurden etwa fünfzig Larven in eine separate Box ohne Nahrung überführt. Diese Larven durften sich für die weitere Zucht verpuppen.

IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Arbeitspaket B1: Vorkommen insektenpathogener Pilze (einschließlich Mikrosporidien) und anderer Pathogene in Abhängigkeit des Anbausystems und des Standortes

Zielsetzungen:

1. Erfassung des Vorkommens insektenpathogener Pilze in Apfelanlagen Deutschlands
2. Erfassung des Artenspektrums insektenpathogener Pilze der Gattungen *Metarhizium*, *Isaria* und *Beauveria* in Abhängigkeit vom Anbausystem
3. Erfassung des saisonalen Auftretens insektenpathogener Pilze
4. Erfassung der räumlichen Ausbreitung insektenpathogener Pilze in der Apfelanlage

Methoden & Ergebnisse

I Proben aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands

Proben wurden im Alten Land, dem Kraichgau und in der Bodenseeregion genommen. Es handelte sich um die gleichen Anlagen wie im Teilprojekt A beschrieben (S. 23). Anfangs wurde sich auf Bodenproben, Blatt-/Fruchtproben und Lebendfänge konzentriert. Da von Blatt- und Fruchtproben keine, aus Bodenproben hingegen überraschend viele insektenpathogenen Pilze isoliert werden konnten, wurde sich auf die Auswertung der Bodenproben und Lebendfänge konzentriert.

Bodenprobenahme

Die Bodenproben für die Untersuchung des natürlichen Vorkommens entomopathogener Pilze wurden von Herbst 2015 bis Herbst 2018 im Frühjahr, im Sommer und im Herbst in integriert und biologisch bewirtschafteten Anlagen sowie auf unbehandelten Streuobstwiesen bzw. Mostobstanlagen entnommen. Im Alten Land wurden acht, im Kraichgau sieben und in der Bodenseeregion acht Anlagen mit je fünf Bäumen beprobt. Dazu wurden die oberen 15 cm Boden mit einem Bohrstock (Ø 6 cm) entnommen. Es wurden vier Proben pro Baum in einem Abstand von etwa 25 cm zum Stamm entnommen: zwei Proben zwischen dem Zielbaum und den beiden benachbarten Bäumen und zwei Proben zwischen dem Zielbaum und der Fahrgasse. Die vier Proben wurden in verschließbaren Plastikbeuteln gemischt. Die Mischproben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei 4 °C gelagert.

Isolierung von EPF aus Bodenproben

Bevor mit der Isolierung der Pilze begonnen wurde, wurden feuchte Bodenproben unter einer Sterilbank getrocknet und vorhandene Erdklumpen von Hand zerkleinert. Zu trockene Proben wurden mit autoklaviertem VE-Wasser befeuchtet. Die Proben wurden anschließend in zwei 100 ml-Schott-Duran-Flaschen mit perforierten Deckeln gefüllt. Für die Isolierung entomopathogener Pilze wurde die "Galleria-Köder-Methode" von Zimmermann (1986) mit leichten Modifikationen angewendet. Neben *Galleria mellonella* (Larvenstadium L₄-L₅) wurden auch Larven von *Tenebrio molitor* verwendet, da diese als besser geeignet für die Isolierung von *Metarhizium* spp. gelten. Die *Galleria*-Larven wurden in der institutsinternen Insektenzucht aufgezogen, die *Tenebrio*-Larven wurden von Zoofachgeschäften (Reptilienbedarf) bezogen. In die vorbereitete Erde wurden pro Flasche zehn Insekten gesetzt. Die Flaschen wurden 14 Tage lang bei 25 °C ohne Licht in einen Inkubator gestellt. In

den ersten fünf Tagen wurden sie gedreht, um die Larven dazu anzuregen, sich durch den Boden nach oben zu bewegen und somit die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass sie mit Pilzsporen in Kontakt kommen. Nach der Inkubationszeit wurden alle Insekten aus dem Boden entfernt. Tote Insekten ohne Anzeichen von Pilzwachstum wurden oberflächensterilisiert. Dazu wurden sie 30 Sekunden lang in NaClO (1 %) getaucht und anschließend mit autoklaviertem VE-Wasser gewaschen. Danach wurden sie separat in kleinere Plastikbecher mit angefeuchteten Dentalröllchen (sog. „Feuchte Kammern“) gelegt und bei 25 °C im Dunkeln weiter inkubiert. Lebende Insekten wurden ebenfalls separat in Plastikbecher gegeben, jedoch ohne Oberflächensterilisation und befeuchtete Dentalröllchen. Tote Insekten, die bereits Anzeichen von Pilzwachstum auf der Oberfläche aufwiesen, wurden ohne Oberflächensterilisation in feuchte Kammern gelegt. Alle Larven und Puppen wurden regelmäßig, mindestens einmal pro Woche, kontrolliert. Tote Tiere wurden auf auswachsende Pilze, lebende auf Anzeichen von Mykose, verendete Insekten oder entwickelte Adulte (Falter bzw. Käfer) untersucht. Die verendeten Insekten wurden ebenfalls oberflächensterilisiert und in feuchte Kammern gelegt. Motten und Käfer wurden als nicht mit entomopathogenen Pilzen infiziert aussortiert. Auswachsende Pilze wurden mit Einwegimpfösen abgeimpft und auf Petrischalen mit künstlichem Nährmedium übertragen. Dieses Medium bestand aus Malz, Pepton und Agar in VE-Wasser (MPA). Nach viermaligem seriellen Verdünnungsplattieren durch Entnahme von Einzelkolonien und Überführen auf neue Petrischalen wurden die Pilze als "Reinkultur" bezeichnet. Die Reinkulturen wurden als Schräg-Agar-Kultur mit dem gleichen Medium aufbewahrt und bei 8 °C in Kühlschränken gelagert. Darüber hinaus wurden die Kulturen zur dauerhaften Lagerung bei -80° C in Kryoröhrchen in einem Mikrobanksystem tiefgefroren.

Einschränkung auf EPF der Gattungen Metarhizium, Beauveria und Isaria

Da sich bei ersten Versuchen mit Apfelwicklerlarven herausstellte, dass nur Pilze der Gattungen *Metarhizium*, *Beauveria* und *Isaria* eine Wirkung gegenüber diesen aufwiesen, wurde eine Beschränkung auf diese Gattungen festgelegt. *Metarhizium spp.*, *Beauveria spp.* und *Isaria spp.* wurden anhand morphologischer Merkmale auf Gattungsebene bestimmt.

Im Jahr 2016 wurden insektenpathogene Pilze auf Gattungsebene erfasst. Auch wurde berücksichtigt, ob unterschiedliche Gattungen aus einer Bodenprobe isoliert wurden. Die in Abb. B1 dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, dass aus den einzelnen Bodenproben überwiegend eine Pilzgattung isoliert werden konnte. Bei wenigen Proben konnten zwei bzw. drei Pilzgattungen nachgewiesen werden.

Es zeigte sich, dass die Zeitpunkte der Probenahmen keinen wesentlichen Einfluss auf das Vorkommen der Pilzgattungen hatten. Allerdings ergaben sich klare regionale Unterschiede bei dem Vorkommen insektenpathogener Pilze. So konnten die Pilzgattungen *Beauveria* und *Metarhizium* in allen Regionen, hingegen die Gattung *Isaria* nur im Alten Land und am Bodensee nachgewiesen werden. Am Bodensee dominierte insbesondere die Gattung *Metarhizium* und im Alten Land *Beauveria*. Die Bewirtschaftungsform schien einen gewissen Einfluss auf das Pilzvorkommen zu haben. So war die Anzahl von Proben ohne Nachweis insektenpathogener Pilze auf den IP-Flächen am höchsten und im Streuobst am niedrigsten. In den Folgejahren wurden die Untersuchungen auf die Darstellung und Auswertung auf Artebene beschränkt (siehe Abb. B3).

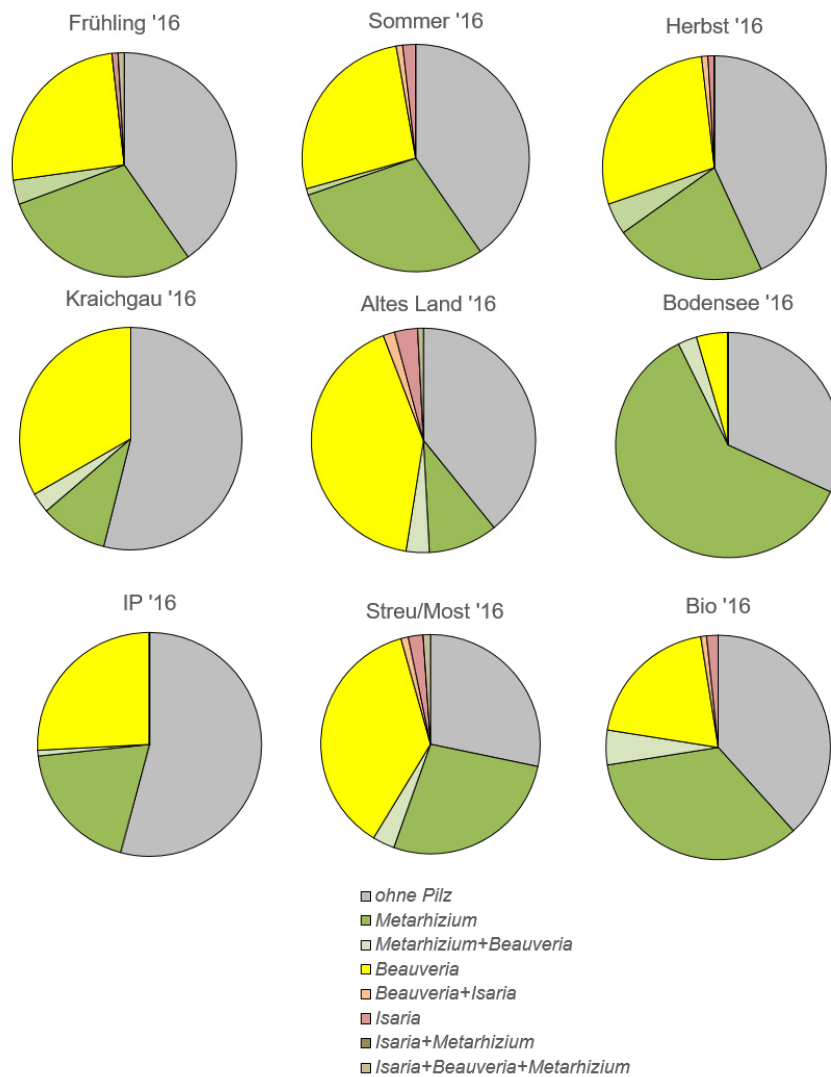


Abb. B1: Vorkommen der insektenpathogenen Pilzgattungen *Beauveria*, *Metarhizium* und *Isaria* in Bodenproben in Abhängigkeit der Jahreszeit, Region und Bewirtschaftungsform des Versuchsjahres 2016.

Molekulare Identifizierung

Zur Identifizierung der Arten wurde ein Teil des translation elongation factor 1 alpha für *Metarhizium* spp. mittels PCR amplifiziert. Für *Beauveria* spp. wurde ein Teil der BLOC-Region und für *Isaria* spp. ein Teil der ITS-Region amplifiziert. Für die DNA-Isolierung wurde das Qiagen DNeasy Plant Mini-Kit nach den Anweisungen des Herstellers verwendet. Die Pilze wurden bei 25 °C auf MPA gezogen und Pilzmaterial (Mycel und Konidien) in Lysing-Matrix-Röhrchen (Fa. mp biomedical) überführt. Die Röhrchen wurden 30 Sekunden lang in flüssigen Stickstoff getaucht und das gefrorene Pilzmaterial anschließend in einem Homogenisator zerkleinert. Danach wurden Puffer und RNase gemäß dem Protokoll des Herstellers hinzugefügt. Nach der DNA-Isolierung wurden PCRs mit AccuStart II PCR ToughMix (Fa. Quantabio) und Primern je nach Pilzgattung durchgeführt. Für *Metarhizium* spp. wurden die Primer EF2F (5'-GGAGGACAAGACTCACACATCAACG-3') und EFjR (5'-TG YTCNCGRGTYTGNCRCYTTT-3') verwendet, für *Beauveria* spp. die Primer B22U (5'-GTCGCAGCCAGAGAGCAACT-3') und B822L (5'-AGATTCGCAACGTC AACTT-3') und für *Isaria* spp. ITS 1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) und 4A (5'-CGCCGTTTACTGGGGGCAATCCCTG-3'). Zur

Sequenzierung wurden die aufgereinigten PCR-Produkte an Microsynth Seqlab (Göttingen) geschickt. Die resultierenden Sequenzen wurden mit dem Programm MEGA7 bearbeitet und mit Sequenzen aus der NCBI-Datenbank verglichen, um so die Art der Pilze zu bestimmen.

In Abb. B2 sind alle Analyseergebnisse auf Artebene nach verschiedenen Kriterien geordnet dargestellt. Insgesamt wurden ca. 1.000 Pilze als Einzelsporisolate in die Stammsammlung des JKIs überführt und stehen für weitere Untersuchungen zur Verfügung. Für die Gattung *Metarhizium* konnten die fünf Arten *M. guizhouense*, *M. robertsii*, *M. anisopliae*, *M. flavoviride* sowie *M. brunneum* nachgewiesen werden. Für die Pilzgattung *Beauveria* wurden die Arten *B. bassiana* und *B. brongniartii* und für die Gattung *Isaria* die Arten *I. fumosorosea* sowie *I. farinosa* nachgewiesen. Der Shannon-Index wird in der Biometrie häufig für die Beschreibung der Biodiversität eingesetzt. Wurden die Daten dieses Versuches mit Hilfe der sql-Prozedur (SAS System for Windows v 9.4) verrechnet, so hatte die Region einen signifikanten Einfluss auf die Biodiversität (DF: 2; F-Wert: 18,25; Pr>F: <0,0001). Wurden im folgenden Schritt mit Hilfe der glm-Prozedur die verschiedenen Regionen untereinander verglichen, so unterschied sich die Biodiversität am Bodensee (Shannon-Index: 1,020) und im Alten Land (Shannon-Index: 0,885) nicht signifikant, beide Regionen unterschieden sich aber signifikant von der Region Kraichgau (Shannon-Index: 0,518). So konnten im Kraichgau nur die Arten *M. robertsii*, *M. brunneum*, und die beiden *Beauveria*-Arten nachgewiesen werden. Auffällig war, dass am Bodensee die Art *M. guizhouense* und im Alten Land die Art *B. brongniartii* bezüglich ihrer Häufigkeiten dominierten. Dies kann möglicherweise mit dem unterschiedlichen Temperatur- und Bodenfeuchtebedürfnissen der verschiedenen Pilzgattungen bzw. Arten begründet werden. Der Art *B. brongniartii* wird eine gewisse Wirtsspezifität bei Insekten der Unterfamilie der Melolonthinae zugesprochen. Zu dieser Unterfamilie zählen u.a. Gartenlaubkäfer und Maikäfer. Ein Zusammenhang eines *B. brongniartii*-Vorkommens und eines Vorkommens geeigneter Wirte konnte im Rahmen des Projektes allerdings nicht untersucht werden.

Auch zeigte sich, dass die Bewirtschaftungsform sich signifikant auf die Biodiversität auswirkte (DF: 2, F-Wert: 31,85, Pr>F: <0,0001). Wurden im folgenden Schritt die verschiedenen Bewirtschaftungsformen verglichen, so unterschied sich die Biodiversität aller drei Bewirtschaftungsformen signifikant. Die Biodiversität war bei den biologisch wirtschaftenden Betrieben (Shannon-Index: 1,129), gefolgt von den Streu- /Most- Flächen (Shannon-Index: 0,850) am höchsten und am geringsten bei den IP-Betrieben (Shannon-Index: 0,446). Wurden die Ergebnisse nach Jahreszeiten zusammengefasst, so zeigt sich, dass die Häufigkeiten der nachgewiesenen Pilze sich nicht über das Jahr ändern. Auch konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Beprobungsjahren 2016, 2017 und 2018 ermittelt werden. Im Jahr 2017 konnte die Art *I. farinosa* nicht nachgewiesen werden. Die Abundanz der anderen Arten war über die Jahre auffällig konstant. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass sich Pilze über einen längeren Zeitraum im Boden halten können. Auch die Trockenheit im Jahr 2018 beeinflusste das Vorkommen der Pilzarten nicht. Dies kann für eine Anwendungsstrategie insektenpathogener Pilze von Bedeutung sein. Da im Boden die Umweltbedingungen im Vergleich zu den Bedingungen auf der Pflanzenoberfläche relativ konstant sind, können keine Rückschlüsse von diesen Ergebnissen auf das Vorhandensein auf der Pflanzenoberfläche gemacht werden. Im ersten Versuchsjahr wurde versucht, insektenpathogene Pilze von Blattoberflächen zu isolieren. Allerdings konnten keine insektenpathogenen Pilze isoliert werden. Ob dies methodisch begründet ist, oder ob insektenpathogene Pilze nur in sehr geringen Konzentrationen natürlich auf Pflanzenoberflächen vorkommen, kann abschließend nicht gesagt werden.

