



**Erarbeitung erster Ansätze für die Bekämpfung
der Kirschfruchtfliege im ökologischen Landbau
unter besonderer Berücksichtigung des Potentials
entomopathogener Nematoden**

Herausgeberin:

Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau
in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)
53168 Bonn

Tel.: +49 228 6845-280 (Zentrale)

Fax: +49 228 6845-787

E-Mail: geschaeftsstelle-oekolandbau@ble.de

Internet: www.bundesprogramm-oekolandbau.de

Finanziert vom Bundesministerium für
Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau

Auftragnehmer:

Institut für Pflanzenschutz im Obstbau der
Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
e-nema GmbH, Raisdorf

Dieses Dokument ist über <http://forschung.oekolandbau.de> verfügbar.



Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz im Obstbau
Schwabenheimer Str. 101
69221 Dossenheim

Forschungsprojekt Nr.: 02OE110

Thema:

Erarbeitung erster Ansätze für die Bekämpfung der Kirschfruchtfliege im ökologischen Landbau unter besonderer Berücksichtigung des Potentials entomopathogener Nematoden

Laufzeit: 03. Juni 2002 bis 31. Dezember 2003

Berichtszeitraum: 03. Juni 2002 bis 31. Dezember 2003

Projektleitung: **Dr. Heidrun Vogt**

Projektbearbeitung: **Dr. Kirsten Köppler**

Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

Dr. A. Peters: e-nema GmbH, Klausdorfer Str. 28-36, 24223 Raisdorf

Dr. R.-U. Ehlers: Institut für Phytopathologie Christian-Albrechts-Universität Kiel, Fakultät Biotechnologie und Biologische Kontrolle, Klausdorfer Str. 28-36, 24223 Raisdorf

Dr. K.-H. Geipel: Bayerische Landesanstalt für Wein- und Gartenbau, Landesanstalt Veitshöchheim, An der Steige 15, 97209 Veitshöchheim

Dr. H. Bathon, Dr. R. Kleespies: BBA, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstr. 243, 64287 Darmstadt

Dr. E. Boller: Eidgenössische Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, 8820 Wädenswil, Schweiz

Dr. Hummel: Trifolio-M GmbH, Sonnenstr. 22, 35633 Lahnau

Pflanzenschutzdienste der Länder Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz, Bayern, Hessen, Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Brandenburg

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes, Darstellung des mit der Fragestellung verbundenen Entscheidungshilfe-/ Beratungsbedarfs im BMVEL

Das Hauptanliegen des Projektes war die Erarbeitung grundlegender Kenntnisse zur Regulierung der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* mit entomopathogenen Nematoden. Insbesondere sollte das Infektionspotential verschiedener Nematodenarten und -stämme der Gattungen *Steinernema* und *Heterorhabditis* im Labor, Halbfreiland und Freiland ermittelt werden. Um neben den Standardstämmen, die bereits in Produktion sind, weitere effektive Stämme zu finden, wurden Nematodenisolate aus Bodenproben von Befallsgebieten sowie türkische Isolate beider Gattungen aus der Stammsammlung der Firma e-nema GmbH in ein Laborscreening einbezogen. Im Rahmen des Projektes erfolgte weiterhin eine detaillierte Analyse des derzeitigen Kenntnisstandes im Bereich der biologischen und biotechnischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege, auch unter Berücksichtigung der Bekämpfungssituation im konventionellen Anbau. Das diente der Ermittlung und Festlegung des weiteren Forschungsbedarfs. Die Erfassung der aktuellen Literatur zur Thematik bildete dazu eine Projekt-begleitende Arbeitsgrundlage. Einen weiteren Bestandteil des Projektes bildete die Beurteilung des Einflusses des pflanzlichen Insektizids Neem auf die Eiablagetätigkeit und Lebensdauer der Kirschfruchtfliege nach oraler Aufnahme.

Zur Darstellung des mit der Fragestellung verbundenen Entscheidungshilfe- und Beratungsbedarfs sind nachfolgende Punkte wichtig.

Die Kirschfruchtfliege ist der Hauptschädling an Süßkirschen. Die Schadensschwelle liegt mit 1 bis 2 % sehr niedrig, wobei bereits diese Vermadung vom Handel in der Regel nicht akzeptiert wird. Süßkirschen gelten als Tafelobst, an das sehr hohe Qualitätsansprüche gestellt werden. Somit ist eine ausreichende Bekämpfung von *Rhagoletis cerasi* zwingend notwendig. Im ökologischen Kirschanbau existieren derzeit keine wirksamen Bekämpfungsstrategien. Mit den handelsüblichen Gelbtafeln ist keine Bekämpfung möglich. Sie können lediglich zum Monitoring verwendet werden. Im konventionellen Anbau ist gegenwärtig nur ein Wirkstoff (Dimethoat) mit zwei Präparaten (Adimethoat 40 EC und Danadim Dimethoat 40) zugelassen. Die Anwendung der Dimethoat - Präparate wird durch eine Wartezeit von 21 Tagen erschwert und deren Zulassung endet am 31. Dezember 2004. Dimethoat gilt als gefährlich für die Umwelt und die Gesundheit (Xn).

Nach diesen Ausführungen wird deutlich, dass es sich bei der Bekämpfung der Kirschfruchtfliege im Süßkirschenanbau um eine Lückenindikation handelt. Seit mehreren Jahren werden im Unterarbeitskreis „Lückenindikation Obstbau“ bundesweit Versuche durchgeführt, um mindestens noch ein weiteres Insektizid zur Bekämpfung der Kirschfruchtfliege zur Verfügung zu stellen. Hierdurch können jedoch nur kurzfristige Lösungen erreicht werden. Für die langfristige Schließung der Bekämpfungslücke und somit der Gewährleistung des Angebots von Tafelkirschen aus deutschem Anbau ist eine alternative, umwelt- und naturhaushaltschonende Bekämpfungslösung unabdingbar.