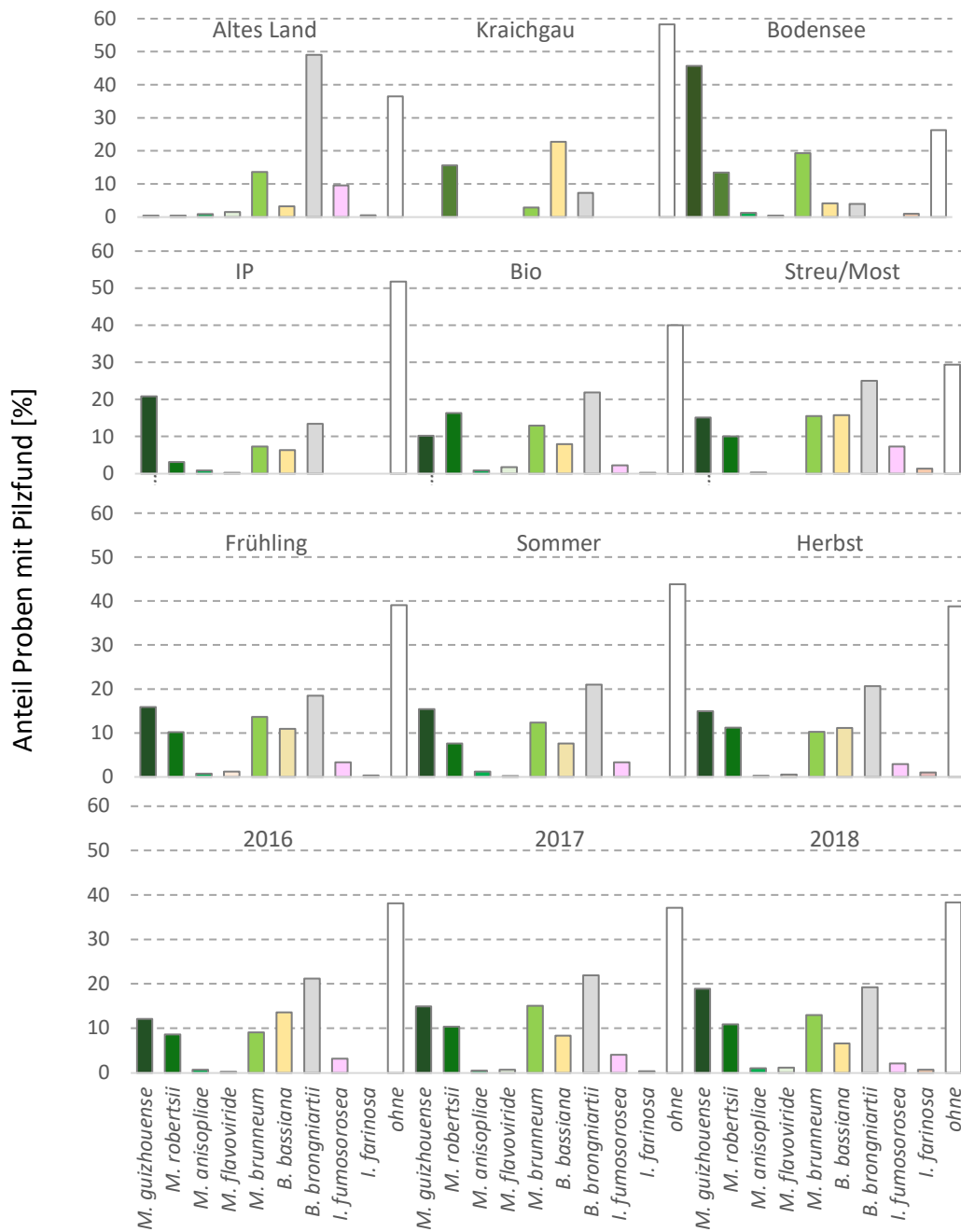


Abb. B2: Vorkommen der insektenpathogenen Pilzarten der Gattungen *Beauveria*, *Metarhizium* und *Isaria* in Bodenproben in Abhängigkeit der Jahreszeit, Jahr, Region und Bewirtschaftungsform.

II Einfluss von Bewirtschaftungsform und Apfelsorte auf das Vorkommen insektenpathogener Pilze

Die vorangegangenen Versuche hatten gezeigt, dass ein starker regionaler Einfluss auf das Vorkommen insektenpathogener Pilze vorhanden ist. Über die Jahre war das Vorkommen relativ konstant. Aus diesem Grund wurde eine größere Anzahl Betriebe das Vorkommen insektenpathogener Pilze in Bezug auf in Apfelsorte und Bewirtschaftungsform in einer Region verglichen. Ergänzend wurde geprüft, ob sich das Pilzvorkommen am Rand und in der Anlage unterscheidet.

Lage der Probeflächen

Im Mai 2016 wurden in 44 Apfelanlagen in der Region Bodensee in Baden-Württemberg Bodenproben genommen. Von diesen Anlagen wurden 15 mit integriertem Pflanzenschutz bewirtschaftet und es wurden Äpfel der Sorte 'Braeburn' angebaut, 15 wurden biologisch bewirtschaftet und ebenfalls Äpfel der Sorte 'Braeburn' angebaut und 14 wurden biologisch bewirtschaftet und die Sorte 'Topaz' angebaut.

Bodenprobenahme und -auswertung

In jeder Anlage wurden zwei Proben entnommen, eine vom zweiten Baum einer ausgewählten Reihe (Probe außen) und eine von einem etwa 20 m vom Rand der Anlage entfernten Baum (Probe innen). Dazu wurden die oberen 15 cm des Bodens mit Hilfe eines Bohrstocks (\varnothing 6 cm) entnommen. Es wurden vier Proben pro Baum in einem Abstand von etwa 25 cm zum Stamm entnommen: zwei Proben zwischen dem Zielbaum und den beiden benachbarten Bäumen und zwei Proben zwischen dem Zielbaum und der Fahrgasse. Die vier Proben wurden in verschließbaren Plastikbeuteln gemischt. Die Mischproben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei 4 °C gelagert und wie oben beschrieben wurden insektenpathogene Pilze mithilfe der beiden Köderinsekten isoliert. Die gewonnenen Pilzisolat wurden wie oben beschrieben molekularbiologisch charakterisiert.

In diesem Versuch mit deutlich höherem Stichprobenumfang konnten in der beprobten Region keine Unterschiede zwischen den Bewirtschaftungsformen, den zwei Apfelsorten 'Topaz' und 'Braeburn' sowie den Probenahmen am Rand bzw. im Bestand beobachtet werden (Abb. B3). Allerdings war auffällig, dass im Inneren der Anlage die zwei *Beauveria* – Arten sowie *M. flavoviride* nicht nachgewiesen werden konnten.

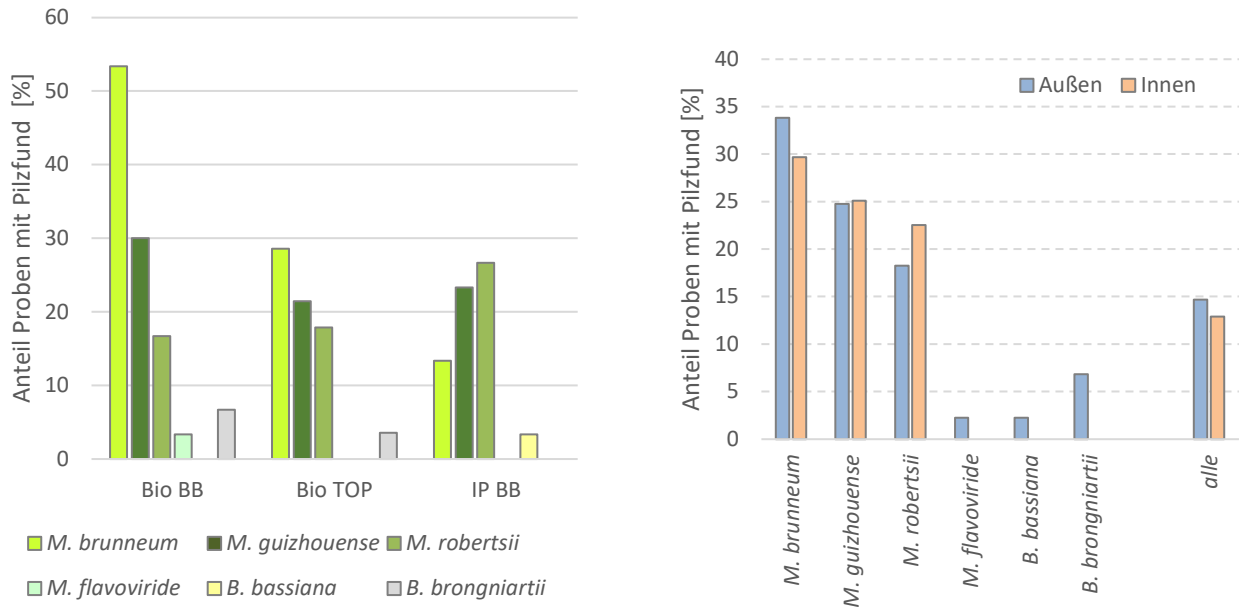


Abb. B3: Vorkommen der Arten insektenpathogenen Pilze in Abhängigkeit von der Bewirtschaftungsform (BIO = biologisch wirtschaftend, IP = Integrierter Pflanzenschutz), der Sorte (TOP = 'Topaz', BB = 'Braeburn') und dem Probenahmeort (Außen: 2. Baum einer Reihe, Innen: Baum, der ca. 20 m im Inneren der Anlage steht).

III Umweltverhalten von drei ausgewählten Pilzstämmen

Herkunft der Pilze

Die für die folgenden Tests verwendeten Pilze (Tab. B1) stammen aus Böden von Apfelanlagen, die in Kapitel I isoliert wurden.

Tab. B1: Entomopathogene Pilze, die für die Tests in Kapitel III verwendet werden.

Stammnummer	Pilzart	Herkunft Bodenprobe	Köderinsekt
JKI-BI-1899	<i>I. fumosorosea</i>	AL_5	<i>Galleria mellonella</i>
JKI-BI-1669	<i>B. bassiana</i>	KR_1	<i>Galleria mellonella</i>
JKI-BI-1898	<i>M. guizhouense</i>	BO_6	<i>Tenebrio molitor</i>

Wirkung von UV-Strahlung auf die Keimung von EPF-Sporen

Um die Wirkung von UV-Strahlung auf die drei ausgewählten EPF zu testen, wurden Pilzsporen für 5, 10, 20, 40, 60, 120, und 180 min mit künstlichem Sonnenlicht bestrahlt und anschließend für einen Tag bei 25 °C inkubiert. Die Konidien wurden mittels einer Sporensuspension (150 ml, 1×10^6 Sporen/ml) auf MPA-Platten aufgebracht und ca. 15 min. unter sterilen Bedingungen getrocknet. Als Kontrolle wurden Platten mit Alufolie umwickelt. Die zu bestrahlenden Platten wurden anschließend für die o.a. angegebenen Zeiten offen unter vier UV-Lampen (Ultra Vitalux) gestellt. Der Abstand zu den Leuchtmitteln betrug 130 cm. Die Temperatur betrug bei dieser Entfernung 37 °C. Nach der eintägigen Inkubation wurden die Keimraten der Sporen bestimmt. Dazu wurde ein Stück Agar aus den MPA-Platten ausgeschnitten, mit Baumwollblau angefärbt und jeweils 3x100 Sporen gezählt. Dabei wurde zwischen gekeimten und nicht gekeimten Sporen unterschieden. Der Anteil gekeimter Sporen je 100 Sporen ergibt die Keimrate. Die Keimraten der Kontrollplatten wurden als 100 % Wert gesetzt.

Abb. B4 verdeutlicht, dass sich die drei untersuchten Pilzstämme hinsichtlich ihrer UV-Empfindlichkeit sehr ähnlich verhalten. Auch wenn die getesteten Konidien der drei Stämme sich hinsichtlich Größe, Form und Farbe unterscheiden, so ist nach einer Bestrahlungszeit von 120 Minuten fast keine Konidien mehr keimfähig.

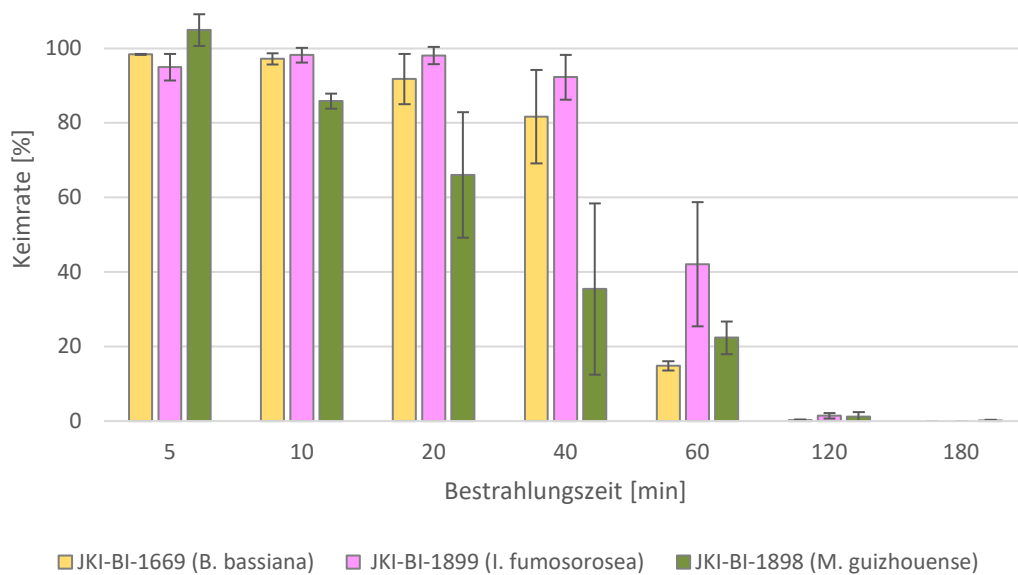


Abb. B4: Einfluss eine UV-Bestrahlung auf die Keimfähigkeit von drei verschiedenen Pilzstämmen, Mittelwert und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Versuchen.

Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von EPF

Um den Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der drei Pilzstämmen zu untersuchen, wurden Petrischalen (Ø: 6 cm) mit künstlichem Medium (MPA) hergestellt. Von jedem Pilz wurden 2 µl einer Sporen-Suspension mit einer Konzentration von 1×10^6 Sporen/ml in die Mitte einer Petrischale pipettiert. Die Petrischalen wurden anschließend eine Woche lang bei verschiedenen Temperaturen (10, 15, 20, 25, 30, 35 °C) inkubiert. Danach wurde das radiale Wachstum auf jeder Platte in zwei Richtungen gemessen. Der Versuch wurde dreimal mit jeweils drei Petrischalen wiederholt.

Die drei untersuchten Pilzstämmen zeigen ein deutlich unterschiedliches Temperaturspektrum (Abb. B5). So kann JKI-BI-1899 schon bei 10 °C wachsen, aber bei Temperaturen ab 30 °C findet kein Mycelwachstum mehr statt. Der *B. bassiana*-Stamm JKI-BI-1669 wächst bei Temperaturen zwischen 15 und 30 °C und der *M. guizhouense*-Stamm JKI-BI-1898 wächst darüber hinaus auch noch bei 35 °C. Diese temperaturbedingten Wachstumsunterschiede der drei Pilzstämmen deckt sich sehr gut mit den Temperaturunterschieden in den drei Apfelanbaugebieten Deutschlands.

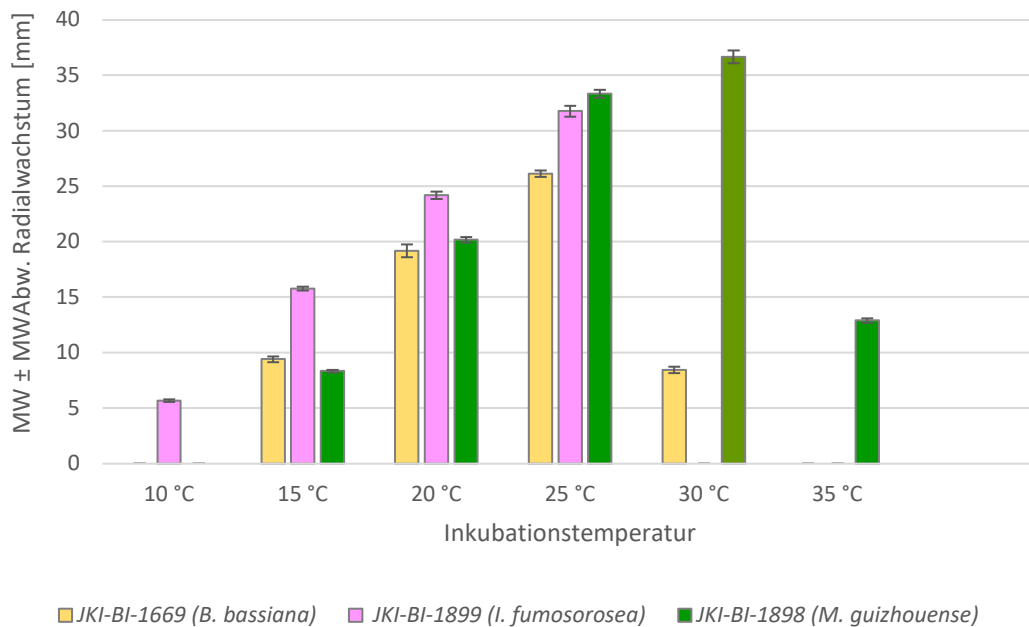


Abb. B5: Einfluss der Temperatur auf das Wachstum von drei verschiedenen Pilzstämmen, Mittelwert und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Versuchen.

Verteilung der Pilze um den jeweiligen Zielbaum

Um die Verteilung der EPF in Apfelanlagen zu untersuchen, wurden jeweils 76 Bodenproben um jeden der drei ausgewählten Zielbäume (Ursprung der drei in diesem Kapitel verwendeten ausgewählten Pilze) entnommen. Ausgehend vom Stamm wurden zehn Bodenproben in jeder Himmelsrichtung (Norden, Süden, Osten, Westen) und neun Proben in den interkardinalen Richtungen (Nordosten, Südosten, Südwesten und Nordwesten) entnommen. Die Proben wurden in den folgenden Abständen entnommen: 0,0 m (direkt am Baum nur N, S, O, W), 0,3 m, 0,6 m, 0,9 m, 1,2 m, 1,8 m, 2,4 m, 3,0 m, 3,6 m und 4,2 m. Norden und Süden entsprechen der Baumreihe (Herbizidstreifen), Westen und Osten rechtwinklig über die Fahrgassen in die benachbarten Baumreihen (Apfelbaumreihen sind in der Regel in Nord-Süd-Richtung ausgerichtet, um das Sonnenlicht am besten zu nutzen). Die Isolierung der EPF wurde wie oben beschrieben durchgeführt, mit der Ausnahme, dass nur *G. mellonella*-Larven für die Proben aus den Anlagen AL_5 (*I. fumosorosea*) und KR_1 (*B. bassiana*) und nur *T. molitor*-Larven für Proben aus der Anlage BO_6 (*M. guizhouense*) verwendet wurden.

Die Verteilungsmuster der insektenpathogenen Pilze an diesen drei untersuchten Zielbäumen verhielt sich unterschiedlich (Abb. B6). *I. fumosorosea* konnte nur direkt um den Baum und im „Herbizidstreifen“ nachgewiesen werden. Möglicherweise stellt die Fahrgasse mit der entsprechenden Bodenverdichtung eine Barriere für die Ausbreitung dieses Pilzes dar. Hingegen konnte *Metarhizium guizhouense* in den meisten Proben nachgewiesen werden. Sowohl in der Baumreihe als auch in der Fahrgasse wurde dieser Pilz isoliert. Nur in wenigen Proben und ohne, dass sich ein Muster erkennen lässt, wurde *B. bassiana* nachgewiesen.

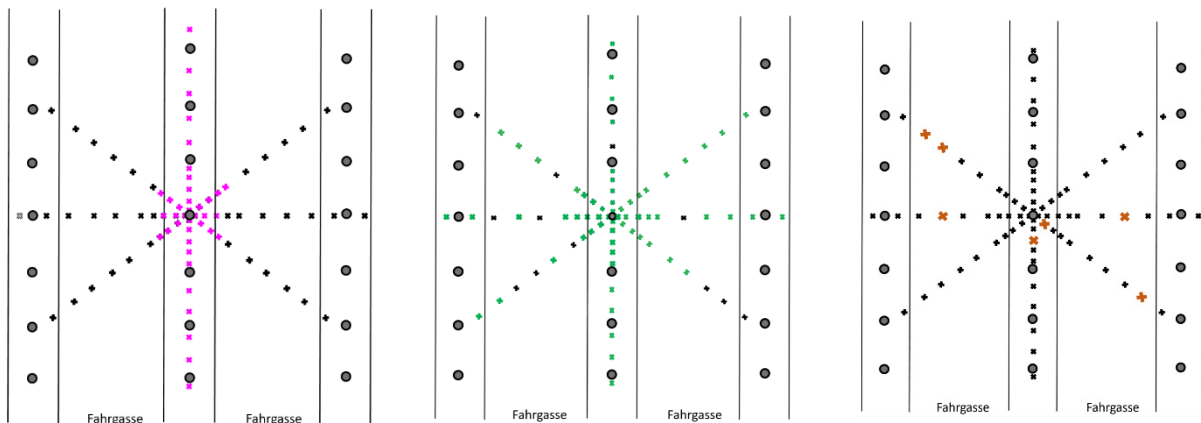


Abb. B6: Pilzvorkommen (farblich markierte Kreuze) um den Zielbaum, Links: *I. fumosorosea*, Mitte: *M. guizhouense*, Rechts: *B. bassiana*, Entfernungen Probennahme vom Zielbaum: 0,3 m; 0,6 m; 0,9 m; 1,2 m; 1,8 m; 2,4 m; 3,0 m; 3,6 m und 4,2 m, Nord, Süd, Ost, West: mit zusätzlicher Probe direkt am Baum (0,0 m).

IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Arbeitspaket B2: Einfluss von Pflanzenschutzverfahren auf insektenpathogene Pilze

Zielsetzungen:

Prüfung unter Laborbedingungen des Einflusses gängiger Pflanzenschutzverfahren auf insektenpathogene Pilze

Wirkung von Fungiziden auf das Wachstum von EPF

Um die Wirkung von Fungiziden auf EPF zu testen, wurden fünf Fungizide, die im Apfelanbau in Deutschland eingesetzt werden oder wurden, getestet. Dazu wurde die maximale Aufwandmenge pro Fungizid in MPA gemischt und 6-cm-Petrischalen mit 5 ml Fungizid-MPA-Medium hergestellt. Zusätzlich wurden Kontrollplatten ohne Fungizide hergestellt. Auch hier wurden die drei ausgewählten Pilze (Tab. B1) verwendet. Eine Konidiensuspension mit 1×10^7 Konidien/ml wurde hergestellt und 2 μ l dieser Suspension wurden in die Mitte jeder Fungizid- oder Kontrollplatte pipettiert. Das Wachstum des Myzels wurde nach drei, sechs und neun Tagen gemessen, indem der Durchmesser des Myzels in zwei verschiedene Richtungen gemessen wurde.

Die Ergebnisse der Abb. B7 veranschaulichen, dass für jeden Pilzstamm der Einfluss einer Anwendung von Fungiziden geprüft werden muss. So beeinflusste z.B. Schwefel das Wachstum von *I. fumosorosea* Stamm JKI-BI-1899 und *M. guizhouense* Stamm JKI-BI-1898, nicht aber von *B. bassiana* Stamm JKI-BI-1669. Kupferhydroxid verursachte eine Hemmung bei allen drei Pilzstämmen, die aber bei JKI-BI-1899 nicht ganz so deutlich ausfiel.

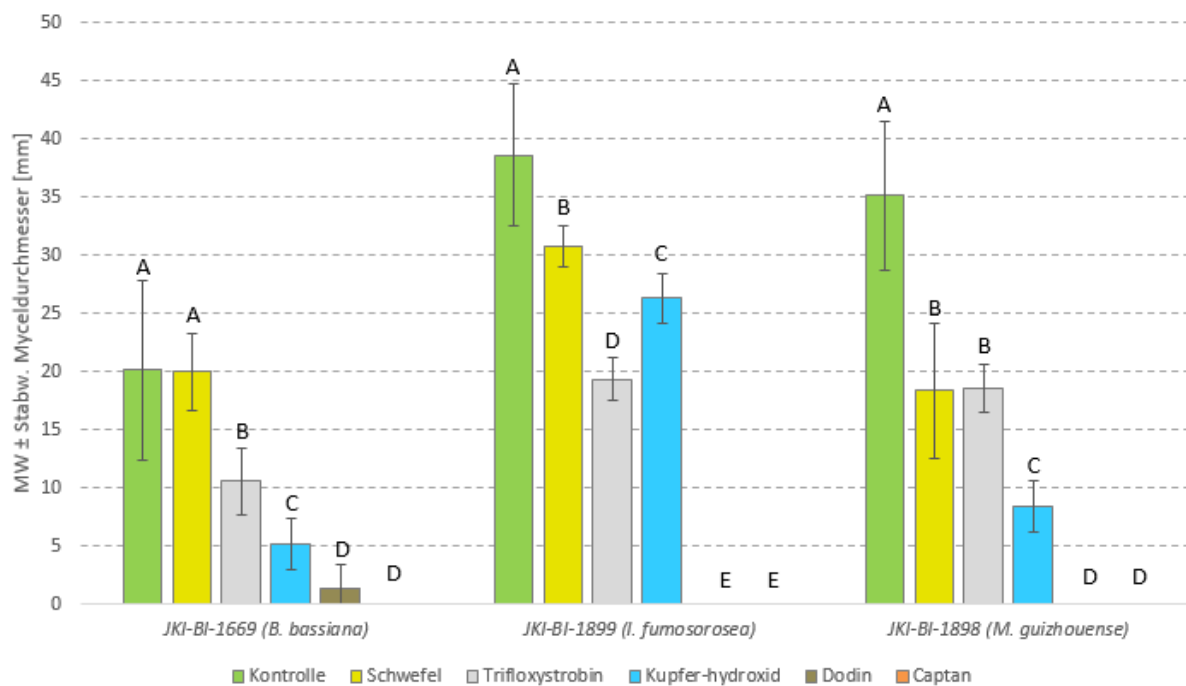


Abb. B7: Wirkung von Fungiziden auf das Radialwachstum ausgewählter insektenpathogener Pilze auf Agar-Medium.

Wirkung eines Herbizids auf das Wachstum von EPF

Die Wirkung des im Apfelanbau in Deutschland eingesetzten Herbizid-Wirkstoffes Glyphosat wurde auf die gleiche Weise geprüft wie im Abschnitt Fungizide beschrieben. Keine der drei getesteten Pilzstämmen konnte auf Agar-Medium, das Glyphosat enthielt, wachsen (Abb. B8). Auch wenn es sich um ein Herbizid handelt, kann somit ein Einfluss auf insektenpathogene Pilze nicht ausgeschlossen werden.



Abb. B8: Einfluss eines Herbizids mit Wirkstoff Glyphosat auf entomopathogene Pilze, Radialwachstum auf Nährmedium mit Herbizid nach neun Tagen Inkubation bei 25 °C (1/2, einfache, doppelte max. Aufwandmenge).

IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Arbeitspaket B3: Wirksamkeit insektenpathogener Pilze

Die Wirksamkeit insektenpathogener Pilze wurde gegen den Nichtzielorganismus *Forficula auricularia*, den Parasitoiden *Trichogramma cacoeciae*, den Apfelschädlingen *C. pomonella* und *Anthonomus pomorum* sowie in einem mehrjährigen Feldversuch gegen Engerlinge der Gattung *Melolontha* geprüft.

Wirkung von EPF auf *Forficula auricularia*

Zur Untersuchung des Einflusses von entomopathogenen Pilzen auf den Gemeinen Ohrwurm (*Forficula auricularia*) wurden drei der isolierten Pilze ausgewählt (Tab. B2).

Tab. B2: Herkunft der getesteten entomopathogenen Pilze (IP=Integrierter Pflanzenschutz, Bio=ökologisch, BB=Braeburn, TOP=Topaz).

Stamm Nr.	Pilzart	Herkunft Bodenprobe	GPS Positionen	Köderinsekt
JKI-BI-2166	<i>B. bassiana</i>	IP BB 10 außen	47°42.881' 009°31.270'	<i>Galleria mellonella</i>
JKI-BI-2192	<i>M. brunneum</i>	Bio BB 10 innen	47°40'02" 9°32'48"	<i>Galleria mellonella</i>
JKI-BI-2222	<i>M. guizhouense</i>	Bio TOP 9 innen	47°43'38" 9°34'31"	<i>Tenebrio molitor</i>

Herkunft der Ohrwürmer

Die Ohrwürmer wurden in Apfelbäumen der Freilandfläche des Julius Kühn-Instituts in Darmstadt gesammelt. Dazu wurden Bambusstücke in die Bäume gehängt, die die Ohrwürmer gerne aufsuchen.

Nach sieben Tagen wurden die Bambusabschnitte durch Schütteln in Weithalsflaschen (1000 ml, DURAN®) auf Ohrwürmer untersucht. Auf diese Weise konnten mehrere hundert Ohrwürmer gesammelt werden. Um sicherzustellen, dass die Insekten gesund sind, wurden sie zwei Wochen lang in Gerda®-Boxen (20x20x9,5cm) bei Raumtemperatur und natürlichen Lichtverhältnissen und danach mehrere Wochen bei 15 °C gehalten, bevor mit dem Biotest begonnen wurde. Die Boxen wurden mit großen, mit Gaze verschlossenen Löchern perforiert, um einen ausreichenden Luftaustausch zu gewährleisten. In jede Schale wurde ein Stück Apfel als Flüssigkeit und Nahrungsquelle gelegt und zusätzlich einige Fischfutterflocken und etwas Pollen. Auch ein großes Segment Bambus wurde als Versteck in die Schale gelegt, was von den Ohrwürmern sofort als Versteck angenommen wurde. Die Insekten wurden nach ihrem Geschlecht sortiert und in jede Schale 50 Ohrwürmer gesetzt. Zweimal pro Woche wurde das Futter gewechselt und die Verstecke von Kot gereinigt.

Tauchversuch

Nachdem die Fitness der Ohrwürmer sichergestellt war, wurden pro Pilzstamm jeweils 25 männliche und weibliche Insekten in Weithalsflaschen gesammelt, plus die gleiche Anzahl an Kontrolltieren. Die folgenden Schritte wurden unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Zehn ml pro Sporensuspension wurden auf jeweils 25 Ohrwürmern pipettiert und die Flaschen 15 sec lang vorsichtig geschwenkt, um sicherzustellen, dass die Insekten durch die Suspension bzw. Tween® 80 (0,5 %) vollständig benetzt wurden. Danach wurden die Suspensionen mit den enthaltenen Ohrwürmern in eine zweite Flasche

mit Mull über dem Flaschenhals abgegossen. Die Ohrwürmer wurden anschließend vorsichtig vom Mull in vorbereitete Plastikbehälter (Bellaplast®, 18,3 x 13,6 x 6,4 cm) überführt. In jedes Behältnis wurden fünf Insekten gesetzt. Die Plastikbehälter enthielten wieder ein Stück Apfel, Fischfutterflocken und Pollen, aber anstelle eines Bambusabschnitts wurde ein Stück Wellpappe als Versteck verwendet. Das Fischfutter und der Pollen wurden einmal pro Woche gewechselt, das Apfelstück wurde jeweils montags, mittwochs und freitags ausgetauscht. Tote Ohrwürmer wurden aus den Schalen herausgenommen. Der Versuch wurde drei Mal zeitlich unabhängig wiederholt.

Die Ergebnisse der *Forficula*-Biotests lassen vermuten, dass Ohrwürmer nicht empfindlich auf die drei untersuchten insektenpathogenen Pilze reagieren (Abb. B9). So hatte keiner der getesteten Pilze einen signifikanten Einfluss auf die Mortalität. Dies kann u.U. auf von Ohrwürmern gebildeten 1,4 Benzoquinone zurückzuführen sein, denen eine antimikrobielle Wirkung zugesprochen wird. Allerdings reagierten die Weibchen unempfindlicher auf eine Tauchbehandlung.

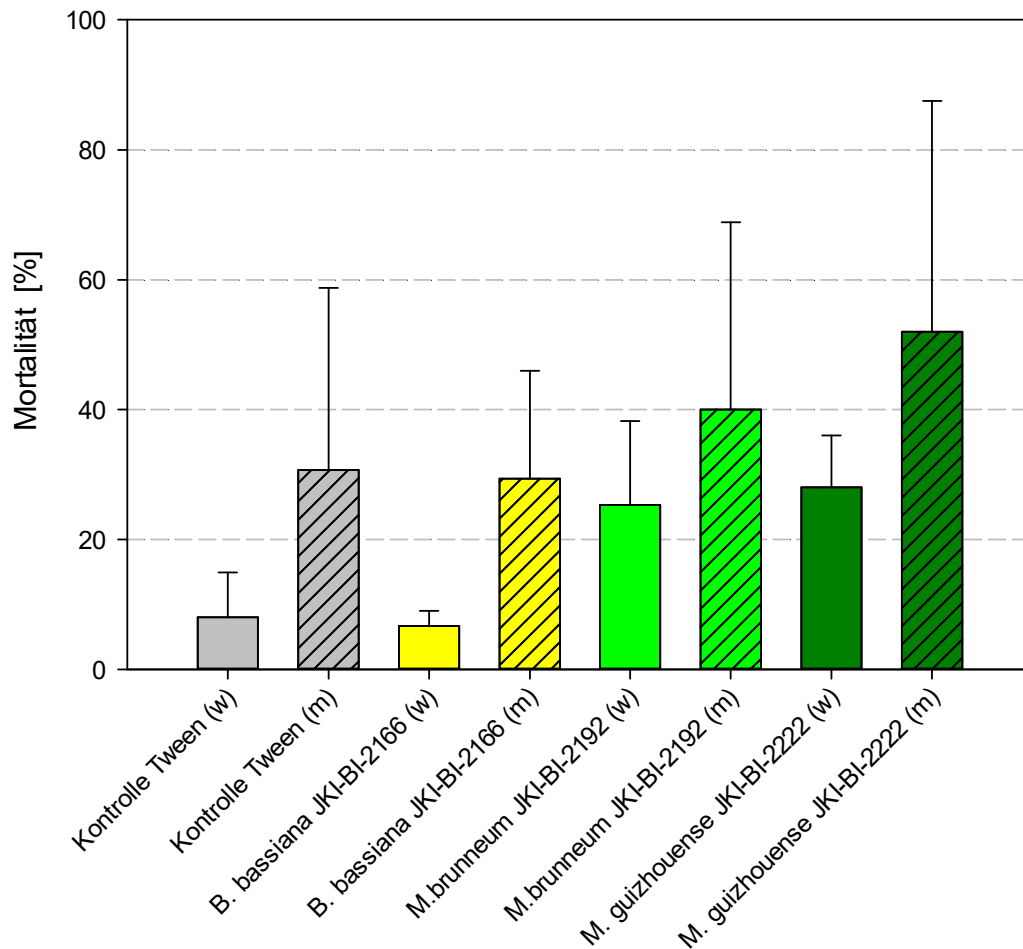


Abb. B9: Mortalität von weiblichen (w) und männlichen (m) Tieren des Gemeinen Ohrwurms nach Tauchbehandlung mit insektenpathogenen Pilzen (MW \pm Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit je 25 Tieren je Variante).

Wirkung entomopathogener Pilze auf *Trichogramma cacaoeciae*

Herkunft der Pilze

Zur Untersuchung des Einflusses von EPF auf *T. cacaoeciae* wurden drei der isolierten Pilze ausgewählt (siehe Tab. B1).

Herkunft der Versuchstiere

Die *T. cacaoeciae*-„Eipapiere“ wurden von der Fachgruppe Entomologie-des Instituts zur Verfügung gestellt. *T. cacaoeciae* wird auf Eiern der Getreidemotte *Sitotroga cerealella* gezüchtet. Bei den „Eipapieren“ handelt es sich um Eier dieser Motte, die auf Papier aufgeklebt wurden und für ca. drei Tage den Trichogrammen zur Parasitierung angeboten wurden. Parasitierte Wirtseier färben sich nach ca. fünf Tagen schwarz. Diese Wirtseier wurden auch für die Versuche verwendet.

Durchführung der Biotests

Um den Einfluss der drei Pilze auf Stadien von *T. cacaoeciae* im Wirtsei zu untersuchen, wurden Konidien-Suspensionen mit 1×10^7 Sporen/ml hergestellt (siehe "Herstellung von Konidien-Suspensionen") und Papierstreifen mit von *T. cacaoeciae* parasitierten Wirtseiern für eine Sekunde in diese Suspensionen getaucht. Die Menge der parasitierten Eier wurde vorher mit einem Stereomikroskop gezählt und tote Parasitoide (Elterngeneration) wurden vor den Tests entfernt. Die getauchten Eipapiere wurden eine Stunde lang unter einer Sterilbank getrocknet und dann zur Inkubation in Glasröhrchen gelegt, die mit Baumwollgewebe zur Belüftung verschlossen waren. Die Wirtseier wurden bei 20 °C im Dunkeln bebrütet, bis die Parasitoide geschlüpft waren. Um die Anzahl der geschlüpften Parasitoiden zu ermitteln, wurden die Glasröhrchen geschlossen gehalten, bis die Insekten tot waren. Zur Zählung wurde ein Stereomikroskop verwendet.

Die Ergebnisse veranschaulichen, dass keiner der drei getesteten Pilzstämme der drei Gattungen *Metarhizium*, *Beauveria* und *Isaria* die Schlupfrate von *T. cacaoeciae* aus behandelten Wirtseiern beeinflusst (Abb. B10). Es kann davon ausgegangen werden, dass wenn einer dieser Pilzstämme im Freiland eingesetzt und zufällig von *Trichogramma* parasitierte Wirtseier behandelt werden würden, dass die Schlupfrate der aus diesen Wirtseiern schlüpfenden Generation durch den Pilz nicht beeinträchtigt wird. Dies muss aber für jeden eingesetzten Pilz geprüft werden. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass verwendete Formulierungshilfsstoffe sich nicht negativ auf die Schlupfwespen auswirken. Auch müsste geprüft werden, ob die Parasitierungsrate und Fertilität durch eine Pilzbehandlung beeinflusst wird.