1.1 Planung und Ablauf des Projektes

Die Planung und Ausführung des Projektes erfolgte nach der Vorhabenbeschreibung sowie nach dem derzeitigen Kenntnisstand. Auf aktuelle Gegebenheiten (Zeit der Kirschernte, Verfügbarkeit der befallenen Kirschen) konnte infolge guter Vorbereitung sehr schnell reagiert werden, so dass eine optimale Ausnutzung des saisonal nur begrenzt zur Verfügung stehenden Versuchsmaterials in beiden Untersuchungsjahren gegeben war. Geringfügige methodische Veränderungen hinsichtlich der Gewinnung der *R. cerasi*-Larven gewährleisteten im Vergleich zur angegebenen Methode eine bessere Verfügbarkeit der Larven. Versuche mit adulten Fliegen im Winter erfolgten nach eingehender Literaturstudie sowie Konsultation von Fachleuten, da die Haltung und Vermehrung von Kirschfruchtfliegen im Labor schwierig ist.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* L. ist der bedeutendste Schädling im Süßkirschenanbau, der regelmäßig zu enormen wirtschaftlichen Verlusten bis zum Totalausfall der Ernte führt (eigene Befallserhebungen auf ökologisch bewirtschafteten Flächen 2003, mündl. Aussage verschiedener Kirschanbauer). Für deren erfolgreiche Bekämpfung fehlen im ökologischen Landbau derzeit ausreichende Verfahren. Es stehen lediglich visuelle Fallen (Gelbtafeln) zur Verfügung, mit denen keine zufriedenstellende Wirkungsgrade erzielt werden können (EPP 1998, FAURIEL & REYNAUD 1998, REMUND 1971, REMUND & BOLLER 1975, RUSS et al. 1973). Untersuchungen zum Markierungspheromon der Kirschfruchtfliege in der Schweiz konnten nicht bis zu einem anwendbaren Verfahren geführt werden (vgl. ALUJA & BOLLER 1992 a, FIMIANI 1982, mdl. Aussage BOLLER 2003). Desweiteren ist eine Abnahme der Wirkung des Markierungspheromons nach einigen Tagen zu beobachten (FIMIANI 1982, HOFFMEISTER & BOLLER 2003). Es besteht daher dringender Forschungsbedarf zur Entwicklung nützlings- und naturhaushaltschonender Bekämpfungsverfahren. Eine Möglichkeit zur biologischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege könnte der Einsatz entomopathogener Nematoden sein. Entomopathogene Nematoden der Gattungen *Steinernema* und *Heterorhabditis* verfügen über Eigenschaften, durch die sie zu sehr guten Kontrollorganismen von im Boden lebenden Schadinsekten werden können (GAUGLER 1988) und stellen bereits einen bedeutenden Aspekt in der biologischen Schädlingsbekämpfung dar (BARTH 2002, KLEIN 1990). Sie werden beispielweise gegen Trauermücken- (Sciaridae) und Haarmückenlarven (Bibionidae), Dickmaulrüssler (*Otiorhynchus sulcatus*), Wurzelbohrer (*Hepialus lupulinus*), Gartenlaubkäfer (*Phyllopertha horticola*), Maulwurfsgrielen (*Gryllotalpa gryllotalpa*) sowie Erdräupen (*Agrotis* spp.) erfolgreich eingesetzt (z.B. BACKHAUS 1994, EHLERS & PETERS 1998, GOUGE & HAGUE 1995, NEUBAUER 1997, SIMSER & ROBERTS 1994, SMITS 1992, SMITS et al. 1994, WILSON et al. 1999, www.e-nema.de). Erfolgversprechende Untersuchungen über die Wirksamkeit der Nematoden gegen andere Fruchtfliegen (Tephritidae), z.B. *Rhagoletis indifferens* (PATTERSON STARK & LACEY 1999, YEE & LACEY 2003), *Ceratitis*

capitata (GAZIT et al. 2000, LABORDA et al. 2003, LINDEGREN 1990, LINDEGREN et al. 1990, POINAR & HISLOP 1981), *Dacus cucurbitae*, *D. dorsalis* (LINDEGREN 1990) und *Anastrepha suspensa* (BEAVERS & CALKINS 1984) liegen vor.

Für die Handhabung der Nematoden zur Durchführung der Versuche konnte auf Erfahrungen der Firma e-nema GmbH sowie des Instituts für Phytopathologie der Christian-Albrechts-Universität Kiel in Raisdorf zurückgegriffen werden, wofür eine mehrtägige Methodeneinführung im Juni 2002 erfolgte. Die notwendige Versuchsausstattung stand an der Biologischen Bundesanstalt im Institut für Pflanzenschutz im Obstbau zur Verfügung.

2 Material und Methoden

2.1 Teilprojekt a: Ermittlung des aktuellen Kenntnisstandes

In diesem Projekt-begleitenden Abschnitt wurde kontinuierlich Literatur recherchiert sowie nach den verschiedenen Themengebieten zusammengestellt.

2.2 Teilprojekt b: Untersuchungen zur biologischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege mit entomopathogenen Nematoden und dem pflanzlichen Insektizid Neem

2.2.1 Bodenprobennahme, Isolierung und Vermehrung von Nematoden aus Befallsgebieten

Entnahme der Bodenproben

Die Bodenprobennahme wurde an verschiedenen Standorten und in verschiedenen Regionen Deutschlands durchgeführt. Es halfen dabei Mitarbeiter von Pflanzenschutzdiensten, Kirschanbauer sowie Kleingartenbesitzer. Die Entnahme der Bodenproben erfolgte nach folgender Anleitung:

- Entnahme von Proben von ggf. verschiedenen Standorten und 2 Proben pro Baum,
- Entnahme von ca. einem Liter Boden unter dem Kronenbereich der befallenen Kirschbäume,
- Grabtiefe bei feuchtem Boden ca. 5 cm, bei trockenem Boden ca. 10 cm,
- Verpackung des Bodens in beschrifteten Plastiktüten (Name, Standort),
- Lagerung der Proben im Kühlschrank, wenn sie nicht sofort verschickt werden konnten,
- Verschicken innerhalb eines Tages.

In den Jahren 2002 und 2003 wurden durch die Firma e-nema GmbH insgesamt 103 Bodenproben aus 8 Bundesländern (Baden-Württemberg, Hessen, Rheinland-Pfalz, Niedersachsen, Bayern, Brandenburg, Thüringen, Sachsen-Anhalt) auf entomopathogene Nematoden hin untersucht.

Isolierung und Vermehrung von Nematoden

(Übernahme und Zusammenfassung der Angaben aus dem Tätigkeitsberichten 2002 und 2003 der Firma e-nema GmbH)

Die Isolierung und Vermehrung der entomopathogenen Nematoden aus den Befallsgebieten erfolgte bei der Firma e-nema GmbH. Dort wurden die Proben für maximal 2 Tage kühl gelagert (7°C) und anschließend je 1000 ml in Plastikschaalen gefüllt und mit je 10 Larven der Wachsmotte (*Galleria mellonella*) versetzt. Die Larven wurden, um das Wiederfinden zu erleichtern, 2002 in Plastiknetze als Käfige eingesperrt. Aufgrund der geringen Ausbeute der Bodenproben 2002 erfolgte die Zugabe der Wachsmottenlarven 2003 nicht in Käfigen, sondern frei in die Bodenproben. Nach 7 Tagen bei 20 bis 22°C wurden die Larven entnommen. Die toten Larven wurden auf offensichtlichen Pilzbefall (eingetrocknete Kadaver und eventuell austretendes Mycelium) untersucht. Solche Larven wurden verworfen. Larven, die bereits bei der Entnahme aus dem Netzkäfigen zerfielen, wurden ebenfalls nicht weiter beobachtet, da Nematoden sich nur in intakten Kadavern vermehren können. Die übrigen toten Larven wurden auf ein Podest mit Filterpapier gelegt. Das Podest stand in einer mit Wasser gefüllten Petrischale, so dass das überhängende Filterpapier in das ca 1 mm tiefe Wasser hing. Je eine Larve wurde auf solch eine Nematodenfalle gelegt und die Nematoden, welche nach weiteren 3 Wochen aus den Kadavern auswanderten, mikroskopisch untersucht. Nur wenn es sich um *Steinernema* oder *Heterorhabditis*-Arten handelte, wurden diese von eventuell begleitend auftretenden Dauerlarven anderer Rhabditiden getrennt und erneut an *G. mellonella* vermehrt. Die gefundenen entomopathogenen Nematoden wurden morphologisch auf ihre Artzugehörigkeit untersucht. Ferner erfolgte die Ermittlung der RFLP-Muster von PCR-vermehrter DNA der ITS-Region der ribosomalen DNA und der Vergleich mit den Mustern anderer Arten (Reid *et al.* 1997).

2.2.2 Untersuchungen zur Wirksamkeit entomopathogener Nematoden gegen die Kirschfruchtfliege

Laborversuche

Ermittlung der Infektiosität der entomopathogenen Nematoden gegenüber *R. cerasi*-Larven

2002 und 2003 wurden Versuche mit entomopathogenen Nematoden im Labor in unterschiedlichen Expositionsszenarien mit den Nematodenarten und -stämmen

Steinernema bicornutum, *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China, *S. feltiae* und *Heterorhabditis bacteriophora* durchgeführt. 2003 kamen zusätzlich 8 verschiedene Nematodenisolate aus Bodenproben von Befallsgebieten sowie 3 türkische Stämme beider Gattungen für Laborversuche hinzu. Dabei wurden die Arten *S. affine* und *H. megidis* aus den Bodenproben erstmalig getestet. Für alle Laborversuche wurde in den Medien eine Feuchtigkeit von ca. 10 % eingestellt. Die Kontrolle bestand jeweils aus Ansätzen ohne Nematodenzugabe. Die Ansätze wurden bei 20°C (Kulturplatten auch bei 24°C) mindestens 5 Tage inkubiert. Die Temperatur von 20°C galt als Standardtemperatur. 24°C stellte die durchschnittliche Bodentemperatur in 5 cm Tiefe vom Versuchsfeld des Instituts in den Vormittags- und Nachmittagsstunden während der Zeitspanne 1999, 2000 und 2001 dar, in der die Kirschfruchtfliegenlarven in den Boden einwandern.

2002

2002 wurde zunächst die Wirksamkeit der Nematoden (*S. bicornutum*, *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China, *S. feltiae*, *H. bacteriophora*) in verschiedenen hohen Dosierungen (50, 100, 150 Nematoden/*R. cerasi*-Larve; = 25, 50, 75 Nematoden/cm²) in mit Quarzsand gefüllten 24er Kulturplatten (Cell Wells™) getestet. Ein zweiter Laboransatz wurde in Petrischalen (Durchmesser 9 cm) in verschiedenen Medien (Quarzsand, Erde vom Versuchsfeld des Instituts) mit 5 *R. cerasi*-Larven und 50 Nematoden/cm² bei 20°C durchgeführt. Die Dosierung von 50 Nematoden/cm² ergab sich aus der praxisrelevanten Aufwandmenge an Nematoden gegen andere Schadinsekten (vgl. Produkte der Firma enema GmbH). Die Anzahl der Wiederholungen lag je nach Verfügbarkeit der Kirschfruchtfliegenlarven und Nematoden bei den Kulturplattenversuchen zwischen 1 und 4 sowie bei den Petrischalenversuchen bei 10.

2003

2003 kamen die Nematoden (außer *S. bicornutum*) neben Sand in 4 verschiedenen gelagerten Bodentypen (leichte, mittlere, schwere LUFA-Standardböden: 2.2, 3A, 5M, 6S) in Plastikdosen (Abmessungen: Höhe ca. 6 cm, Seitenkanten am Grund ca. 9,5 cm, Seitenkanten am oberen Rand ca. 10,3 cm) jeweils gegen 5 *R. cerasi*-Larven pro Dose zur Anwendung. Um möglichen wirtschaftlichen Aspekten Rechnung zu tragen, wurden neben der Standarddosierung von 50 Nematoden/cm² niedrigere Dosierungen von 10 und 25 Nematoden/cm² verwendet. Die Anzahl der Wiederholungen lag pro Dosierung bei 5.

Die Bodenproben- und türkischen Nematodenisolate sowie *S. bicornutum* wurden nur in einem mittleren Boden (3A) ebenfalls in Plastikdosen geprüft. In Abhängigkeit von der Menge der zur Verfügung stehenden Nematoden wurden die Versuche zunächst mit der Standarddosierung von 50 Nematoden/cm² durchgeführt. Die Anzahl der Wiederholungen richtete sich nach der verfügbaren Nematodenmenge und variierte zwischen 1 und 5.

Zur Absicherung der Vergleichbarkeit der Laborversuche 2002 und 2003 wurden 2003 nochmals Petrischalentests mit Sand, 5 *R. cerasi*-Larven und 50 Nematoden/cm² mit 5 Wiederholungen durchgeführt.

Vergleich des Befalls isolierter und ausgewanderter R. cerasi-Larven

Um abschätzen zu können, ob die manuelle Isolierung der Larven aus den Kirschen die Ergebnisse beeinflusst, wurde ein Versuch in Petrischalen mit Sand und der Nematodenart *S. feltiae* bei 20°C angesetzt. Dabei kamen jeweils 5 isolierte bzw. aus den Kirschen ausgewanderte *R. cerasi*-Larven pro Petrischale zum Einsatz. Die Anzahl der Wiederholungen betrug 6.

Persistenz entomopathogener Nematoden

Ein wichtiger Punkt zur Einschätzung der Wirksamkeit der Nematoden gegen die Kirschfruchtfliege ist deren Persistenz im Boden. Um dazu erste Versuche im Labor durchzuführen, wurden 30 Plastikdosen mit dem Bodentyp 3A und *S. feltiae* angesetzt. Die Zugabe von jeweils 5 *R. cerasi*-Larven erfolgte am 1., 3., 6., 8., 10. und 13. Tag.

Ermittlung der Infektiösität der entomopathogenen Nematoden gegenüber *R. cerasi*-Puppen

2002 wurde die Wirksamkeit der Nematoden (*S. bicornutum*, *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China, *S. feltiae*, *H. bacteriophora*) wie bei den Larven in verschiedenen hohen Dosierungen (50, 100, 150 Nematoden/*R. cerasi*-Puppe) in mit Quarzsand gefüllten 24er Kulturplatten (Cell Wells™) getestet.

Ermittlung der Infektiösität der entomopathogenen Nematoden gegenüber adulten *R. cerasi*

Versuche zur Ermittlung der Infektiösität entomopathogener Nematoden (*S. carpocapsae*, *S. feltiae*) gegenüber adulten Kirschfruchtfliegen fanden in Plastikbechern (Abmessungen: Höhe ca. 15,5 cm, Durchmesser am Grund ca. 6,3 cm, Durchmesser am oberen Rand ca. 9 cm) mit Quarzsand (Füllhöhe ca. 5 cm) statt. Es wurden je 7 Wiederholungen mit jeweils 2 (1x3) *R. cerasi*-Puppen, die mindestens 5 Monate bei einer Temperatur von 3°C bis 4°C gelagert und danach 16 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, angesetzt. Die Becher wurden im Klimaschrank bei 25°C +/- 1°C 18 Tage inkubiert und die toten Fliegen bzw. die verbliebenen Puppen auf Befall kontrolliert. Die lebenden Fliegen wurden nachfolgend in Eiablagekäfige gegeben. Das Futter für die adulten Fliegen bestand aus Bierhefe und Rohrzucker (Gewichtsanteile 1:4), was mittels Wasser zunächst zu einem Brei verrührt, auf Filterpapierstreifen gegeben und getrocknet wurde. Jeder Käfig war mit einem Wasserreservoir versehen.

Beobachtungen zum Eindringen der Nematoden in die Wirtstiere

Um Informationen über das Penetrationsverhalten der Nematoden zu gewinnen, wurden während der mikroskopischen Befallsauswertung der *R. cerasi*-Larven und -Puppen Beobachtungen angestellt. Es handelte sich dabei um das Verhalten beim Auswandern aus dem Wirt und nicht um das beim Eindringen.