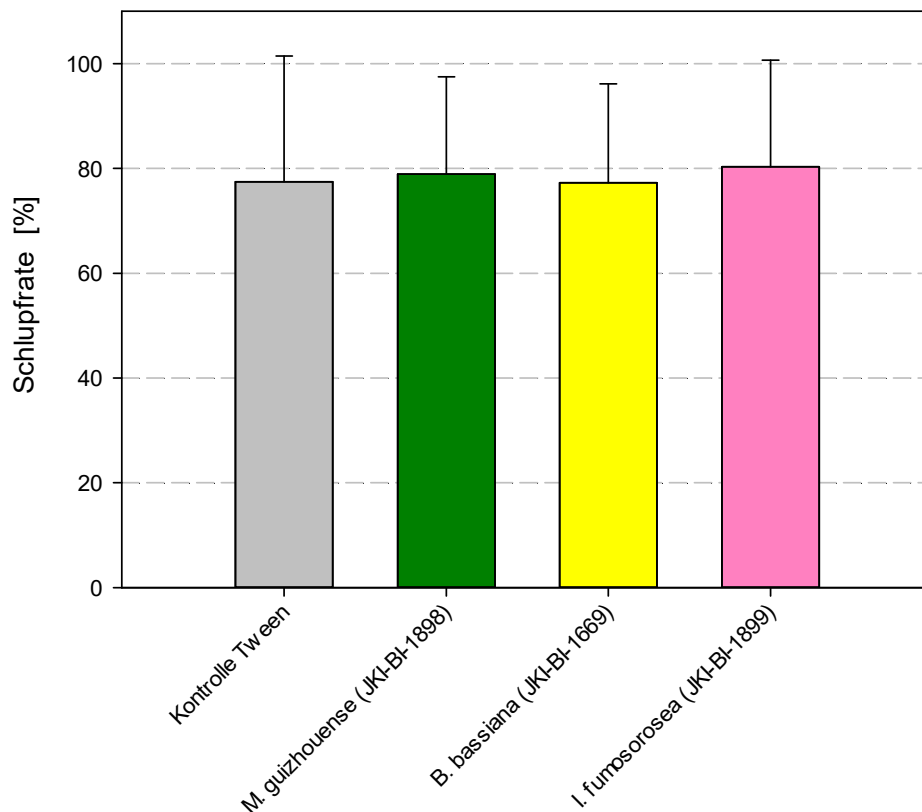


Abb. B10: Schlupfrate von *Trichogramma cacoeciae* nach Pilzbehandlung parasitierter Eier des Wirtes *Sitotroga cerealella*.

Wirkung entomopathogener Pilze auf Apfelwickler (*Cydia pomonella*)

Zur Untersuchung des Einflusses von EPF auf den Apfelwickler (*C. pomonella*) wurden in einem ersten Versuch 21 Pilzstämmen der Gattungen *Metarhizium*, *Isaria* und *Beauveria* und in einem zweiten Versuch drei der isolierten Pilze ausgewählt (siehe Tab. B1).

Zucht von Cydia pomonella

Für diesen Biotest wurden L₅-Larven von *C. pomonella* verwendet. Die Larven des ersten Stadiums wurden von der Arbeitsgruppe Virologie des Julius Kühn-Instituts zur Verfügung gestellt und mit künstlichem Medium bis zum letzten Larvenstadium aufgezogen. Da *C. pomonella*-Larven dazu neigen, kannibalisch zu sein, müssen sie getrennt voneinander aufgezogen werden. Die Aufzucht erfolgte in einzelnen Kammern aus Kunststoffrastern nach der im Institut üblichen Methode. Die frisch geschlüpften L₁-Larven wurden mit einem feinen Pinsel aus den Inkubationsschalen, in denen die Eier bebrütet wurden, entnommen und in Raster mit speziellem Futtermedium gesetzt. Fünfzig Larven wurden einzeln in die Kammern eines Rasters gesetzt und dann das gesamte Raster mit Frischhaltefolie umwickelt. Da die Larven auch dazu neigen, die Folie zu durchfressen und in späteren Stadien zu entweichen, wurden die Deckel der Raster umgekehrt auf die Folie gelegt und mit Gummiringen fixiert. Zusätzlich wurde ein gefaltetes Handtuchpapier zwischen die Folie und den Deckel gelegt. Durch dieses Verfahren wurden die einzelnen Kammern gut abgedichtet und ein Verlust der Larven durch

Kannibalismus oder Flucht konnte so weit wie möglich vermieden werden. Die Larven wurden bei 25 °C inkubiert, bis sie das L₅-Stadium, das letzte Larvenstadium vor der Verpuppung, erreicht hatten. Die L₅-Larven wurden vorsichtig mit einer Federstahlpinzette aus den Rastern entnommen, unmittelbar bevor sie für die Biotests benötigt wurden.

Durchführung der Biotests

Das erste Testsystem war so aufgebaut, dass relativ viele Pilze gegen *C. pomonella* mit überschaubarem Zeitaufwand getestet werden konnten. Hierfür wurden L₅-Larven für eine Stunde auf sporulierende Pilzkulturen gesetzt, anschließend einzeln in Dosen gesetzt und bei 25 °C im Dunkeln für drei Wochen inkubiert. Anschließend wurde die Anzahl geschlüpfter Falter bonitiert.

Abb. B11 veranschaulicht, dass insbesondere die Art *B. bassiana* pathogen ist. Die Art *B. brongniartii* zeigte eine geringere Wirkung. Der getestete Pilzstamm der Art *I. fumosorosea* war ebenso wirksam. In weiteren Tests zeigten auch andere *Isaria*-Stämme eine gute Wirkung. Die Gattung *Metarhizium* ist ebenso wirksam, aber es können keine klaren Unterschiede zwischen den einzelnen Arten festgestellt werden.

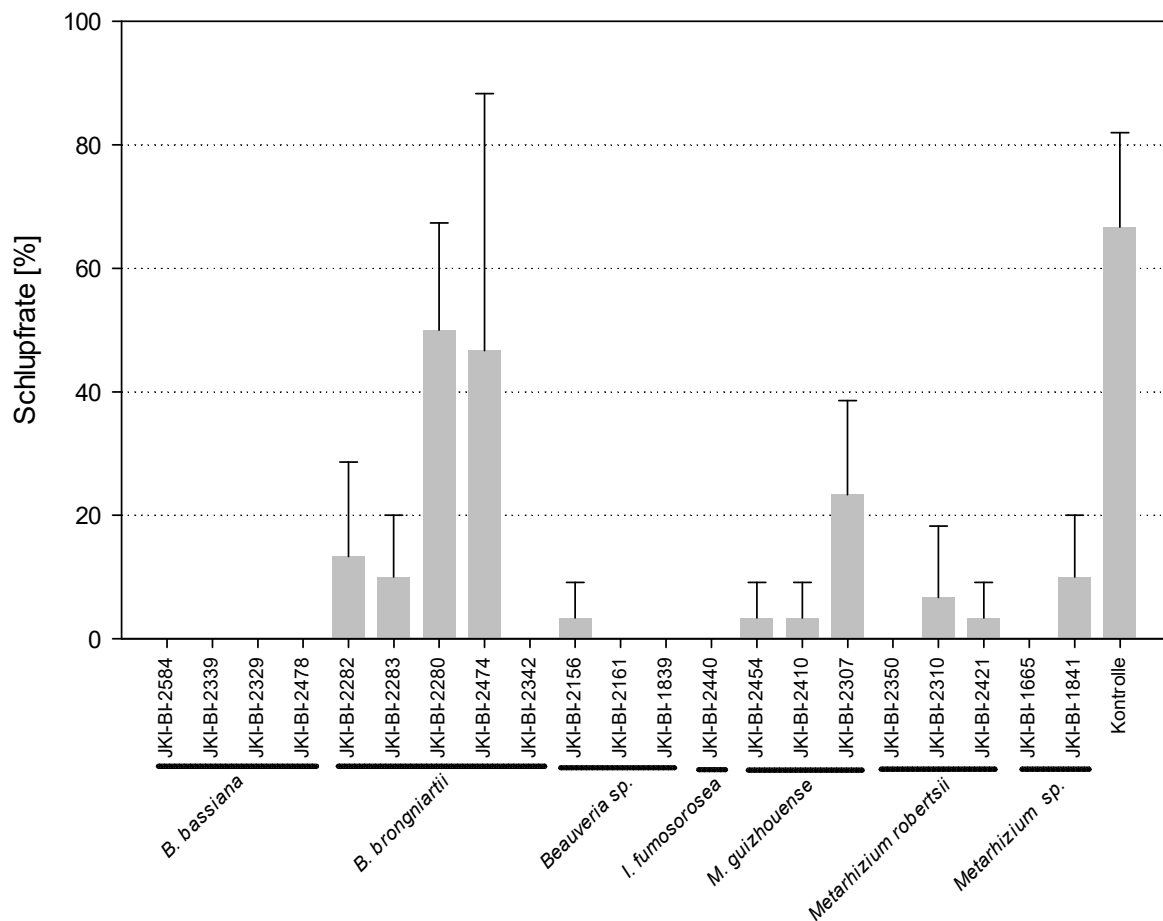


Abb. B11: Einfluss verschiedener insektenpathogener Pilze auf die Schlupfrate behandelter Larven von *Cydia pomonella* (MW und Standardabweichung von drei zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit jeweils 10 Larven).

In einem zweiten Testsystem sollte der Einfluss von drei Pilzen (Tab. B1) auf L₅-Larven von *C. pomonella* detaillierter untersucht werden. Hierfür wurden Konidien-Suspensionen mit 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 und 1×10^7 Sporen/ml hergestellt. Zusätzlich wurden eine unbehandelte Kontrollgruppe sowie eine Kontrollgruppe, die mit der Leerformulierung (Tween80 0,5 %) behandelt wurde, mitgeführt. Pro Behandlung wurden 25 Larven getaucht. Die Larven wurden in eine Schottflasche gesetzt und die Konidien suspension auf die Larven gegeben. Die Flaschen wurden langsam für 15 Sekunden gedreht, so dass alle Larven mit Suspension benetzt wurden. Die Tiere wurden anschließend mit der Suspension auf ein Stück autoklavierten Mull geleert, um ein Ertrinken der Larven auszuschließen. Die Larven wurden anschließend einzeln in Feinkostdosen gesetzt und bei 25 °C dunkel inkubiert. Da es sich um L₅-Larven handelte, war eine Fütterung nicht nötig. Nach drei Wochen wurden die Versuche ausgewertet, hierbei wurde zwischen geschlüpften Faltern, als Larve gestorbenen und als Puppe gestorbenen Tieren unterschieden. Der Versuch wurde fünf Mal zeitlich unabhängig wiederholt.

Abb. B12 verdeutlicht, dass in diesem Biotestsystem relativ hohe Konzentrationen an Pilzsporen notwendig sind, um einen deutlichen Einfluss auf Larven bzw. Puppen zu haben. Zwischen den drei untersuchten Pilzarten konnte kein klarer Unterschied hinsichtlich der Pathogenität nachgewiesen werden.

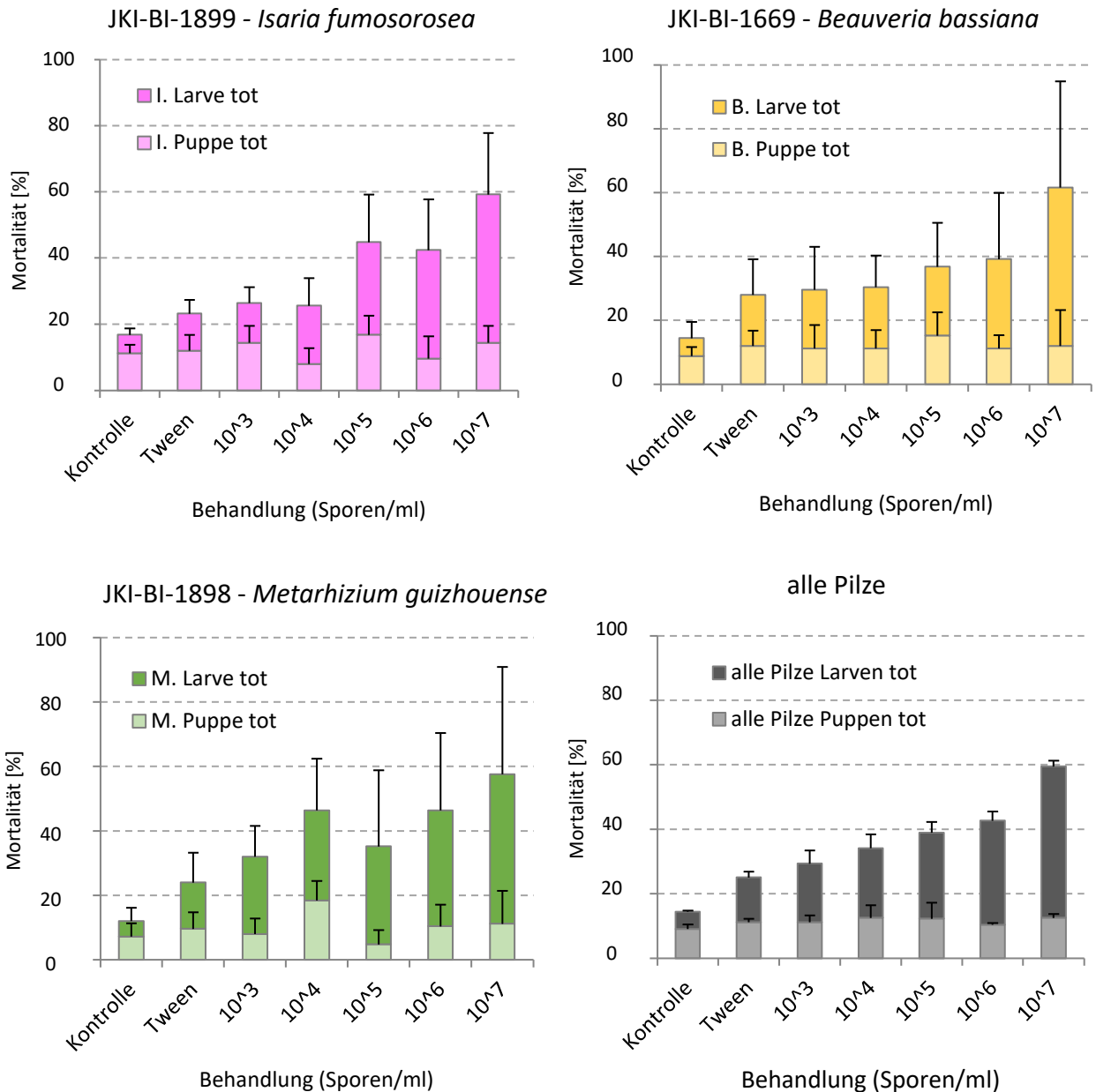


Abb. B12: Einfluss verschiedener Konzentrationen insektenpathogener Pilze auf die Mortalität behandelter Larven von *Cydia pomonella* (MW und Standardabweichung von fünf zeitlich unabhängigen Wiederholungen mit jeweils 25 Larven).

Wirkung entomopathogener Pilze auf Apfelblütenstecher (*Anthonomus pomorum*)

Zur Untersuchung des Einflusses von EPF auf den Apfelblütenstecher (*Anthonomus pomorum*) wurden drei der isolierten Pilze ausgewählt (siehe Tab. B1).

Herkunft der Versuchstiere

Die Insekten für diesen Versuch wurden in einer biologisch bewirtschafteten Apfelanlage bei Darmstadt gesammelt. Befallene, bereits verwelkte Apfelblüten wurden gesammelt und in einem Netzkäfig (30 x 30 x 30 cm) gelegt, bis die adulten Tiere sich aus den Blüten herausfraßen. Die Nahrungsversorgung der Käfer wurde durch regelmäßig gewechselte Apfelblätter sichergestellt, die in

15 ml Zentrifugenröhrchen (Fa. Falcon) mit Leitungswasser gegeben wurden. Die Röhrchen wurden mit Parafilm verschlossen, um ein Ertrinken der Käfer zu verhindern.

*Durchführung Biotest mit *Anthonomus pomorum**

15 Käfer wurden in 15 ml Zentrifugenröhrchen (Fa. Falcon) gesetzt und eine Konidiensuspension mit 1×10^7 Sporen/ml in 0,5 % Tween 80 auf die Käfer gegeben. Die Röhrchen wurden langsam für 15 Sekunden gedreht, so dass alle Käfer mit Suspension benetzt wurden. Die Käfer wurden anschließend zu fünf in Plastikbehälter (Bellaplast®, 18,3 x 13,6 x 6,4 cm) gesetzt und bei 25 °C inkubiert. Die Nahrungsversorgung der Käfer wurde durch regelmäßig gewechselte Apfelblätter sichergestellt. Die Bonitur toter Käfer erfolgte einmal wöchentlich über zehn Wochen. Der Versuch wurde drei Mal zeitlich unabhängig wiederholt.

Der Abb. B13 ist zu entnehmen, dass im Vergleich zur Tween- Kontrolle die getesteten Pilze keinen signifikanten Einfluss auf die Mortalität des Apfelblütenstechers hat.

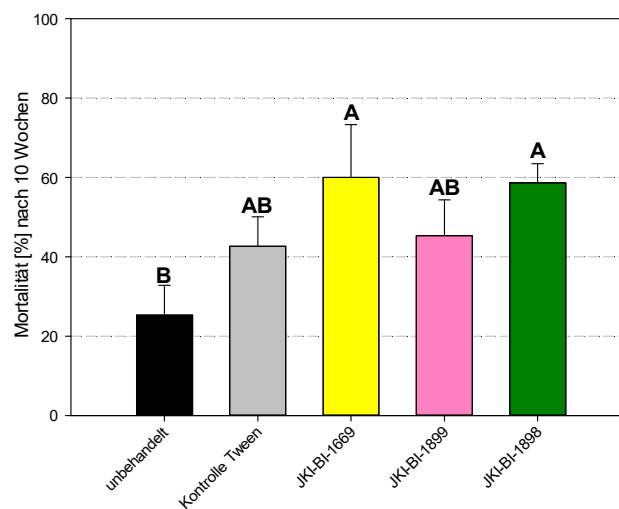


Abb. B13: Anzahl toter Tiere nach Behandlung mit verschiedenen insektenpathogenen Pilzen. 3 unabhängige Wiederholungen mit jeweils 5 Individuen.

Versuche zur Anwendung von *Beauveria brongniartii* gegen Engerlinge in Obstanlagen

Der entomopathogene Pilz *Beauveria brongniartii* ist schon lange als natürliches Pathogen gegen *Melolontha* spp. bekannt. Der erfolgreiche Einsatz von *B. brongniartii* in der Forst- und Agrarwirtschaft kann die Wald- und Wiesenmaikäferpopulation stark reduzieren und bietet eine Alternative zu chemischen Bekämpfungsmitteln. Doch leider fehlt eine Zulassung in Deutschland und es wird an neuen Formulierungen von *B. brongniartii* für den Einsatz im biologischen Pflanzenschutz geforscht. In mehrjährigen Feldversuchen wurden in einer Obstanlage drei verschiedene *B. brongniartii* Formulierungen im Freiland anwendernah appliziert und die eingebrachte Pilzmenge bzw. der Engerlingsbefall analysiert. Das benötigte Pilzmaterial für die selbst hergestellten Formulierungen (flüssige Suspension / ein auf Hirse basierendes Granulat) wurde mittels Flüssigfermentation hergestellt. Anschließend wurde die produzierte Biomasse mit Hilfe eines Wirbelschichttrockners auf Hirse gecoatet und die Lagerstabilität sowie Pathogenität erfasst.