Trotz Befalls mit Nematoden verpuppte sich ein Großteil der *R. cerasi*-Larven während oder nach der Infektion. Um zu klären, ob die L3-Stadien der Nematoden nach der Verpuppung der *R. cerasi*-Larven ein weiteres Infektionspotential für andere Wirte darstellen können, wurden 2002 Auswanderungsversuche durchgeführt. Dazu wurden 10 *R. cerasi*-Larven pro Nematodenart bzw. -stamm (außer *S. bicornutum*) in Kulturplatten mit Nematoden (Dosis >150) versetzt. Nach 5 Tagen Inkubation wurden die inzwischen verpuppten *R. cerasi* auf feuchtes Filterpapier in Petrischalen gelegt. Unter Feuchthaltung des Filterpapiers mit Ringerlösung konnten nach 2 bis 3 Wochen möglicherweise ausgewanderte Nematoden im L3-Stadium in der Ringerlösung nachgewiesen werden. (vgl. Abschn. Isolierung und Vermehrung von Nematoden)

Vergleichsuntersuchungen zur Infektiösität entomopathogener Nematoden gegenüber der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata*

Aufgrund der obligatorischen Diapause der Kirschfruchtfliege von mindestens 4 bis 5 Monaten sowie den Schwierigkeiten, eine Laborzucht zu etablieren, sind Versuche außerhalb der Kirschzeit begrenzt. Deshalb stellt sich die Frage, ob die polyvoltine und gut zu vermehrende Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata* als Modellorganismus für *R. cerasi* im Labor für ausgewählte Fragestellungen verwendet werden kann. Erste Versuche mit Larven von *C. capitata* und verschiedenen Nematodenarten und -stämmen wurden durchgeführt. Dabei kamen die Nematodenarten *S. carpocapsae*, *S. feltiae* sowie *H. bacteriophora* in Plastikdosen (s.o.) mit Sand, einem leichten (2.2) sowie einem mittleren (3A) LUFA-Standardboden zum Einsatz. Die Dosen wurden 4 Tage bei 20°C inkubiert und nachfolgend aufgrund des schnellen Schlupfes der adulten Fliegen bei 4°C gelagert.

Halbfreilandversuche

Um den Bedingungen im Freiland mehr zu entsprechen, wurden 2002 und 2003 Halbfreilandversuche mit *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China und *S. feltiae* durchgeführt. Sie bestanden aus der Bestückung von 5 Plastikobstkisten (29 x 39 x 10 cm) pro Nematodenart bzw. -stamm mit einer ca. 10 cm dicken Erdscholle mit Grasnarbe vom Versuchsfeld des Instituts. Pro Kiste wurden in 10 Löcher von je 3 bis 5 cm Tiefe jeweils eine Kirschfruchtfliegenlarve in einem kleinen Gaze Käfig gelegt. Die Käfige dienten dem besseren Wiederfinden der Larven bzw. Puppen. Die Gesamtfläche der Erdscholle wurde nach dem Verschließen der Löcher mit Erde jeweils mit Nematoden in

Wasser und nachfolgend zum Einspülen der Nematoden in den Boden ausschließlich mit Wasser begossen, so dass sich durchschnittlich eine Dichte von 50 Nematoden/cm² ergab. Die Behandlung der Kontrollkisten fand nur mit der entsprechenden Wassermenge statt. Die Kisten verblieben unter Feuchthaltung 2002 über 4 Wochen und 2003 über 2 Wochen in einer überdachten, seitlich offenen Vegetationshalle.

Die Ermittlung der Infektionsrate der behandelten Kirschfruchtfliegen erfolgte in den Labor- und Halbfreilandversuchen durch deren Präparation und der Erfassung von Nematoden, Befallssymptomen, anderer Todesursachen sowie gesunder Tiere unter dem Binokular.

Freilandversuche

Die Freilandversuche im Juli 2002 bestanden aus der Entlassung von je 30 *R. cerasi*-Larven auf 5 Teilflächen von je ¼ m² innerhalb einer Gesamtfläche von 20 m² auf der Kirschanlage des Instituts, die mit 50 Nematoden/cm² in Wasser (*S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *H. bacteriophora*) behandelt wurde. Im Juli 2003 konnten jeweils 50 *R. cerasi*-Larven auf 10 Teilflächen pro Nematodenart und Kontrolle ausgebracht werden. Die Auswertung der Freilandversuche war bzw. ist jeweils im Folgejahr vorgesehen, indem die aus dem Boden schlüpfenden adulten *R. cerasi* mittels Boden-Fotoelektronen erfasst werden. Sie erfolgte für den 2002 angesetzten Freilandversuch im Mai/Juni 2003 und ist für den 2003 angesetzten Versuch im gleichen Zeitraum 2004 geplant.

Für die Auswertung der Labor- und Halbfreilandexperimente wurden jeweils die Befallsraten ermittelt sowie die Wirkungsgrade nach ABBOTT berechnet. Da im Freilandversuch ausschließlich lebende Tiere erfasst wurden, konnte nur der Wirkungsgrad nach ABBOTT herangezogen werden.

2.2.3 Biologie der Kirschfruchtfliege

Beobachtungen zur Verpuppung der Kirschfruchtfliegenlarven

Zur Ermittlung der Einwanderungstiefe wurde 2002 mit Glasplatten und Holzleisten ein 2,8 cm tiefer, 45 cm hoher und 51 cm breiter Behälter gefertigt und mit Erde gefüllt. Die Erde wurde mit Hilfe von Wasser verdichtet. Auf der Breite von 51 cm wurden 10 *R. cerasi*-Larven gleichmäßig verteilt und die Einsetzstellen mit Stecknadeln markiert. Nach mindestens einem Tag konnte die Einwanderungstiefe der Larven durch das Freilegen der Puppen festgestellt werden.

Der Einwanderungsradius der *R. cerasi*-Larven wurde in Standardweinweckgläsern ermittelt. Dazu wurden die Gläser mit Erde gefüllt und Larven mittig entlassen. Die Markierung der Einsetzstellen erfolgte wiederum mit Stecknadeln. Die Auswertung bestand aus dem Freilegen der Puppen und der Ausmessung der Entfernung (Radius, Tiefe) von der jeweiligen Einsetzstelle.

2.2.4 Versuche zur Wirksamkeit eines Neempräparates NeemAzal-T/S

Für Versuche mit adulten Kirschfruchtfliegen standen ca. 300 Puppen zur Verfügung. Den größten Teil der Puppen überließ uns freundlicherweise Dr. K.-H. Geipel von der Bayerischen Landesanstalt für Wein- und Gartenbau in Veitshöchheim. Sie stammten aus den Jahren 2000 und 2001.

Einfluss von NeemAzal-T/S auf die Lebensdauer und Reproduktion adulter *R. cerasi*

Die Ermittlung des Einflusses von NeemAzal-T/S auf die Lebensdauer und Reproduktion adulter *R. cerasi* erfolgte in zwei Teilversuchen. Für beide Versuche wurden Puppen aus der Kühlkammer ins Gewächshaus (Photoperiode hell 16 Stunden : dunkel 8 Stunden mit Temperaturen von $26 \pm 1^\circ\text{C}$ in der Hellphase bzw. $18 \pm 1^\circ\text{C}$ in der Dunkelphase, relative Luftfeuchte 55 - 100 %, Lichtintensität ca. 8 klux) überführt.

Im ersten Teilversuch waren es 101 Puppen, die im Zeitraum vom 30. Dezember 2002 bis 6. Januar 2003 zu ca. 70 % schlüpften. Die Tiere wurden paarweise in vorbereitete Käfige gesetzt. Die Verabreichung des NeemAzal-T/S erfolgte in verschiedenen Konzentrationen über das Futter (Futterzubereitung s.o. unter „Infektiösität entomopathogener Nematoden gegenüber adulten *R. cerasi*“; bezogen auf dessen Trockengewicht aus Bierhefe und Rohrzucker: 1 % NeemAzal-T/S mit 5 Wiederholungen, 0,55 % NeemAzal-T/S mit 6 Wiederholungen, 0,1 % NeemAzal-T/S mit 6 Wiederholungen, 0,01 % NeemAzal-T/S mit 6 Wiederholungen, Futter ohne NeemAzal-T/S zur Kontrolle mit 5 Wiederholungen). Die Zugabe von Trauben zur Eiablage erfolgte nach 1 bis 4 Tagen nach dem Schlupf der weiblichen Fliegen. Zu Beginn des Versuches wurden die Trauben täglich, später 3 mal bzw. 2 mal pro Woche gewechselt und auf die Anzahl der Eier kontrolliert. Der Versuch dauerte insgesamt 56 Tage.

Im zweiten Teilversuch lag der Schlupfzeitraum der Fliegen (Ausgangsmaterial 107 Puppen) zwischen dem 8. und 16. April 2003. Die Tiere wurden wiederum paarweise in vorbereitete Käfige gegeben. Die Versuchsvarianten bestanden mit jeweils 5 Wiederholungen aus der Verabreichung von 2 % und 1 % NeemAzal-T/S im Trockenfutter über die gesamte Versuchsdauer von 55 Tagen sowie der Gabe von 1 % NeemAzal-T/S im Futter 2 Tage ab Schlupf, ab der Eiablage sowie bis zur Eiablage. Zur Eiablage kamen Wachsdome (mit schwarzer Kerzenfarbe eingefärbtes Ceresin, Durchmesser ca. 1 cm) zum Einsatz. Die Eiabnahme erfolgte alle zwei Tage (vgl. Zuchtmethoden in BOLLER 1966a, 1968, BOLLER 1984, BOLLER 1989, HAISCH 1975, KATSOYANNOS et al. 1977, KATSOYANNOS et al. 1987, PROKOPY & BOLLER 1970).

Untersuchungen zur oviziden Wirkung von NeemAzal-T/S bei Eiablage in behandelte Früchte

Zu dieser Fragestellung konnten keine Untersuchungen durchgeführt werden, da keine Fliegen zur Verfügung standen.

3 Ergebnisse

3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

Die Bearbeitung des Projektes erfolgte plangemäß. Erweiterungen ergaben sich bei den Versuchen mit Nematoden: Halbfreilandversuche, Persistenzversuch, Einfluss verschiedener Bodentypen und Temperaturen, Parallelversuche mit der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata*, um sie ggf. als Modellorganismus einsetzen zu können. Ein Freilandversuch mit NeemAzal-T/S konnte mangels adulter *R. cerasi* nicht durchgeführt werden.

3.1.1 Teilprojekt a: Ermittlung des aktuellen Kenntnisstandes

Im folgenden werden die wichtigsten Erkenntnisse aus dem Literaturstudium zur Biologie der Kirschfruchtfliege, insbesondere Orientierungs- und Dispersionsverhalten, zum Falleneinsatz, zu selektiven Regulierungsverfahren, wie Pheromoneinsatz und Attract & Kill-Techniken und zur möglichen Anwendung von Insektiziden natürlichen Ursprungs dargestellt. Weitere Punkte beziehen sich auf die Zucht von *R. cerasi*, natürliche Gegenspieler und physikalische Abwehrmaßnahmen.

Zuchtverfahren für die Kirschfruchtfliege

Fruchtfliegen der Gattung *Rhagoletis* ernähren sich mono- oder oligophag. Für eine kontinuierliche Laborzucht der Kirschfruchtfliege ist es erforderlich, anstatt des natürlichen Eiablage- und Nährmediums, der Kirsche, Alternativen zu verwenden. Erschwerend hierbei ist, dass selbst die Eiablage auf die Kirsche nur in einem bestimmten Reifestadium, nämlich zum Zeitpunkt des Umfärbens von grün-gelb auf rot, erfolgt. Bemühungen, die Kirschfruchtfliege auf alternativen Medien zu züchten, gehen v.a. auf die 70er und 80er Jahre zurück. Ziel war damals, mit Hilfe von Massenzuchten die Bekämpfung der Kirschfruchtfliege mittels der Freilassung steriler Männchen zu ermöglichen. Zuchtmethoden und Erfahrungen damit sind in den Publikationen von BOLLER (1966a, 1968), BOLLER (1984), BOLLER (1989), HAISCH (1975), KATSOYANNOS et al. (1977), KATSOYANNOS et al. (1987) sowie PROKOPY & BOLLER (1970) beschrieben. Die Zuchtmethoden sind sehr aufwendig. Die besten Erfolge wurden mit künstlichen Eiablagedomen aus Wachs erzielt, die von den Kirschfruchtfliegen zur Eiablage angenommen werden, sowie mit einem flüssigen Nährmedium für die Larven, das auf dünnen Watteschichten angeboten wird. Die Ausbeute der Zucht (Überlebensrate der Larven bis zur Verpuppung) blieb jedoch auf 40 bis 50 % beschränkt und die Puppengewichte der Freilandpopulation wurden nicht erreicht. Bei optimaler Lagerung der Puppen konnten davon 70 bis 80 % zum Schlupf der adulten *R. cerasi* gebracht werden. Erschwerend für die Laborzucht ist die obligatorische Diapause

der Kirschfruchtfliege, die bei der Freilandpopulation ca. 11 Monate, z.T. auch länger („Überlieger“), und im Labor mindestens 4-5 Monate bei 4°C beträgt. Desweiteren scheint beim Start der Laborzucht die Umstellung der Freilandpopulation auf das synthetische Nährmedium eine besonders kritische Phase zu sein.