Eine anwendungsnahe Applikation war bei diesem Versuch sehr wichtig, um relevante Ergebnisse für Landwirte zu erzeugen. Außerdem musste die Ausbringung der verschiedenen Formulierungen vergleichbar sein, um die eingebrachte *B. brongniartii*-Sporenmenge richtig interpretieren zu können. Für den Versuch wurde der größte zusammenhängenden Bereich auf der Apfelbaumanlage des Bio-Betriebes Wolff in Schaaheim im Kreis Darmstadt/Dieburg (Abb. B15 und Abb. B14) gewählt. Dieser Bereich war bezüglich der Baumdichte und Bodenstruktur am homogensten und bot genug Fläche, um fünf Wiederholungen durchzuführen. Die fünf Wiederholungen wurden in Blöcken angeordnet die jeweils zehn Fahrgassen breit und ca. 12 m lang waren. Jeder Block hatte einen Abstand zur Versuchsfeldgrenze und zur nächsten Wiederholung von 5 m, um Randeffekte und eine gegenseitige Beeinflussung zu vermeiden. Die Wiederholungen enthielten die folgenden Formulierungen: mit BIPESOC2 beschichtete Hirse (H); flüssige Suspension von BIPESCO2 (F); „Melocont“ Pilzgerste (M). Außerdem wurden bei jeder Wiederholung zwei Kontrollen durchgeführt, die zeigen sollten, ob die für die Applikation erforderliche Bodenbearbeitung einen Einfluss auf die Menge an *B. brongniartii* Sporen im Boden hat: keine Formulierung und Bodenbearbeitung (B); keine Formulierung und keine Bodenbearbeitung (UB). Eine Formulierung oder Kontrolle erstreckte sich über zwei Fahrgassen und wird ab hier als Parzelle beschrieben. Die Anordnung der Behandlungen (Formulierung / Kontrolle) erfolgte systematisch.

Zur Applikation des entomopathogenen Pilzes wurden im Frühjahr 2017, 2018 und 2019 die drei verschiedenen Formulierungen im Freiland ausgebracht. In Anlehnung an der im Kraichgau genutzten maschinellen Bodenapplikation durch Schlitzen der Grasnarbe wurde auf der Versuchsfläche händisch der Pilz ausgebracht (Abb. B16).

Um den Erfolg der verschiedenen Formulierungen zu untersuchen, wurden kurz vor der ersten Applikation Anfang Mai 2017 und 45 und 198 Tage danach Bodenproben entnommen. Weitere Proben wurden am 13. März 2019 entnommen. Insgesamt wurden 125 Bodenproben (in allen 25 Parzellen fünf Wiederholungen) entnommen. Vor der Analyse wurden die Grasnarbe sowie Wurzelmaterial und Steine entfernt, die Erde gut durchmischt und zerkleinert, um eine gleichmäßige Untersuchung zu ermöglichen. Die Böden wurden hinsichtlich des Vorkommens insektenpathogener Pilze mit der *Galleria*-Köder Methode (siehe oben) untersucht. Es wurde die Anzahl mit *Beauveria* sp. verpilzten *G. mellonella* Larven erfasst. Zusätzlich wurde mithilfe der Most-Probable-Number-Methode die Konzentration an Pilzsporen untersucht. Leider erwies sich dieses Verfahren als relativ ungenau, so dass hier nur Ergebnisse der *Galleria*-Köder-Methode dargestellt sind.

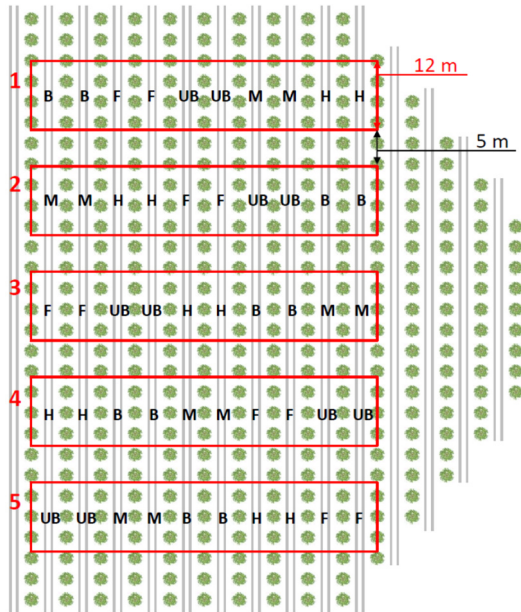


Abb. B15: Schematische Darstellung des Versuchsfelds

Die roten Rechtecke zeigen die 5 Wiederholungen, die jeweils 10 Fahrspuren breit und ca. 12 m lang sind. Jede Wiederholung enthält die Formulierungen (H, F, M) und 2 Kontrollen (B, UB). **H**: Behandlung mit BIPESCO2 beschichtete Hirse **F**: Behandlung mit BIPESCO2 Suspension, **M**: Behandlung mit „Melocont“ Pilzgerste **B**: Kontrolle = Keine Formulierung, „gegraben“ **UB**: Kontrolle = ohne Eingriff.

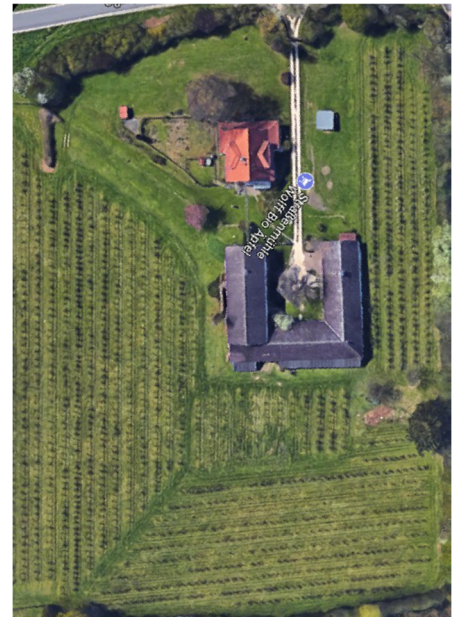


Abb. B14: Luftbildaufnahme des Biohofs Wolff in Schaaheim mit Versuchsfeld. (Quelle: google maps, 27.06.2017).



Abb. B16: Ausbringung der verschiedenen *B. bronngiartii*-Formulierungen auf der Versuchsfläche (Schlitzen des Bodens Einbringen des Granulates bzw. der Flüssigformulierung, Verschießen des Bodens).

Vorangegangene Laborversuche zeigten, dass das selbst hergestellte Granulat für den Vergleich der in den Boden einzubringenden *Beauveria*-Sporen im Freiland geeignet ist. Das Granulat wies eine gute Wirkung gegen Engerlinge auf und ist über 126 Tage ohne Qualitätsverlust bei 5 °C lagerbar.

Exemplarisch sind die Probennahmen und Applikationen für das Jahr 2017 in Abb. B17 dargestellt.

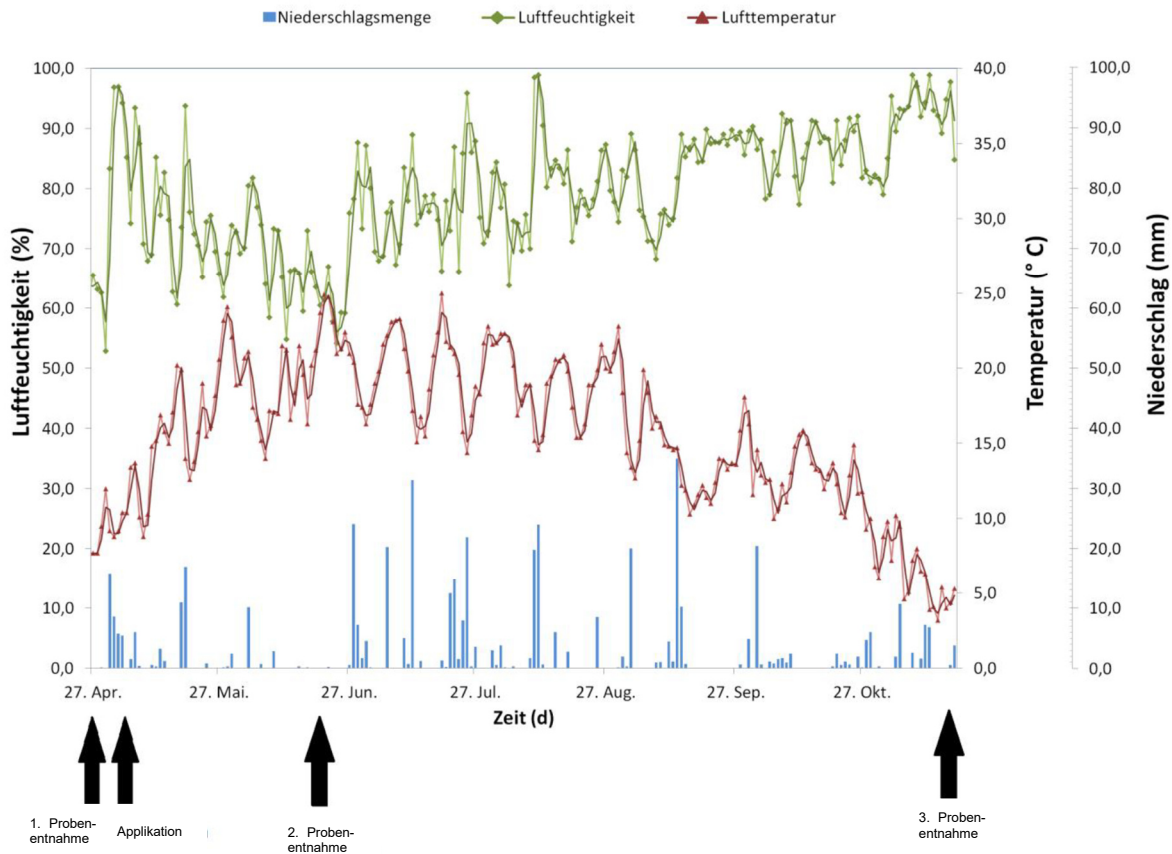


Abb. B17: Wetterdaten von der unabhängigen Wetterstation in Schaaflheim (49° 55' N 8° 58' O) von der 1. Probeentnahme (27.04.2017) bis zur 3. Probeentnahme (16.11.2017) wie von den Pfeilen angezeigt, die ebenfalls den Applikationszeitpunkt (02.05.-05.05.2017) und die 2. Probeentnahme (16.06.2017) anzeigen. Im Diagramm dargestellt sind die Lufttemperatur mit gleitendem Mittelwert, die relative Luftfeuchtigkeit mit gleitendem Mittelwert und die Niederschlagsmenge.

Im Jahr 2017 konnte erst im November ein Anstieg Mortalität nach Behandlung mit Melocont und dem Granulat beobachtet werden (Abb. B18). Zwei Monate nach Anwendung (16.06.2017) konnte ein solcher Anstieg noch nicht festgestellt werden. Im Jahr 2018 wurde der Pilz ebenfalls ausgebracht, allerdings war es aufgrund der Trockenheit nicht möglich zum gewünschten Zeitpunkt Bodenproben zu ziehen. 2019 wurden Proben vor der Anwendung gezogen. Hier konnte keine erhöhte Mortalität festgestellt werden.

Zusätzlich wurde am 24.10.2019 der Engerlingsbefall untersucht. Hierfür in jeder Versuchsparzelle der von beiden Seiten behandelten Baumreihe ein 25 x 100 x 30 cm (B x L x T) Streifen ausgehoben und die Engerlingsanzahl bestimmt.

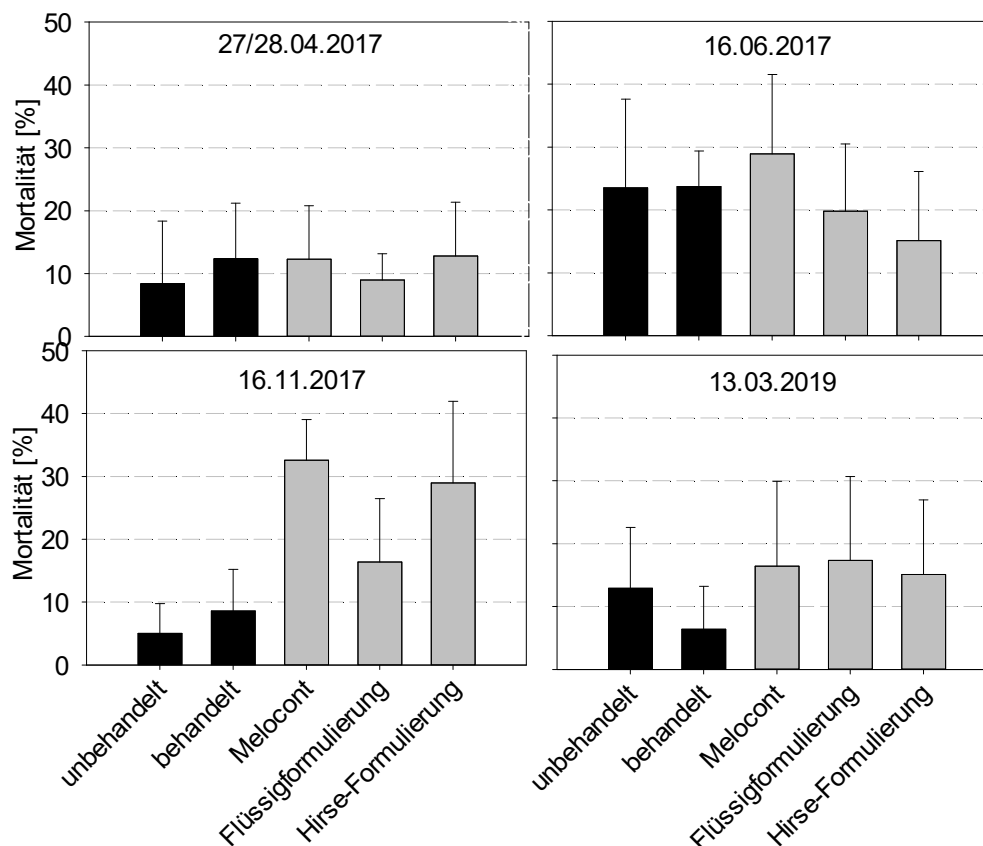


Abb. B18: Einfluss verschiedener *B. brongniartii*-Formulierungen auf die Mortalität von *G. mellonella*-Larven, Mittelwert und Standardabweichung aus 25 Bodenproben mit jeweils 10 Larven.

Die Ergebnisse der Grabungen waren insofern überraschend, da in 2019 fast ausschließlich Altlarven, die vermutlich in 2020 sich zum Imago entwickeln, gefunden werden konnten. Dies ist insofern erstaunlich, da 2018 Maikäfer geflogen sind und im Bestand hätten Eier ablegen sollen. Es ist allerdings nicht auszuschließen, dass der extrem trockene Sommer 2018 die Junglarvenpopulation dezimiert hat. Wurden die Engerlingsdichten in den einzelnen Parzellen verglichen, so wurde in den zwei Kontrollvarianten eine Engerlingsdichte von durchschnittlich über 6 Engerlingen pro Probennahme ermittelt (Abb. B19). Eine Behandlung mit Hirsegranulat erbrachte eine Dichte von 4,2, Melocont von 2,6 und die Flüssiganwendung von einem Engerling pro beprobte Fläche. Die Schadschwelle liegt bei einem Engerling je qm und wird auch in den behandelten Flächen deutlich überschritten. Allerdings war die Engerlingsdichte sehr heterogen. So konnten z.B. in der unbehandelten Kontrolle Dichten von 0 bis 24 Engerlinge ermittelt werden.

Bisherige Untersuchungen zum Vergleich verschiedener Formulierungen lassen es zu, dass auch Flüssigformulierungen grundsätzlich verwendet werden können. Flüssigformulierungen hätten den großen Vorteil, dass sie einfacher ausgebracht werden könnten. Eine Ausbringung über das Bewässerungssystem wäre z.B. im Erdbeeranbau oder bei Anlagen mit Bewässerungssystem durchaus denkbar. Im Rahmen der Beprobungen in den verschiedenen Regionen Deutschlands wurden zahlreiche *B. brongniartii*-Stämme nachgewiesen. In einem weiterführenden Schritt sollte geprüft werden, ob ggf. Stämme isoliert wurden, die besser an die Umweltbedingungen angepasst sind bzw. virulenter sind wie der in den Versuchen verwendete Stamm BIPESCO2.

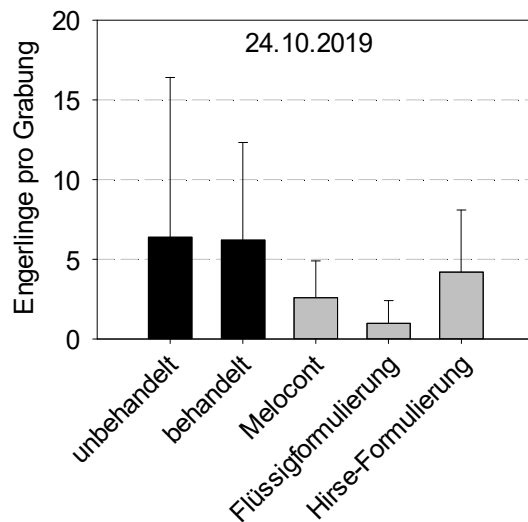


Abb. B19: Anzahl Engerlinge auf 0,25 qm Beprobungsfläche im Grünstreifen zwischen Fahrgasse und Baumreihe (24.10.2019).

IV.3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Arbeitspaket B4: Diagnostische Untersuchungen an toten Apfelwickler-Individuen sowie an antagonistischen Parasitoiden

Methoden

Zur Erfassung potenzieller natürlicher mikrobieller Antagonisten und Viren wurden mikroskopisch-diagnostische Untersuchungen an erkrankten und abgestorbenen Apfelwickler-Raupen, -Puppen und -Adulten durchgeführt. Diese Erhebungen sollten mögliche Unterschiede im Antagonistenspektrum zwischen integriert und ökologisch wirtschaftenden Betrieben aufdecken. Sofern Nützlinge in den gesammelten Larven aufgefunden wurden, erfolgte deren Bestimmung im Teilprojekt A. Beim Auftreten von Nützlingsmortalität wurden auch diese auf mikrobielle Infektionen diagnostiziert, um auch hier auf eine mögliche Dezimierung oder Einschränkung der Parasitierungsleistung schließen zu können. Dies hat besondere Relevanz für die Mikrosporidie *Nosema carpocapsae*. Die mikrobiellen Antagonisten aus *C. pomonella* bzw. den Parasitoiden wurden mikroskopisch und nach Möglichkeit bis auf Gattungs- und Artebene morphologisch charakterisiert.