Dispersions- und Orientierungs der Kirschfruchtfliege

Um eine nachhaltige Bekämpfung der Kirschfruchtfliege zu gewährleisten und insbesondere den Einsatz von Pheromonen und Fallensystemen zu optimieren, sind grundlegende Kenntnisse zum Dispersions- und Orientierungsverhalten der Kirschfruchtfliege erforderlich. Eine Literaturstudie, der 139 Publikationen zugrunde lagen, ergab, dass es hierbei erhebliche Wissenslücken gibt (THEINERT & DICKLER 2000). Deren Schließung stellt jedoch eine Grundvoraussetzung für die Entwicklung o.g. moderner und nachhaltiger Verfahren dar. Nicht völlig geklärt ist darüber hinaus, bis zu welchem Grad umliegende Wirtspflanzenbestände zu einer Neu-Besiedlung einer Anlage durch die Kirschfruchtfliege führen können. Dies gilt auch für die als alternative Wirtspflanze dienende Heckenkirsche (*Lonicera xylosteum*). Aufgrund phänologischer Unterschiede wird jedoch die Besiedlung der Süßkirsche ausgehend von *Lonicera*-Beständen als eher unwahrscheinlich angesehen (BOLLER et al. 1998). BOLLER et al. (1998) berichten auch, dass die Kirschfruchtfliege in der Regel nur geringe Distanzen zurücklegt, einzelne Tiere aber durchaus längere Strecken von 2 bis 3 km überwinden können. KATSOYANNOS et al. (1986) stellte fest, dass solange Ressourcen zur Verfügung stehen, die Fliegen zum größten Teil in der Anlage bleiben, in der sie geschlüpft sind. KNEIFL et al (1997) schlug einen mindestens 500 m breiten Gürtel um Kirschanlagen vor, in dem keine Wirtspflanzen vorkommen. Insgesamt ist über den genetischen Austausch zwischen verschiedenen Kirschfruchtfliegenpopulationen wenig bekannt. Der genetische Austausch benachbarter Populationen läßt sich mit Mikrosatelliten untersuchen. Durch diese Untersuchung kann abgeschätzt werden, ob und in welchem Ausmaß Fallen im wesentlichen im Perimeterbereich um die Anlage gegen Zuflug oder in der Anlage selbst gegen lokale Populationen einzusetzen sind (SCHWARZ 2000). Dieser Ansatz bedarf weiterer Forschungsarbeiten.

Selektive Regulierungsverfahren

Verwendung von Pheromonen

Schweizer Untersuchungen zeigten, dass eine Behandlung der Früchte mit dem ungiftigen, synthetisch herstellbaren Markierungspheromon (HMP = host marking pheromone) der Fliege bei niedrigen Populationsdichten *R. cerasi* von einer Eiablage abhält (ALUJA & BOLLER 1992 b; BOLLER & ALUJA 1992, HURTER et al. 1987). Einige Bäume in der Kirschanlage müssen allerdings unbehandelt bleiben. Sie dienen als Fangbäume für die unter Eiablagedruck stehenden Weibchen. Ein Nachteil der Methode sind die hohen Herstellungskosten des Markierungspheromons. Eine Optimierung und Kostenreduktion im

Herstellungsprozess wäre erforderlich. Um dieses biotechnische Verfahren zu verbessern und es auch bei höheren Populationsdichten erfolgreich anwenden zu können, müssten zudem hochattraktive Fallen eingesetzt werden. Das Verfahren wird für den ökologischen Landbau allerdings abgelehnt, da das Pheromon auf die Früchte appliziert wird und nicht 100 %ig dem Naturstoff entspricht. Desweiteren scheint die Wirksamkeit zeitlich begrenzt zu sein (FIMIANI 1982, HOFFMEISTER & BOLLER 2003).

Fallenoptimierung, Massenfang, Attract & Kill

Adulte Kirschfruchtfliegen können mit beleimten Gelbfallen gefangen werden. Es existieren verschiedene Fallenmodelle, die aufgrund der Farb- und Formgebung oder durch Zusatz von Futterködern unterschiedlich fängig sind. Besonders hohe Fangraten sind für die Rebell®-Falle und die Fructect®-Falle belegt. Allerdings werden hierdurch in der Regel keine ausreichend hohen Befallsreduktionen, insbesondere nicht bei hohen Populationsdichten, erzielt. Die Fallen können vor allem in Hausgärten zu einer beschränkten Befallsreduktion eingesetzt werden. Im Erwerbsobstbau dienen sie überwiegend dem Monitoring (EPP 1998, REMUND & BOLLER 1975, THEINERT & DICKLER 2000, WYSS & ZUBER 1998).

Eine Optimierung der Fallen könnte durch visuelle Faktoren und durch das Einbeziehen von Futterattraktantien, wie z.B. Ammoniumacetat (KATSOYANNOS et al. 2000) und Insektiziden möglich sein. In den USA gelang es, den Befall durch die Apfelfruchtfliege (*Rhagoletis pomonella*) mit Hilfe von Apfelattrappen, die mit Futterattraktantien und mit dem Insektizid Imidacloprid bestückt waren, auf ähnlich niedriges Niveau wie durch die Anwendung eines breitwirksamen Insektizides (Azinphosmethyl) zu reduzieren (HARDIN 2000). Erste Erfahrungen mit einem entsprechenden Ansatz liegen für die nordamerikanischen Kirschfruchtfliegen *Rhagoletis cingulata* und *R. indifferens* vor. Eine Erhöhung von Fängen ist wahrscheinlich auch durch den Zusatz von ammoniumhaltigen Stoffen oder volatilen Komponenten, die von reifenden Früchten abgegeben werden, möglich (GUT et al. 2003, KATSOYANNOS et al. 2000, PROKOPY et al. 2000).

Die Fängigkeit existierender Fallen könnte auch durch den Einsatz von Sexualpheromonbestandteilen erhöht werden (KATSOYANNOS 1976, HOFFMEISTER 1992, RAPTOPOULOS et al. 1995). Dies bedarf jedoch noch weiterer Forschung, um die verschiedenen Fraktionen der Pheromone weiblicher und männlicher Fliegen qualitativ und quantitativ zu analysieren. Nach der Herstellung entsprechender Extrakte ist mit diesen die Durchführung von Biotests notwendig (FRENZEL & DETTNER 1989, FRENZEL et al. 1990).

Köderverfahren

Im Zitrus- und Olivenanbau werden gegen Fruchtfliegen (*Ceratitis capitata*, *Bactrocera olea*) seit Jahren sogenannte „bait sprays“ (Köderverfahren) mit Erfolg eingesetzt. Dabei erfolgt eine Teilflächenbehandlung mit einer Mischung aus einem Insektizid und einer proteinhaltigen Ködersubstanz (z.B. Buminal). Bisher wurden bei den Insektiziden meist breitwirksame Phosphorsäureester eingesetzt. Auf der Suche nach selektiveren Wirkstoffen konnten bei Einsatz von Spinosad bereits Erfolge erzielt werden (PECK & MCQUATE 2000). Erste Versuche in Deutschland, die Kirschfruchtfliege mit dem Köderverfahren (reduzierte Aufwandmenge Fenthion mit Zusatz von Buminal) zu bekämpfen, brachten bisher keine

zufriedenstellenden Ergebnisse. Das Einbinden von Insektiziden natürlichen Ursprungs, wie o.g. Spinosad oder NeemAzal-T/S, die günstige ökotoxikologische Eigenschaften aufweisen, könnte hier sinnvoll sein. Bei Neem gilt dies insbesondere im Hinblick auf die Ausnutzung der sterilisierenden Wirkung bei Aufnahme durch die adulten Fliegen, wie für die Mittelmeerfruchtfliege, *Ceratitis capitata*, und die Westamerikanische Kirschfruchtfliege, *Rhagoletis indifferens* bereits nachgewiesen, sowie der oviziden Wirkung bei Kontamination der Eier (ADÁN et al. 1998, DI ILIO et al. 1999, GEIPEL 2001, PECK & MCQUATE 2000, VAN RANDEN & ROITBERG 1998 a und b).

Insektizide

Zur Kirschfruchtfliegen-Bekämpfung ist in Deutschland zur Zeit nur der breitwirksame Wirkstoff Dimethoat mit einer Wartezeit von 21 Tagen zugelassen. Aufgrund dieser Wartezeit ist die Bestimmung des Einsatztermines nicht einfach und die optimale Wirksamkeit wird nicht immer erreicht. Es besteht keine Aussicht auf eine Verkürzung der in Deutschland auf 21 Tage festgelegten Wartezeit. Sie wurde wegen des Hauptmetaboliten Omethoat erforderlich. Dimethoat ist in der 2. Stufe der EU-Altwirkstoffprüfung enthalten, deren Abschluss bis 2005 vorgesehen ist. Im ökologischen Obstbau werden zur Kirschfruchtfliegenbekämpfung bisher Gelbfallen eingesetzt. Das Verfahren führt jedoch nicht zu befriedigenden Ergebnissen (vgl. Abschn.1.2 „Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde“).

Auf der Suche nach anderen für die Bekämpfung der Kirschfruchtfliege geeigneten Insektiziden wurden bisher mit Pirimor und Karate (Zeon Technologie) gute Wirkungsgrade erreicht. Auch Calypso (Wirkstoff Thiaclopid) erscheint erfolgversprechend. Es handelt sich jedoch um einjährige Ergebnisse und sie wurden bei relativ geringem Befallsdruck (knapp 6 % in der unbehandelten Kontrolle) erzielt (GEIPEL 2001, VOGT 2002). Die Zulassung von Pirimor endete am 31.12.2002. Der Wirkstoff Lambda-Cyhalothrin, der in Karate enthalten ist, wurde in den Annex I der Richtlinie 91/414/EWG aufgenommen. Karate hat bisher keine Zulassung für die Bekämpfung der Kirschfruchtfliege und ist aus ökotoxikologischen Gesichtspunkten keine vorteilhafte Alternative. Insektizide natürlichen Ursprungs mit recht günstigen ökotoxikologischen Eigenschaften, Spinosad und NeemAzal-T/S, erzielten keine ausreichenden Wirkungsgrade (GEIPEL 2001, VOGT 2002). Möglicherweise ist hier jedoch durch Optimierung der Anwendung eine höhere Wirksamkeit zu erreichen.

Natürliche Gegenspieler

Überwinternde Puparien können durch natürliche Gegenspieler abgetötet werden. Parasitoide sind hierfür kaum geeignet (BOLLER 1966 b; HOFFMEISTER 1988, 1992). Nematoden sind als zusätzliche Agentien bei der Kirschfruchtfliege bislang wenig erforscht und könnten eine Alternative bieten (vgl. GAUGLER 1988). Das zeigten auch Ergebnisse einer am Institut für Pflanzenschutz im Obstbau der BBA in Dossenheim durchgeführten

Doktorarbeit (NACHTIGALL 1991). Bei anderen Fruchtfliegenarten der gleichen oder anderer Gattungen liegen ebenfalls erste positive Erfahrungen mit Nematoden vor (BEAVERS & CALKINS 1984, GAZIT et al. 2000, LABORDA et al. 2003, LINDEGREN 1990, LINDEGREN et al. 1990, PATTERSON STARK & LACEY 1999, POINAR & HISLOP 1981, YEE & LACEY 2003). Entomopathogene Pilze sind bisher hinsichtlich ihrer Wirkung auf die im Boden überdauernden *R. cerasi*-Puppen nicht untersucht. Gegen andere Fruchtfliegenarten wurden entomopathogene Pilze hingegen bereits im Labor getestet (CASTILLO et al. 2000, EKESI et al. 2002, EKESI et al 2003, DE LA ROSA et al. 2002, LEZAMA-GUTIERREZ et al. 2000).

Physikalische Abwehrmaßnahmen

Als physikalische Maßnahme erwies sich das Einnetzen der Kirschbäume in Kombination mit dem Einsatz der hochfängigen Frutect®-Fallen als erfolgreich. Es handelt sich hier jedoch um eine sehr teure Lösung, die auch nur für moderne Intensivanlagen mit niedrigeren Baumformen geeignet ist (GEIPEL 2001, VOGT 2002).

3.1.2 Teilprojekt b:

Untersuchungen zur biologischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege mit entomopathogenen Nematoden und dem pflanzlichen Insektizid NeemAzal-T/S

3.1.2.1 Bodenprobennahme, Isolierung und Vermehrung von Nematoden aus Befallsgebieten

Entnahme der Bodenproben

2002 und 2003 wurden insgesamt 103 Bodenproben aus 8 Bundesländern (Baden-Württemberg, Hessen, Rheinland-Pfalz, Niedersachsen, Bayern, Brandenburg, Thüringen, Sachsen-Anhalt) von Befallsgebieten entnommen (Tab. 1).

Tab.1: Standorte, Bundesland, Zeiträume der Entnahme der Bodenproben aus Befallsgebieten

Standort	Bundesland	Zeitraum	N Proben
Ebermannstadt	Bayern	Sommer 2002	2
Leina	Thüringen	Sommer 2002	2
Privatgarten	Baden-Württemberg	Sommer 2002	2
Umgebung und Anlage des Instituts Dossenheim	Baden-Württemberg	Juli 2002	14
Erfurt Flughafen	Thüringen	Juli 2002	4
Umgebung Bingen	Rheinland-Pfalz	November 2002	14
Demeter Obsthof Odenwald	Hessen	November 2002	4
Bioland Pappelhof, Reichelsheim	Hessen	November 2002	6
Sulzburg-Laufen	Baden-Württemberg	November 2002	6
Sasbach	Baden-Württemberg	März 2003	6
Pflanzenschutzdienst Brandenburg	Brandenburg	März 2003	4
Ober-Ramstadt	Hessen	Juli 2002/Mai 2003	8
Heilbronn	Baden-Württemberg	April 2003	3
Ludwigsburg	Baden-Württemberg	April 2003	4
Havelland um Potsdam	Brandenburg	Mai 2003	6
Landesamt f. Verbraucherschutz; Waldstadt b. Wünsdorf	Brandenburg	Mai 2003	2
Braunschweig, Hausgarten Weddel	Niedersachsen	Mai 2003	1
Denzlingen	Baden-Württemberg	Mai 2003	6
Weil Haltingen	Baden-Württemberg	Juni 2003	1
Kettig	Rheinland-Pfalz	Juni 2003	2
Amt f. Landwirtschaft u. Flurneueordnung Mitte; Halberstadt	Sachsen-Anhalt	Juni 2003	6
Anzahl der untersuchten Proben			103

Isolierung und Vermehrung von Nematoden

(Übernahme und Zusammenfassung der Angaben aus den Tätigkeitsberichten 2002 und 2003 der Firma e-nema GmbH)

Aus den 103 Bodenproben konnten 19 Nematodenstämme isoliert werden (Tab. 2). Dabei handelte es sich bei *Steinernema bicornutum* und bei *S. carpocapsae* um die ersten lebenden Isolate in Deutschland (Auskunft A. PETERS, e-nema GmbH). Von den Isolaten wurden 8 in die Untersuchungen zur Infektiösität gegenüber *R. cerasi*-Larven einbezogen. Ein Teil der Nematodenisolate konnte nicht erhalten oder vermehrt und somit nicht getestet werden. Zusätzlich zu den Bodenprobenisolaten kamen noch drei türkische Stämme aus der Stammsammlung der Firma e-nema GmbH zum Einsatz. Dabei handelte es sich um *Steinernema feltiae* (Code 65-20) sowie zwei *Heterorhabditis*-Stämme (Code 39-8 und 1121).