Die toten, nicht verpilzten Larven wurden bis zur Untersuchung eingefroren. Zur Diagnose wurden die Tiere dann einzeln aufgetaut und unter dem Stereomikroskop aufpräpariert. Von Fettkörper, Vorder-, Mittel- und Enddarm, Malpighischen Gefäßen, Tracheen und Epidermis wurden kleine Gewebeproben entnommen. Von diesen wurden Quetschpräparate hergestellt und unter dem Phasenkontrast-Lichtmikroskop und teilweise im Elektronenmikroskop (Negativ-Kontrast-Präparation mittels Phosphorwolframsäure) auf spezifische Krankheitserreger hin untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Im Folgenden werden die Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen von Raupen und Adulten des Apfelwicklers sowie einiger ausgewählter parasitischer Hymenopteren tabellarisch und chronologisch dargestellt und diskutiert. In den Tab. B3, Tab. B4 und Tab. B5 sind die Untersuchungsflächen der drei Gebiete von Norden nach Süden angeordnet, in „Altes Land“, „Kraichgau“ und „Bodensee“. Dazu ist die Bewirtschaftungsart aufgeführt. Aus nicht aufgeführten Gebieten, wie Kraichgau_3 (Kr_3) und dem Saarland (SL), haben wir keine Proben erhalten.

2016 wurden keine Raupen des Apfelwicklers aufgefunden, sondern jeweils Adulte untersucht, die aus Wellpappstreifen von 2015 schlüpfen. Im Alten Land wurde nur ein einziges Exemplar mit dem Mikrosporidium *Nosema carpocapsae* in einem Biobetrieb in Hamburg-Finkenwerder aufgefunden (Tab. B3). Im Kraichgau waren auf einer Streuobstwiese in Heidelberg Kirchheim acht Falter mit diesem Erreger infiziert (13,8 %). Im Bodenseegebiet gab es in diesem Jahr insbesondere auf einer Streuobstwiese in Überlingen einen hohen Infektionsgrad mit Mikrosporidien von 20,4 %. 2017 stieg der Infektionsgrad auf dieser Fläche sogar auf 33,3 % an. Leider war es nicht möglich, diese Fläche im Folgejahr zu beproben. Daher konnte nicht verfolgt werden, ob der Infektionsgrad der Apfelwicklerpopulation mit dem Mikrosporidien-Erreger weiter anstieg.

In der o.g. Streuobstanlage im Kraichgau (Heidelberg Kirchheim) war im Verlauf der drei Untersuchungsjahre ein starker Anstieg der mikrobiellen Antagonisten zu verzeichnen. Er stieg von 2016 (Tab. B3) mit 13,8 % auf 18,4 % in 2017 (Tab. B4) und schließlich in 2018 auf 53,8 % (Tab. B5).

Allerdings war auch hier im letzten Jahr die eingesammelte Individuen-Anzahl mit 13 viel geringer als 2016 (n = 58) und 2017 (n = 38).

Im Alten Land waren in allen drei Untersuchungsjahren am wenigsten antagonistische Mikroorganismen zu diagnostizieren. So konnte in einer Bio-Anlage in Jork 2017 ein adultes Tier mit *Isaria* sp. diagnostiziert werden. In einer Mostanlage in Engelschoff war nur ein Falter von 43 untersuchten mit der Mikrosporidie *N. carpocapsae* infiziert (Tab. B4). Ebenso im Folgejahr 2018 war nur ein adulter Apfelwickler von 17 präparierten und diagnostizierten aus einer IP-Anlage in Hamburg-Francop Mikrosporidien-infiziert (Tab. B5).

Diagnostische Untersuchungen 2016 mit Wellpappensammlung von 2015

Tab. B3: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2016 an adulten Apfelwicklern (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund).

Fläche	Bewirt-schaftung	Anz. unters. AWI Adulter	Diagnose Erg. Adulte	% Entomo-pathogene
AL_1	Ext-Most	14	14x o.B.	-
AL_2	Bio	9	9x o.B.	-
AL_3	Bio	27	27x o.B.	-
AL_4	Bio	6	6x o.B.	-
AL_5	Bio	46	1x Mikrosporidien 45x o.B.	2,2
AL_7	IP	12	12x o.B.	-
AL_8	IP	1	1x o.B.	-
KR_2	IP	9	9x o.B.	-
KR_5	Bio	10	10x o.B.	-
KR_6	Ext-Streu	58	8x Mikrosporidien 50x o.B.	13,8
KR_7	Ext-Streu	16	16x o.B.	-
KR_8	Ext-Streu	2	2x o.B.	-
SH	Ext-Streu	4	4x o.B.	-
BO_1	Bio	8	1x Mikrosporidien 7x o.B.	12,5
BO_2	Bio	12	12x o.B.	-
BO_3	Bio	34	34x o.B.	-
BO_4	Ext-Most	109	109x o.B.	-
BO_5	IP	2	2x o.B.	-
BO_7	Ext-Streu	116	1x Mikrosporidien 115x o.B.	0,9
BO_8	Ext-Streu	363	74x Mikrosporidien 289x o.B.	20,4

Diagnostische Untersuchungen 2017 mit Wellpappensammlung von 2016

Tab. B4: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2017 an Raupen und Adulten des Apfelwicklers sowie an parasitischen Hymenopteren (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökoologisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund, Mik. Mikrosporidien, EPF Entomopathogene Pilze, sap. saprophytisch).

Fläche	Bewirtschaftung	Anz. unters. AWI Raupen	Anz. unters. AWI Adulter	Anz. unters. Hymenoptera	Diagn. Erg. AWI Raupen	Diagn. Erg. AWI Adulte	Diagn. Erg. Hymenoptera	AWI % Entomopathogene	Hymenoptera % Entomopathogene
AL_1	Ext-Most	2	41	1	1x sek. verpilzt 1x o.B.	1x Mik. 40x o.B.	1x o.B.	2,3	-
AL_2	Bio	-	3	2	-	1x EPF <i>Isaria</i> sp. 2x o.B.	2x o.B.	33,3	-
AL_3	Bio	-	33	-	-	33x o.B.	-	-	-
AL_4	Bio	-	4	16	-	4x o.B.	16x o.B.	-	-
AL_5	Bio	-	25	12	-	25x o.B.	12x o.B.	-	-
AL_7	IP	-	4	2	-	4x o.B.	2x o.B.	-	-
AL_8	IP	-	1	-	-	1x o.B.	-	-	-
KR_2	IP	-	4	-	-	4x o.B.	-	-	-
KR_5	Bio	10	11	3	9x sap. verpilzt 11x o.B.	11x o.B.	3x o.B.	-	-
KR_6	Ext-Streu	13	25	12	2x Mik. 3x sap. verpilzt 8x o.B.	2x Mik. 3x EPF <i>Beauveria</i> sp. 20x o.B.	-	18,4	-
KR_7	Ext-Streu	-	3	-	-	3x o.B.	-	-	-
KR_8	Ext-Streu	-	13	1	-	13x o.B.	1x o.B.	-	-
SH	Ext-Streu	-	41	41	-	6x Mik. 35x o.B.	41x o.B.	14,6	-

Fortsetzung Tab. B4:

Fläche	Bewirtschaftung	Anz. unters. AWI Raupen	Anz. unters. AWI Adulter	Anz. unters. Hymenoptera	Diagn. Erg. AWI Raupen	Diagn. Erg. AWI Adulte	Diagn. Erg. Hymenoptera	AWI % Entomopathogene	Hymenoptera % Entomopathogene
BO_1	Bio	-	40	11	-	7x EPF <i>Beauveria</i> sp. 3x sap. verpilzt 30x o.B.	11x o.B.	17,5	-
BO_2	Bio	-	11	1	-	11x o.B.	1x o.B.	-	-
BO_3	Bio	5	5	12	5x o.B.	2x sap. verpilzt 3x o.B.	12x o.B.	-	-
BO_4	Ext-Most	-	45	8	-	3x Mik. 42x o.B.	8x o.B.	6,7	-
BO_5	IP	-	1	-	-	1x o.B.	-	-	-
BO_7	Ext-Streu	6	88	11	5x sap. verpilzt 1x o.B.	2x EPF <i>Isaria</i> sp. <i>Hirsutella</i> sp. 86x o.B.	11x o.B.	2,1	-
BO_8	Ext-Streu	6	51	83	4x sap. verpilzt 2x o.B.	12x Mik. 5x EPF 2x <i>Beauveria</i> sp. 3x <i>Isaria</i> sp. 34x o.B.	83x o.B.	33,3	-

Diagnostische Untersuchungen 2018 mit Wellpappensammlung von 2017

Tab. B5: Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen 2018 an Raupen und Adulten des Apfelwicklers sowie an parasitischen Hymenopteren (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökologisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, o.B. ohne Befund, Mik. Mikrosporidien, EPF Entomopathogene Pilze, sap. saprophytisch).

Fläche	Bewirtschaftung	Anz. unters. AWI Raupen	Anz. unters. AWI Adulter	Anz. unters. Hymenoptera	Diagn. Erg. AWI Raupen	Diagn. Erg. AWI Adulte	Diagn. Erg. Hymenoptera	AWI % Entomopathogene	Hymenoptera % Entomopathogene
AL_1	Ext-Most	-	8	-	-	8x o.B.	-	-	-
AL_3	Bio	3	61	-	1x sap. verpilzt 2x o.B.	4x sap. verpilzt 57x o.B.	-	-	-
AL_4	Bio	-	-	4	-	4x o.B.	-	-	-
AL_5	Bio	7	53	2x Ichneumonidae 2x <i>Trichomma</i> sp.	1x sap. verpilzt 6x o.B.	2x sap. verpilzt 51 o.B.	4x o.B.	-	-
AL_6	IP	-	2	1x Ichneumonidae	-	2x o.B.	1x Mik.	-	(100)
AL_7	IP	2	53	-	2x o.B.	53x o.B.	-	-	-
AL_8	IP	1	17	-	1x o.B.	1x Mik. 16x o.B.	-	5,9	-
KR_1	IP	-	17	-	-	2x Mik. 15x o.B.	-	11,8	-
KR_5	Bio	7	57	2x Ichneumonidae	7x o.B.	2x sap. verpilzt 55x o.B.	2x o.B.	-	-
KR_6	Ext-Streu	-	13	-	-	7x Mik. 6x o.B.	-	53,8	-
KR_7	Ext-Streu	-	3	-	-	3x o.B.	-	-	-
KR_8	Ext-Streu	-	29	-	-	4x Mik. 25x o.B.	-	16	-
SH	Ext-Streu	5	81	3	1x Mik. 4x o.B.	4x Mik. 2x sap. verpilzt 75x o.B.	3x o.B.	5,8	-

Fortsetzung Tab. B5:

Fläche	Bewirtschaftung	Anz. unters. AWI Raupen	Anz. unters. AWI Adulter	Anz. unters. Hymenoptera	Diagn. Erg. AWI Raupen	Diagn. Erg. AWI Adulte	Diagn. Erg. Hymenoptera	AWI % Entomopathogene	Hymenoptera % Entomopathogene
BO_1	Bio	-	2	-	-	2x o.B.	-	-	-
BO_2	Bio	-	14	-	-	14x o.B.	-	-	-
BO_3	Bio	6	18	-	2x sap. verpilzt 4x o.B.	18x o.B.	-	-	-
BO_4	Ext-Most	-	31	-	-	3x Mik. 1x sap. verpilzt 27x o.B.	-	9,7	-
BO_6	IP	1	1	-	1x o.B.	1x o.B.	-	-	-
BO_7	Ext-Streu	6	241	1x Ichneumonidae 2x Pteromalidae	4x sap. verpilzt 2x o.B.	18x Mik. 4x sap. verpilzt 219x o.B.	3x o.B.	7,3	-

Eine Gesamtübersicht über die Anzahl aufgefundener entomopathogener Mikroorganismen nach Untersuchungsregion und –jahren zeigt Tab. B6

Tab. B6: Gesamtanzahl diagnostisch untersuchter Apfelwickler-Individuen und darin aufgefundener entomopathogener Pilze, einschließlich Mikrosporidien (ohne Saprophyten) der Jahre 2016 - 2018 in den verschiedenen Regionen. (AL Altes Land, KR Kraichgau, BO Bodensee, IP Integriert Tafelobst, Bio Ökologisch Tafelobst, Ext-Most Extensiv Mostobst, Ext-Streu Extensiv Streuobst, AWI Apfelwickler, Ent. MO Entomopathogene Mikroorganismen (Pilze, einschließlich Mikrosporidien, % gesamt gemittelt über Tieranzahl)).

Jahr	Region	AWI gesamt	Ent. MO	% Ent. MO	% gesamt
2016	AL	115	1	0,9	0,9
2017		113	2	1,8	
2018		207	1	0,5	
2016	KR	99	8	8,1	9,5
2017		120	11	9,2	
2018		221	23	10,4	
2016	BO	644	76	11,8	10,3
2017		258	29	11,2	
2018		320	21	6,6	

Dabei zeigten sich keine auffälligen Unterschiede innerhalb der Untersuchungsjahre. Das Vorkommen entomopathogener Mikroorganismen war im Kraichgau und Bodenseeregion in etwa gleich. Im Alten Land dagegen, waren mit 0,9 % die wenigsten entomopathogenen Mikroorganismen nachweisbar.

Es zeigte sich, dass in aufgelassenen Streuobstwiesen weitaus die meisten Infektionen an Apfelwicklern mit entomopathogenen Mikroorganismen diagnostiziert wurden, insbesondere mit der Mikrosporidie *N. carpocapsae* (12,3 %, Tab. B). Allerdings wurden dort auch die meisten Apfelwickler aufgefunden.

Tab. B7: Gesamtanzahl diagnostisch untersuchter Apfelwickler-Individuen und darin aufgefundener entomopathogener Mikroorganismen der Jahre 2016-2018 in den verschiedenen Bewirtschaftungsweisen. (IP Integriert Tafelobst, Bio Ökologisch Tafelobst, Ext Extensiv Mostobst und Extensiv Streuobst, zusammengefasst, Ent. MO Entomopathogene Mikroorganismen (Pilze, einschließlich Mikrosporidien)).

Jahr	Bewirtschaftung	AWI untersucht	Ent. MO	% MO
2016	IP	24	0	0
	Bio	152	2	1,3
	Ext	687	83	14,8
2017	IP	10	0	0
	Bio	147	8	5,4
	Ext	334	34	10,2
2018	IP	94	3	3,1
	Bio	218	0	0
	Ext	417	36	8,6
Summe	IP	128	3	2,3
	Bio	517	10	1,9
	Ext	1433	153	10,7

In den diagnostischen Untersuchungen hat sich gezeigt, dass parasitische Hymenopteren in allen Untersuchungsgebieten und -flächen kaum mit *N. carpocapsae* infiziert wurden. Aus allen untersuchten Individuen (n = 229) war nur eine Infektion mit dieser Mikrosporidie nachweisbar (Altes Land, Guderhandviertel, Tab. B5).

IV. 3 Teilprojekt B: Antagonistische Mikroorganismen

Zusammenfassung und Diskussion der Ergebnisse

- Mittels Ködermethode wurden ca. 1.000 entomopathogene Pilze (EPF) aus Bodenproben isoliert und in die Stammsammlung des Institutes überführt. Die Ergebnisse weisen deutliche regionale Unterschiede bezüglich des Artenspektrums der EPF auf. So kommen in Anlagen der Region Bodensee vermehrt EPF der Gattung *Metarhizium* mit seinen dominierenden Arten *M. guizhouense* und *M. robertsii* vor, wohingegen EPF der Gattung *Isaria* ausschließlich in zwei Anlagen der Region Altes Land sowie in einer Anlage am Bodensee nachgewiesen werden konnten. EPF der Gattung *Beauveria* konnten aus Proben aller drei Regionen isoliert werden, der Schwerpunkt liegt hier im Alten Land und im Kraichgau. Die vorherrschende *Beauveria*-Art ist im Alten Land *B. brongniartii* und im Kraichgau *B. bassiana*.
- Bezogen auf das Vorkommen insektenpathogener Pilze in Bodenproben war die Artenvielfalt bei den ökologisch wirtschaftenden Betrieben - gefolgt von den Streu-/Most-Flächen - am höchsten. Es konnten keine Unterschiede des Pilzvorkommens innerhalb eines Jahres und über die drei Beobachtungsjahre 2016 bis 2018 festgestellt werden. Auch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Apfelsorten Braeburn und Topaz sowie dem Probenahmeort festgestellt werden.
- Weiterführende Untersuchungen mit ausgewählten Pilzen ergaben, dass sich Pilze hinsichtlich ihres Temperaturoptimums und ihrer Ausbreitung in der Apfelanlage unterschieden. Auch ist der Einfluss von Pflanzenschutzmaßnahmen pilzstammspezifisch. Eine Wirkung auf den Gemeinen Ohrwurm (*Forficula auricularia*) sowie auf die Schlupfwespe *Trichogramma cacoeciae* konnte in Laborversuchen nicht nachgewiesen werden.
- Die Wirksamkeit insektenpathogener Pilze gegenüber dem Apfelwickler *Cydia pomonella* ist art- und stammabhängig. In einem ersten Screening zeigten insbesondere *B. bassiana*- und *I. fumosorosea*-Stämme eine gute Wirkung gegen *C. pomonella*. Die Ergebnisse des zweiten Versuchsansatzes deutet aber darauf hin, dass höhere Konzentrationen an Pilzsporen notwendig sein müssen, um eine deutliche Wirkung zu erzielen. Auch die Versuche mit Käfern des Apfelblütenstechers *Anthonomus pomorum* erbrachten keine hohen Mortalitäten.
- In einem mehrjährigen Versuch zur Anwendung von *B. brongniartii* zur Regulierung von Engerlingen zeigte sich, dass die Pilzkonzentration nach Ausbringung in den Boden innerhalb eines Jahres erhöht werden kann. In den behandelten Flächen konnte ein leichter Rückgang der Befallsstärke beobachtet werden.

V. Gesamtdiskussion und Aussichten für eine Verwertung der Projektergebnisse

Die Aussagefähigkeit unserer Studie erfährt auf Grund der geringen Flächenanzahl pro Region und der Variabilität möglicher Einflussfaktoren (lokales Management, Umgebungsstruktur, räumliche Korrelation bestimmter Flächen, unterschiedlicher Schädlingsdruck, Sortenwahl, Witterung etc.) sicherlich eine gewisse Begrenzung in ihrer Allgemeingültigkeit. Andererseits garantierte die konsequente, mehrjährige Durchführung der Erhebungen die Datenvalidität, so dass trotz der geringen Flächenzahl statistisch auswertbare Datensätze vorliegen. Eine Beschränkung auf eine Region (z.B. auf das homogen strukturierte Alte Land mit vergleichbaren Schädlingsaufkommen) hätte sicherlich eine größere Zahl vergleichbarer Flächen zur Erhebung zugelassen und gleichzeitig den Einfluss weiterer Faktoren außer der Bewirtschaftung reduziert. Dann hätten aber andere Aspekte, wie z.B. der Struktureichtum einer Landschaft und die unterschiedlichen Anbausituationen mehrerer wichtiger Obstbauregionen in Deutschland nicht berücksichtigt werden können. Arthropoden in der Baumkrone sowie Parasitoide in der Krautschicht unterschieden sich in ihrer Häufigkeit von Region zu Region. Es ergaben sich Hinweise, dass ein hoher Anteil von Ackerfläche in der näheren Umgebung der Obstanlagen wie im Kraichgau ihr Vorkommen im Vergleich zu strukturreichen Obstanbauregionen am Bodensee und im Alten Land reduziert. Ökologisch und integriert bewirtschaftete Tafelobstanlagen entschieden sich nicht in ihrem zahlenmäßigen Bestand an Parasitica der Baum- und Krautschicht. Die Vielfalt der Parasitoidenfauna war allerdings auf ökologischen Flächen signifikant höher. Auch die wichtigsten Parasitoide des Apfelwicklers traten in Biobetrieben zuverlässig auf und leisteten dort einen zwar niedrigen, doch regelmäßigen Beitrag zur Regulierung dieses Schädlings im Kernobstanbau. Auch auf Extensivflächen waren diese Hauptparasitoide vertreten und die Brackwespe *Ascogaster quadridentata* war dominierend. Populationen dieser Art sind durch Wegfallen ihrer Wirtsressource in Folge des Einsatzes hocheffizienter Insektizide oder auch inundativ ausgebrachter Nützlinge gegen den Zielschädling Apfelwickler in ihrer Bestandesentwicklung limitiert. Die Art *Trichomma enecator* parasitiert etwas ältere Wirtslarven und kann sich in überlebenden Wirten vermehren. Vorhandene Parasitoide könnte man durch Verbesserungen der Habitatbedingungen wie Blühpflanzen sehr gut unterstützen, da diese Maßnahmen zur Lebensverlängerung und höherer Parasitierungsleistung führen. Extensive Streu- und Mostobstflächen können hohe Dichten an Primärkonsumenten wie Blattsaugende Arten und andere Herbivore aufweisen, die als Nahrungsquelle höherer trophischer Ebenen dienen. Insofern kann dazu angeregt werden, in intensiv bewirtschaftete Regionen auch andere Formen der Obstproduktion einzuführen, z.B. auch in Zusammenarbeit mit dem Naturschutz die Anlage von Streuobstwiesen voranzutreiben. Es gilt zu prüfen, inwieweit Parasitoide aus Extensivflächen in intensiver bewirtschaftete Obstanlagen in der Nähe einwandern und ob ein diverses Mosaik aus Obstanlagen mit unterschiedlich intensiver Bewirtschaftung in den wichtigsten Obstbauregionen Deutschlands die Häufigkeit und Diversität ihrer typischen „Bewohner“ fördern kann. Gleichzeitig sollte das Schädlingsaufkommen dadurch aber nicht gefördert werden. Daher ist der Einsatz eines Augmentoriums vielleicht in Streu- oder Mostobstwiesen eine interessante Methode zur Anreicherung von Parasitoidenpopulationen bei gleichzeitiger, PSM-freier Reduktion der Apfelwicklerpopulation. Auch diese Möglichkeit sollte noch weiter erforscht werden.

Die diagnostischen Untersuchungen bestätigen und erweitern frühere Studien über insektenpathogene Mikroorganismen und ihre Bedeutung als Mortalitätsfaktoren in Apfelwicklerpopulationen, wie sie von Huger (1976), Subinprasert (1987), Zimmermann und Weiser

(1991), Cross et al. (1999a, 1999b), Zimmermann et al. (2013) durchgeführt und publiziert wurden. Mikroorganismen tragen zur Reduktion von Schädlingspopulationen bei.

Im Rahmen der mehrjährigen systematischen Erfassung insektenpathogener Pilze aus verschiedenen bewirtschafteten Apfelanlagen in verschiedenen Regionen Deutschlands konnten über 1.000 Pilzisolat in die institutseigene Stammsammlung überführt werden. Diese genetische Ressource bildet eine wichtige Grundlage für weiterführende Arbeiten zur Ökosystemleistung insektenpathogener Pilze in Agrarökosystemen. Zusätzlich stellt diese Sammlung eine wichtige Ressource für die Entwicklung neuer biologischer Pflanzenschutzmittel auf der Basis insektenpathogener Pilze dar. Erfreulicherweise konnten insbesondere Pilze der Gattung *Isaria* isoliert werden. Neben den bisher im biologischen Pflanzenschutz vorrangig berücksichtigten Gattungen *Beauveria* und *Metarhizium* wird in Zukunft der Gattung *Isaria* eine bedeutendere Rolle im biologischen Pflanzenschutz zukommen. So ist inzwischen der Apopka Stamm 97 der Art *Isaria fumosorosea* als Wirkstoff in der EU gelistet. Wie erwähnt, ist trotz der sehr umfangreichen Untersuchungen die Anzahl vergleichbarer Probenflächen begrenzt. Dennoch lassen sich Tendenzen aus den Untersuchungen ableiten: Insektenpathogene Pilze sind weit verbreitet und kommen natürlich im Boden vor. Die erzielten Ergebnisse unterstreichen, dass regionale Unterschiede in der Artzusammensetzung insektenpathogener Pilze vorhanden sind, wobei hier der Bodentemperatur eine wichtige Rolle zukommt. Auch kann die Bewirtschaftungsform einen Einfluss auf die Biodiversität haben. Keinen Einfluss hingegen hatten die Jahreszeit und die drei Boniturjahre auf die Zusammensetzung insektenpathogener Pilzarten. Insektenpathogene Pilze können mit standardisierten Methoden regelmäßig erhoben werden und ihr Vorkommen ist nicht stark von der Witterung abhängig. Dies sind Eigenschaften, die dafürsprechen würden, in Zukunft insektenpathogene Pilze auch als Biodiversitätsindikatoren mit zu berücksichtigen. Jede Pilzart bis hin zu jedem Pilzstamm kann unterschiedlich auf Umwelteinflüsse reagieren. Dies schließt neben natürlichen Faktoren wie Bodentemperatur auch anthropogene Faktoren ein. So war das Vorkommen bzw. die Ausbreitung insektenpathogener Pilzarten und Pilzstämmen in Apfelanlage sehr unterschiedlich. Dies konnte beispielhaft an drei unterschiedlichen Flächen um einen Apfelbaum belegt werden. Diese Untersuchungen machen deutlich, dass der Erfolg einer inokulativen Anwendung insektenpathogener Pilze stark von dem verwendeten Pilzstamm abhängt. Eine inokulative Ausbringen eines insektenpathogenen Pilzes im Boden bedingt einen temporären Anstieg, der eine temporäre Kontrolle von Schadinsekten ermöglicht. Dies wurde im Rahmen eines Feldversuches zur Bekämpfung von Maikäferengerlingen mit *B. brongniartii* in Obstanlagen untersucht. Für eine nachhaltige Kontrolle von Engerlingen ist eine jährliche Ausbringung des Pilzes notwendig. Fortführende Untersuchungen sollen nun prüfen, ob die im Rahmen des Demoprojektes isolierten *B. brongniartii*-Stämme besser als der bisher verwendete kommerzielle Stamm BIPESCO2 für die Anwendung in Obstanlagen geeignet sind.

VI. Erkenntnisse von Dritten

Zeitgleich mit unserer Studie wurden im Rahmen des europäischen Projektes „Ecofruit“ (BiodivERSA-FACCE2014-74) zweijährige (2015-2016) Erhebungen von Bestäuberinsekten und Nützlingen in der Baumkrone in ökologisch und integriert bewirtschafteten Tafelobstanlagen in der Bodenseeregion durchgeführt (Samnegård et al., 2018; Happe et al., 2018; Happe et al., 2019). Der Fokus lag hier aber auf den Prädatoren, insbesondere dem Ohrwurm *Forficula auricularia* L.. Es zeigte sich vor allem bei räuberischen Wanzen ein positiver Effekt der biologischen Bewirtschaftungsweise, denn diese kamen in ökologischen Tafelobstanlagen häufiger vor. Im Unterschied zu unserer Untersuchung war ein hoher Obstanteil in näherer Umgebung eher limitierend für die Bestandesentwicklung der beurteilten Taxa und andere Landschaftselemente (z.B. Gehölze) beeinflussten die Populationen z.B. der Ohrwürmer stärker.

In einer Masterarbeit an der Universität Würzburg (Mall, 2019) wurden neun Tafelobstanlagen (drei davon ökologisch bewirtschaftet) von März bis August 2018 mit Klopfproben und ausgebrachten Ködereiern zur Messung der Prädation untersucht. Die Landschaftskomplexität bzw. das Management hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Abundanz von Prädatoren (Spinnen, Ohrwürmer), die allgemeine Prädationsaktivität oder den Ertrag.

Seit 2016 wird ein die Bundesländer übergreifendes Forschungsprojekt unter Einbindung zahlreicher Akteure (Wissenschaft, Beratung, obstbauliche Praxis) durchgeführt mit dem Ziel, durch Gestaltung von Erwerbsobstanlagen und Streuobstwiesen die Biodiversität und die Ökosystemleistungen im Obstbau in Zusammenarbeit mit Betrieben durch eine Vielfalt von Maßnahmen zu fördern (Bundesprogramm Biologische Vielfalt – BfN-Projekt: Potenziale und Praxisprogramm zur Erhöhung der ökologischen Vielfalt in Erwerbsobstanlagen und Streuobstwiesen (2016-2022)).

VII. Gegenüberstellung Ziele, weiterführende Fragestellungen

Ziele des Projektes Demoapfel	Weiterführende Fragestellungen
Darstellung der Parasitoidenfauna (auf Familienebene) in der Baumkrone und Krautschicht von Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsweise.	Identifikation einer typischen „Obstfauna“ innerhalb der Parasitoidengemeinschaften durch weitere Analysen auf detailliertes taxonomisches Niveau.
Darstellung des Parasitoidenkomplexes des Apfelwickles in Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsweise.	Prüfung der Möglichkeit einer Einwanderung der Hauptparasitoide aus Extensivanlagen in Erwerbsanlagen. Anreicherung durch ein Augmentorium. Prüfung eines Risikos durch erhöhtes Schädlingsaufkommen.
Beurteilung von Region und Bewirtschaftungsweise auf Antagonistenspektrum in Obstanlagen unterschiedlicher Bewirtschaftungsweise.	Bedeutung von Streu-/Mostobstwiesen als Ressource für Antagonisten.
Bewertung einer Gefährdung der Hauptparasitoide des Apfelwicklers durch Pflanzenschutzverfahren.	Möglichkeiten einer Förderung durch Bereitstellung von alternativen Wirten und anderen notwendigen Habitatressourcen.
Tatsächliches Vorkommen von Mikroorganismen und Viren (MO) in den verschiedenen Anbauregionen Deutschlands.	Prüfen der Eignung von MO als Biodiversitätsindikatoren. Quantifizierung des Vorkommens von MO zur besseren Einschätzung der Ökosystemleistung von MO.
Beeinflussung der Häufigkeit von MO durch verschiedene Bewirtschaftungsformen.	Bewertung von Bewirtschaftungsformen anhand ausgewählter Indikator-MO.
Saisonales Auftreten von MO und ökologische Interaktionen.	Erfassung quantitativer Schwankungen von MO innerhalb einer Saison.
Potentielle Nebenwirkungen unverzichtbarer Pflanzenschutzmittel auf MO.	Überprüfung potentieller Nebenwirkungen unverzichtbarer Pflanzenschutzmittel auf MO in der Praxis an ausgewählten Indikator-MO.

VIII. Literaturverzeichnis

- Abaajeh, A. R.; Nchu, F. (2015): Isolation and pathogenicity of some South African entomopathogenic fungi (Ascomycota) against eggs and larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). In: Biocontrol Science and Technology 25 (7), S. 828–842. DOI: 10.1080/09583157.2015.1019831.
- Athanassov, A., Charmillot, P., Jeanneret, P., Renard, D. (1997): Les parasitoides des larves et des chrysalides du carpocapsae *Cydia pomonella* L.. Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture 29, 100-106.
- Bährmann, R. (Hrsg.) (2011): Bestimmung wirbelloser Tiere: Bildtafeln für zoologische Bestimmungsübungen und Exkursionen. Spektrum Akademischer Verlag; 6. Auflage, 407 Seiten.
- Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit (BMU, Hrsg.) (2019): Aktionsprogramm Insektenschutz. Gemeinsam wirksam gegen das Insektensterben. 67 Seiten. Publikationsversand der Bundesregierung Postfach 48 10 09 · 18132 Rostock, Internet: www.bmu.de/publikationen.
- Cahenzli, F., Sigsgaard, L., Daniel, C., Herz, A., Jamar, L., Kelderer, M., Jacobsen, S.K., Kruczynska, D., Matray, S., Porcel, M., Sekrecka, M., Świergiel, W., Tasin, M., Telfser, J., Pfiffner, L. (2019): Perennial flower strips for pest control in organic apple orchards—A pan-European study. Agriculture, Ecosystems and Environment 278, 43–53. doi.org/10.1016/j.agee.2019.03.011
- Charmillot, P.J., Pasquier, D. (2003): Combination of mating disruption (MD) technique and granulosis virus to control resistant strains of codling moth *Cydia pomonella*. Bulletin OILB/SROP 26(11), 27-29.
- Cross, J.V., Solomon, M.G., Chandler, D., Jarrett, P., Richardson, P.N., Winstanley, D., Bathon, H., Huber, J., Keller, B., Langenbruch, G.A., Zimmermann, G. (1999a): Biocontrol of pests of apples and pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial agents and nematodes. Biocontrol Sc. Techn. 9, 125-149.
- Cross, J.V., Solomon, M.G., Babendreier, D., Blommers, L., Easterbrook, M.A., Jay, C.N., Jenser, G., Jolly, R.L., Kuhlmann, U., Lilley, R., Olivella, E., Toepfer, S., Vidal, S. (1999b): Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe: 2. Parasitoids. Biocontrol Science and Technology 9, 277-314.
- Cross, J. V. (ed.) (2002): Guidelines for Integrated Production of Pome Fruits in Europe. Technical Guideline III. IOBC/wprs Bulletin 25 (8), 45 pp.
- Deguine, J.-P.; Atiama-Nurbel, T.; Quilici, S. (2011): Net choice is key to the augmentorium technique of fruit fly sequestration and parasitoid release. Crop Protection 30, 198-202.
- DeLury, N.C.; Gries, R.; Gries, G.; Judd G.J.R.; Khaskin, G. (1999): Moth scale-derived kairomones used by egg–larval parasitoid *Ascogaster quadridentata* to locate eggs of its host, *Cydia pomonella*. Journal of Chemical Ecology 15, 2419–2431.
- Diaconu, A., Pisica, C., Andriescu, I., Lozan, A. (2000): The complex of parasitoids of the feeding larvae of *Cydia pomonella* L. (Lep.: Tortricidae). Mitt. Schweiz. Entomol. Gesellschaft 73, 13-22.
- Dickler, E. (1986): Einfluss von Behandlungen mit Apfelwickler-Granulosevirus (CpGV) und breitenwirksamen chemischen Insektiziden auf Parasiten des Apfelwicklers und Parasiten von Schalenwickler-Arten. IOBC/wprs Bulletin 9, 90-97.

- Directive 2009/128/EC, Sustainable use of pesticides. Available online: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/sustainable_use_pesticides_en (accessed on 08.05.2020).
- European Academies Science Advisory Council (EASAC) (2015): Ecosystem services, agriculture and neonicotinoides. Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina, Halle (Saale). 70 Seiten. ISBN 978-3-8047-3437-1.
- Fördergemeinschaft ökologischer Obstbau, foeko e.V. (2020): Gesunderhaltung der Kulturpflanzen im Ökologischen Apfelanbau auf der Basis einer Erhebung von Praxisdaten im Jahr 2017. Weinsberg. <https://www.foeko.de/publikationen/gesunderhaltung-der-pflanzen-im-oeko-apfelanbau/>, acc. 25.05.20.
- Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Zebitz, C.P.W., Huber, J. (2005): Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 57, 29-34.
- Glen, D.M.; Milsom, N.F. (1978): Survival of mature larvae of codling moth (*Cydia pomonella*) on apple trees and ground. Ann. Appl. Biol. 1978, 90, 133-146.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp. Updated Version PAleontological Statistics (PAST), Version 4.0, 2020.
- Happe, A.-K., Roquer-Beni, L., Bosch, J., Alins, G., Mody, K. (2018): Earwigs and woolly apple aphids in integrated and organic apple orchards: responses of a generalist predator and a pest prey to local and landscape factors. Agriculture, Ecosystems and Environment, 268: 44-51; <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.09.004>
- Happe, A.-K.; Alins, G.; Boreux, V.; Bosch, J.; García, D.; Hambäck, P.A.; Klein, A.M.; Miñarro, M.; Müller, A.-K.; Porcel, M.; Rodrio, A.; Roquer-Beni, L.; Samnegård, U.; Tasin, M.; Mody, K. (2019): Predatory arthropods in apple orchards across Europe: responses to agricultural management, adjacent habitat, landscape composition and country. Agriculture, Ecosystems and Environment 273; <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.12.012>
- Herz, A.; Eder, G.; Feiertag, S.; Wittlich, S. (2012): Use of nectar resources by *Asocgaster quadridentata* WESMAEL (Hymenoptera, Braconidae), an important egg-larval parasitoid of the codling moth: first evidence from laboratory studies. ecofruit: 15th International Conference on Organic Fruit-Growing. Proceedings for the Conference from February 20th to February 22nd, 2012 at the University of Hohenheim/Germany, 338-341.
- Herz, A.; Cahenzli, F.; Penvern, S.; Pfiffner, L.; Tasin, M.; Sigsgaard, L. (2019): Review: Managing Floral Resources in Apple Orchards for Pest Control: Ideas, Experiences and Future Directions. Insects 10, 247; doi:10.3390/insects10080247.
- Horak, J., Peltanova, A., Podavkova, A., Safarova, L., Bogusch, P., Romportl, D., Zasadil, P. (2013): Biodiversity responses to land use in traditional fruit orchards of a rural agricultural landscape. Agriculture, Ecosystems and Environment 178, 71–77.
- Huger, A.M. (1976): Diagnostische Untersuchungen über das Auftreten von Krankheiten in Freilandpopulationen wichtiger Schadinsekten. Jahresb. Biol. Bundesanst. Land- und Forstw. Braunschweig 1976, H 79 – H 80, 3.1.
- IOBC (2002): Guidelines for Integrated Production of Pome Fruits. IOBC/wprs Bull. 25(8), 17-25.

- IPBES (2018): Zusammenfassung für politische Entscheidungsträger des Regionalen Assessments zur biologischen Vielfalt und Ökosystemleistungen in Europa und Zentralasien der Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES). M. Fischer, M. Rounsevell, A. Torre-Marín, Rando, A. Mader, A. Church, M. Elbakidze, V. Elias, T. Hahn, P.A. Harrison, J. Hauck, B. Martín-López, I. Ring, C. Sandström, I. Sousa Pinto, P. Visconti, N.E. Zimmermann und M. Christie (Hrsg.). IPBES-Sekretariat, Bonn, Deutschland. 48 Seiten.
- Jehle, J.A.; Sauer, A.J.; Fritsch, E., Undorf-Spahn, K. (2016): Neue Erkenntnisse zur Verbreitung der Resistenz des Apfelwicklers gegen das *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV). Julius-Kühn-Archiv 454, 101-102.
- Kleespies, R.G., Huger, A.M., Zimmermann, G. (2008): Diseases of insects and other arthropods: Results of diagnostic research over 55 years. *Biocontrol Sc. Technol.* 18, 439-484.
- Kleespies, R.G., A.M. Huger, G. Zimmermann (2009): Datenbank zur Diagnose von Arthropodenkrankheiten: <http://arthropodenkrankheiten.jki.bund.de>.
- Ksentini, I., Herz, A. (2019): Studies on interactions between parasitoids: the case of the idiobiont *Trichogramma cacoeciae* and the koinobiont *Ascogaster quadridentata* on *Cydia pomonella* eggs. *Bulletin of Insectology* 72, 207-218.
- Lacey, L.A., D.I. Shapiro-Ilan, (2008): Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: Potential for incorporation into IPM. *Ann. Rev. Entomol.* 53, 121-144.
- Lehmann, W. (1986): Beitrag zur Kenntnis der Parasiten von *Laspeyresia pomonella* L. *Arch. Pfl. Sch.* 4, 131-141.
- Litterst, M., Gernoth, H., Fried, A. (2006): Pflanzenschutzmittel zur Bekämpfung des Apfelwicklers. *Obstbau* 31: 282-283.
- Maalouly, M.; Franck, P.; Jean-Charles Bouvier, J.-C.; Toubon, J.-F.; Lavigne, C. (2013): Codling moth parasitism is affected by semi-natural habitats and agricultural practices at orchard and landscape levels. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 169, 33– 42.
- Mall, D. (2019): Investigating apple orchards: arthropod communities and sentinel egg predation in different management and landscape environment. Masterarbeit, Julius-Maximilians-Universität Würzburg.
- Malone, L.A.; Burgess, E.P.J.; Barraclough, E.I.; Poulton, J.; Todd, J.H. (2017): Comparison of invertebrate biodiversity in New Zealand apple orchards using integrated pest management, with or without codling moth mating disruption, or organic pest management. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 247, 379–388.
- Mani, E., Riggenschach, W., Schwaller, F. (1986): Bedeutung von *Pimpla turionellae* in der Ostschweiz. *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.* 59, 297-301.
- Matráy, S., Herz, A. (Manuskript): Nutritional requirements of *Ascogaster quadridentata* WESMAEL (Hymenoptera: Braconidae): Effects of floral diet on longevity and parasitism performance of a key parasitoid of codling moth.
- Mills, N. (2005): Selecting effective parasitoids for biological control introductions: Codling moth as a case study. *Biological Control* 34, 274-282.
- R version 3.6.2 (2019-12-12) - "Dark and Stormy Night", R Core Team (2019): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

- Roßberg, D., Michel, V., Graf, R., Neukampf, R. (2007): Definition von Boden-Klima-Räumen für die Bundesrepublik Deutschland. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 59, 155-161.
- Samnegård, U., Alins, G., Boreux, V., Bosch, J., García, D., Happe, A.K., Klein, A.M., Miñarro, M., Mody, K., Porcel, M., Rodrio, A., Roquer-Beni, L., Tasin, M., Hambäck, P.A. (2018): Management trade-offs on ecosystem services in apple orchards across Europe: Direct and indirect effects of organic production. *J. Appl. Ecol.* 56, 802–811. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13292>.
- Sánchez-Bayo, F., Wyckhuys, K.A.G. (2019): Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation* 232, 8–27.
- Sanders, J., Heß, J. (Eds.) (2019): Leistungen des ökologischen Landbaus für Umwelt und Gesellschaft. 2. überarbeitete und ergänzte Auflage. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut, 398 pp, Thünen Rep 65, DOI:10.3220/REP1576488624000
- Scaramozzino, P. L., Di Giovanni, F., Loni, A., Ricciardi, R. & Lucchi, A. (2018): Updated list of the insect parasitoids (Insecta, Hymenoptera) associated with *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller, 1775) (Lepidoptera, Tortricidae) in Italy. 2. Hymenoptera, Ichneumonidae, Anomaloniinae and Campopleginae, *ZooKeys*, Issue 772, 47-95. doi: 10.3897/zookeys.772.25288.
- Schmitt, A., Bisutti, I.L., Ladurner, E., Benuzzi, M., Sauphanor, B., Kienzle, J., Zingg, D., Undorf-Spahn, K., Fritsch, E., Huber, J., et al. (2013): The occurrence and distribution of resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus in Europe. *J. Appl. Entomol.*, doi:10.1111/jen.12046.
- Siegel, J.P., Lacey, L.A., Vossbrinck, C.R. (2001): Impact of a North American isolate of the microsporidium *Nosema carpocapsae* on a laboratory population of the codling moth, *Cydia pomonella*. *J. Invert. Pathol.* 78, 244-250.
- Sigsgaard, L., Herz, A., Korsgaard, M., Wührer, B. (2017): Mass release of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* can reduce damage by the apple codling moth *Cydia pomonella* in Organic Orchards. *Insects* 8(2), doi: 10.3390/insects8020041.
- Simon, S., Bouvier, J.C., Debras, J.F., Sauphanor, B. Biodiversity and pest management in orchard systems (2010): A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 139–152.
- Simon, S., Lesueur-Jannoyer, M., Plénet, D., Lauri, P.-É., Le Bellec, F. (2017): Methodology to design agroecological orchards: Learnings from on-station and on-farm experiences. *Eur. J. Agron.* 82, 320–330.
- Stephan, D. (2012): Artificial hideouts for control of fruit moths: persistence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Isaria fumosorosea* under semi-field condition. In: Ecofruit. 15th International Conference on Organic Fruit-Growing. Proceedings for the conference, Hohenheim, Germany, 20-22 February 2012 pp. 347-351
- Subinprasert, S. (1987): Natural enemies and their impact on overwintering codling moth populations (*Laspeyresia pomonella* L.) (Lep., Tortricidae) in South Sweden. *J. Appl. Entomol.* 103, 46-55.
- Suckling, D.M., Gibb, A.R., Burnip, G.M., Delury, N.C. (2002): Can parasitoid sex pheromones help in insect biocontrol? A case study of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) and its parasitoid *Ascogaster quadridentata* (Hymenoptera : Braconidae). *Environmental Entomology* 31, 947-952.
- Thünen Institut (2018): Entwicklungen des Obstbaus in Deutschland von 2005 bis 2017: Obstarten, Anbauregionen, Betriebsstrukturen und Handel. Thünen Working Paper 100, Braunschweig. 160 Seiten.

- Trautmann, M. (2008): Welchen Stellenwert hat die Pheromonverwirrung in der Apfelwicklerbekämpfung? Ergebnisse einer fünfjährigen Erhebung im Anbaugebiet Bodmann am westlichen Bodensee. *Obstbau* 33, 199-202.
- Tschudi-Rein, K., Brand, N., Kuhrt, U., Dorn, S. (2004): First record of *Hyssopus pallidus* (Askew, 1964) for Switzerland (Hymenoptera, Eulophidae). *Rev. Suisse Zool.* 111, 671-672.
- Weibel, F.D., Daniel, C., Tamm, L., Willer, H., Schwartau, H. (2013): Development of organic fruit in Europe. *Acta Horticulturae* 1001, 19-34.
- Zech, E., (1959): Beitrag zur Kenntnis einiger in Mitteldeutschland aufgetretener Parasiten des Apfelwicklers (*Carpocapsa pomonella* L.). *Z. ang. Ent.* 44, 203-220
- Zehnder, G., Gurr, G.M., Kühne, S., Wade, M.R., Wratten, S.D., Wyss, E. (2007): Arthropod pest management in organic crops. *Annual Review of Entomology* 52, 57-80.
- Zelger, R., U. Harzer, P. Epp, M. Trautmann, (2006): Untersuchungen zur Überwinterung des Apfelwicklers. *Obstbau* 31(5), 262-264.
- Zimmermann, G., J. Weiser (1991): Pathogens and Diseases, Chapter 3.2. In: Van der Geest, L.P.S., H.H. Evenhuis (Hrsg.): *Tortricid Pests, their Biology, Natural Enemies and Control*. *World Crop Pests* 5, Verlag Elsevier Amsterdam, 253-271.
- Zimmermann, G., Huger, A.M., Kleespies, R.G. (2013): Occurrence and Prevalence of Insect Pathogens in Populations of the Codling Moth, *Cydia pomonella* L.: A Long-Term diagnostic Survey. *Insects* 4, 425-446.

IX. Veröffentlichungen

Zeitschriftenartikel

- Ehrich, C. A., Pfitzner, H. A., Herz, A., Stephan, D., Kleespies, R. G. (2018): Kleine Helfer ganz groß – Nützlinge im Apfelanbau. *Obstbau* 43(11), 632-634.
- Pfitzner, H., Ehrich, Carina A., Herz, A., Kleespies, R.G., Stephan, D. (2018): Ökosystemdienstleister im Apfelanbau: Die Natur macht nichts umsonst. *Agrargewerbe intern* 3(4), 18-19.
- Ksentini, I., Herz, A. (2019): Studies on interactions between parasitoids: the case of the idiobiont *Trichogramma cacoeciae* and the koinobiont *Ascogaster quadridentata* on *Cydia pomonella* eggs. *Bulletin of Insectology* 72, 207-218.

Präsentationen & Poster

2015

- Pfitzner, H., Herz, A., Biganski, S., Kleespies, R., Ehrich, C. A., Stephan, D. (2015): Biologischer Pflanzenschutz als Ökosystemleistung im Apfelanbau- Das Projekt Demoapfel. 34. Tagung des Arbeitskreises "Nutzarthropoden und entomopathogene Nematoden" der DGaE/DPG, 01.12.15, Hannover.

2016

- Ehrich, C. A., Reuscher, J., Saar, K., Stephan, D. (2016) Biodiversität entomopathogener Pilze in verschiedenen Apfelanbausystemen und -regionen in Deutschland. In: JKI (Hrsg.): 60. Deutsche Pflanzenschutztagung: 20. - 23. September 2016, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Kurzfassungen der Beiträge (Julius-Kühn-Archiv 454), Quedlinburg, 370-371.
- Ehrich, C., Reuscher, J., Stephan, D. (2016) Natural occurrence of entomopathogenic fungi in apple orchards in Germany related to cropping system and region and evaluation of their efficacy for biocontrol of *Cydia pomonella*.: 49th annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology and International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control : 24-28th of July 2016, Vinci Centre International de Congrès, 69.
- Pfitzner, H., Herz, A. (2016): Biologischer Pflanzenschutz als Ökosystemleistung im Apfelanbau. 60. Deutsche Pflanzenschutztagung, 21.09.16, Halle.
- Herz, A., Furtwengler, J., Koch, T., Matray, S., Pfitzner, H. (2016): The myrmecophilous ladybird *Platynaspis luteorubra* Goeze - a promising option for Biological Control? *Ecology of Aphidophaga* 13, 29.8.-2.9.2016, Freising.
- Herz, A. (2016): Codling moth as a model organism for food web interactions in perennial crop systems. EFOR/ADALEP network meeting, 03.08.16, Paris/Frankreich.
- Herz, A., Jehle, J. A. (2016): Die Bedeutung der funktionellen Biodiversität im Apfelanbau. 89. Arbeitssitzung des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 29.02.16, Rendsburg.

2017

- Ehrich, C.: Präsentation im Rahmen eines zweiwöchigen Gastaufenthalts an der University of Copenhagen, Department of Plant and Environmental Sciences, Research group: Insect Pathology and Biological Control, 16.03.2017.
- Ehrich, C., Pfitzner, H. (2017): Ausstellung von Ergebnissen für den Ökolandbau: „Praxis trifft Forschung“, 1. Bundesweite Ökofeldtage, 21.06. und 22.06. in Frankenhausen.

- Ehrich, C. A., Stephan, D. (2017): Entomopathogenic fungi in apple orchards. 10th Young Scientists Meeting 2017, 8th – 10th November in Siebeldingen. Berichte aus dem Julius Kühn-Institut 192, 51.
- Paluch, M., Göttmann, J., Stephan, D. (2017) Comparison of different formulations of *Beauveria brongniartii* for control of white grubs of *Melolontha* in apple orchards.: 50th Annual Meeting and Golden Jubilee Conference of the Society for Invertebrate Pathology : Program and Abstract Book , University of California San Diego, La Jolla, California , 13-17 August, 2017, 81-82.
- Pfützner, H., Herz, A. (2017): Ökosystemdienstleistung im Apfelanbau: Vorkommen hymenopterer Parasitoide des Apfelwicklers (*Cydia pomonella*). Postervorstellung bei der 14. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Freising, vom 07.03. bis 10.03.2017.
- Pfützner, H., Herz, A. (2017): Hymenopterous parasitoids of codling moth: Performance of their ecosystem service in the matter of plant protection - an overview. 10th Young Scientists Meeting 2017, 8th – 10th November in Siebeldingen. Berichte aus dem Julius Kühn-Institut 192, 20.
- Herz, A., Furtwengler, J., Koch, T., Matray, S., Pfützner, H. (2017): Der myrmecophile Marienkäfer *Platynaspis luteorubra* Goeze - ein Kandidat für den biologischen Pflanzenschutz? Entomologentagung, 13.–16.03.2017, Freising.

2018:

- Ehrich, C.A., Spitzer, J., Popova, E., Stephan, D. (2018) Biodiversität entomopathogener Pilze im Apfelanbau. In: JKI (Hrsg.): 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft, 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim -Kurzfassungen der Vorträge und Poster- (Julius-Kühn-Archiv 461), Braunschweig, 222.
- Herz, A., Ehrich, C., Kleespies, R. G., Matray, S., Pfützner, H., Stephan, D. (2018): Bedeutung der funktionellen Biodiversität für den Pflanzenschutz im Apfelanbau. 91. Arbeitssitzung des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, Berlin, 05.-06. März 2018
- Paluch, M., Pelz, J., Göttmann, J., Stephan, D. (2018) Entwicklung und Vergleich von *Beauveria brongniartii* Formulierungen zur Kontrolle von Engerlingen im Obstbau. In: JKI (Hrsg.): 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft, 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim -Kurzfassungen der Vorträge und Poster- (Julius-Kühn-Archiv 461), Braunschweig, 201.
- Pfützner, H., Ehrich, C., Feiertag, S., Herz, A., Kleespies, R.G., Pelz, J., Stephan, D. (2018): Das Projekt Demoapfel – Präsentation am JKI-Stand auf der Biofach, Nürnberg, 14.02.-17.02.18
- Pfützner, H., Herz, A. (2018): Die Schlupfwespe *Liotryphon caudatus*: Eher ein Räuber als ein Parasitoid? Mitgliederversammlung des Internationalen entomologischen Vereins e.V. 7. April 2018, Julius Kühn-Institut, Darmstadt.
- Pfützner, H., Herz, A. (2018): Biodiversität Hymenopterer Parasitoide in deutschen Apfelanlagen. 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft, 11. - 14. September 2018, Universität Hohenheim. Julius-Kühn-Archiv 461, 443-444.
- Stephan, D., Paluch, M., Göttmann, J., Pelz, J. (2018): Entwicklung und Vergleich von *Beauveria brongniartii* Formulierungen. 27. Bundesarbeitstagung für Pflanzenschutzberater im Obstbau, 17.10.2018, Grünberg.
- Stephan, D., Ehrich, C., Pfützner, H., Kleespeis, R., Herz, A. (2018): Das Projekt "Demoapfel" Biologischer Pflanzenschutz als Ökosystemleistung im integrierten und ökologischen Kernobstanbau. 27. Bundesarbeitstagung für Pflanzenschutzberater im Obstbau, 17.10.2018, Grünberg.
- Wolf, S.L., Pfützner, H., Herz, A. (2018): Pflanzenschutzmittel: Freund oder Feind des Apfelwickler-Parasitoiden *Ascogaster quadridentata* (Hymenoptera, Braconidae). 61. Deutsche Pflanzenschutztagung: Herausforderung Pflanzenschutz - Wege in die Zukunft, 11. - 14.

September 2018, Universität Hohenheim. Julius-Kühn-Archiv 461, 455.

Stephan, D., Ehrich, C., Pfitzner, H., Kleespeis, R., Herz, A. (2018): Das Projekt "Demoapfel" Biologischer Pflanzenschutz als Ökosystemleistung im integrierten und ökologischen Kernobstanbau. FÖKO Arbeitsnetz Delegiertentagung, Würzburg, 13.12.2018, Würzburg.

2019

Ehrich, C., Spitzer, J., Popova, E., Stephan, D. (2019): Das Projekt Demoapfel – Vorkommen und Eigenschaften entomopathogener Pilze in Apfelanlagen. 37. Tagung des Arbeitskreises „Nutzarthropoden und Entomopathogene Nematoden, 27.11.2019, Karlsruhe.

Ehrich, C., Spitzer, J., Popova, E., Stephan, D. (2019): Das Projekt Demoapfel – Vorkommen und Eigenschaften entomopathogener Pilze in Apfelanlagen. 22. Jahrestagung des DPG Arbeitskreises Biologischer Pflanzenschutz, 22.03.2019, Bielefeld.

Ehrich, C., Spitzer, J., Popova, E., Stephan, D. (2019): Natural occurrence of entomopathogenic fungi in apple orchards in Germany. III International Symposium on Fungal Strass. 20.05.2019, San Jose dos Campos, Brasilien.

Herz, A.: Optionen für eine Biodiversitätsförderung im Obstbau. Obstbautag Mecklenburg-Vorpommern, 19.02.19, Güstrow.

Herz, A., Pfitzner, H. (2019): Wie beeinflussen Region und Bewirtschaftungsweise die Biodiversität der hymenopteren Parasitoide im Kernobstanbau? Entomologentagung, 13.03.2019, Halle/Saale.

Herz, A., Pfitzner, H. (2019): Is biodiversity of parasitoid Hymenoptera affected by production management in German apple orchards? 6th International Entomophagous Insects Conference: Perugia, Italy, 9-13 September 2019, Abstract book, 77.

Stephan, D., Paluch, M., Göttmann, J., Pelz, J. (2019): Entwicklung und Vergleich von *Beauveria brongniartii* Formulierungen zur Bekämpfung von Engerlingen. 22. Jahrestagung des DPG Arbeitskreises Biologischer Pflanzenschutz, 22.03.2019, Bielefeld.

2020

Herz, A., Pfitzner, H. (2020): Is biodiversity of parasitoid Hymenoptera affected by production management in German apple orchards? Proceedings of the 19th International Conference on Organic Fruit-Growing, 17.02.-19.02.20, Universität Hohenheim. Foerdergemeinschaft Oekologischer Obstbau e.V. (FOEKO), Weinsberg, 229-230.

ANHANG

01: Publikation „Obstbau“

02: Publikation „Agrargewerbe intern“

03: Merkblatt

Bildquellen:

Die abgebildeten Fotografien sind von Mitarbeiter*innen des JKI Darmstadt erstellt worden:
Carina Ehrich, Simon Feiertag, Annette Herz, Helen Pfitzner, Dietrich Stephan