Tab. 2: Nematodenisolate aus Bodenproben von Befallsgebieten; fett gekennzeichnete Nematodenstämme wurden in die Untersuchungen zur Infektiosität gegenüber *R. cerasi*-Larven einbezogen

Standort	Entnahme	Artdiagnose	Code
Umgebung Bingen	Ockenheim Autobahn I	<i>Steinernema affine</i>	2-5
	Ockenheim Autobahn II	<i>Steinernema affine</i>	2-6
	Büdesheim Maueräcker I	<i>Heterorhabditis megidis</i>	2-7
	Büdesheim Maueräcker II	<i>Heterorhabditis megidis</i>	2-8
	Dommersheim (Eisenbahnübergang) I	<i>Steinernema feltiae</i>	2-11
	Dommersheim Feldweg (nach Kreuzung) II	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	2-14
Bioland Pappelhof, Reichelsheim	nicht benannt	<i>Steinernema affine</i>	4-1
	nicht benannt	<i>Steinernema affine</i>	4-6
Ober-Ramstadt	Wiese	<i>Steinernema bicornutum</i> (verloren)	
Ludwigsburg	Kreutzberg älterer Kirschbaum	verloren, nicht bestimmt	12-1
Havelland um Potsdam	Plötzin	<i>Heterorhabditis megidis</i>	7-2
	Groß-Kreutz I	<i>Steinernema feltiae</i>	7-8
	Groß-Kreutz II	<i>Steinernema</i> (verloren)	7-9
LA f. Verbraucherschutz, Waldstadt b. Wünsdorf	Süßkirschquartier Berger Kammerode	<i>Heterorhabditis megidis</i>	8-1
	Süßkirschquartier Berger Glindow	<i>Heterorhabditis megidis</i>	9-2
Braunschweig	Weddel, Hausgarten	<i>Heterorhabditis megidis</i>	11-1
Denzlingen	Kirschacker, Büllweg vorn	<i>Steinernema carpocapsae</i>	13-2
	Kirschacker, Am Weg	<i>Steinernema feltiae</i>	13-5
Weil Haltingen	Bioland Betrieb	verloren	10-1

3.1.2.2 Untersuchungen zur Wirksamkeit entomopathogener Nematoden gegen die Kirschfruchtfliege

Für die Ergebnisdarstellung werden in den Graphiken die Nematodenarten und -stämme jeweils mit den Anfangsbuchstaben der Gattungs- und Artnamen sowie dem ersten Buchstaben der Stammbezeichnung abgekürzt. Bei den Nematodenisolaten aus Bodenproben und den türkischen Stämmen wird zusätzlich der Code der Firma e-nema GmbH hinzugezogen.

Laborversuche

Ermittlung der Infektiosität der entomopathogenen Nematoden gegenüber *R. cerasi*-Larven

2002

Die Auswertung der Kulturplatten mit *R. cerasi*-Larven ergab unter Zusammenfassung der Ergebnisse mit verschiedenen Dosierungen und Temperaturen einen durchschnittlichen Befall von 80 % und einen mittleren Wirkungsgrad nach ABBOTT von 87 %, wobei die Nematoden *S. carpocapsae* Stamm China und *S. feltiae* die höchsten Werte mit bis zu 91 %

Befall und einem Wirkungsgrad bis zu 96 % aufwiesen (Abb.1). Sie unterschieden sich signifikant insbesondere von *S. bicornutum* (KRUSKAL & WALLIS). Die verschiedenen Dosierungen der Nematoden pro Zelle der Kulturplatten zeigten keinen konstant signifikant stärkeren Befall bei höherer Dosis (KRUSKAL & WALLIS). Zwischen den Ansätzen bei den verschiedenen Temperaturen von 20°C und 24°C konnten ebenfalls nur in einzelnen Fällen signifikante Unterschiede festgestellt werden (MANN-WHITNEY). Aus diesem Grund erfolgt die Darstellung der Ergebnisse unter Zusammenfassung der Ansätze beider Temperaturen von 20 und 24°C in einer Abbildung (Abb.1).

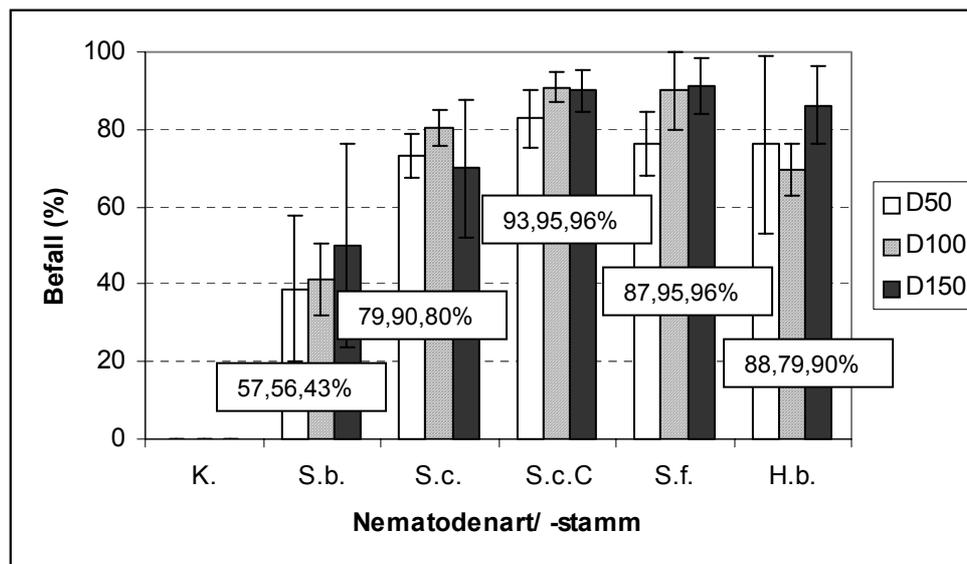


Abb 1: Kulturplatten (Cell wells®): durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven unter Einbeziehung beider Temperaturen von 20°C und 24°C sowie unter Angabe der durchschnittlichen Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, vgl. Text. K.=Kontrolle, D=Dosis

Aufgrund der geringen Unterschiede zwischen den beiden Inkubationstemperaturen wurden die weiteren Laborversuche in Petrischalen nur bei 20°C durchgeführt. Der Einsatz der Nematoden in Petrischalen mit Sand führte zu einem durchschnittlichen Befall von 72 % (mittlerer Wirkungsgrad 87 %) und mit Erde von 68 % (mittlerer Wirkungsgrad 79 %). *S. carpocapsae* und *S. feltiae* wiesen in Sand mit 80 % bzw. 96 % den höchsten Befall auf (Wirkungsgrade: 91 % und 98 %; Abb. 2). In Erde erreichten die beiden genannten Nematodenarten und *H. bacteriophora* Befallswerte zwischen 70 % und 74 % mit Wirkungsgraden in Höhe von 72 % bzw. 77 %. Bei *H. bacteriophora* und *S. feltiae* waren die Unterschiede im Befall zwischen den beiden Medien mit einem höheren Befall in Sand signifikant (MANN-WHITNEY). Ob der Bodentyp Einfluss auf den Befall der Kirschfruchtfliegenlarven hat, sollte im Folgejahr mit Versuchen in verschiedenen LUFA-Standardbodentypen geklärt werden. Befallsunterschiede zwischen den eingesetzten Nematoden traten lediglich in Sand durch höhere Werte zwischen *H. bacteriophora* und den anderen eingesetzten Nematodenarten auf.

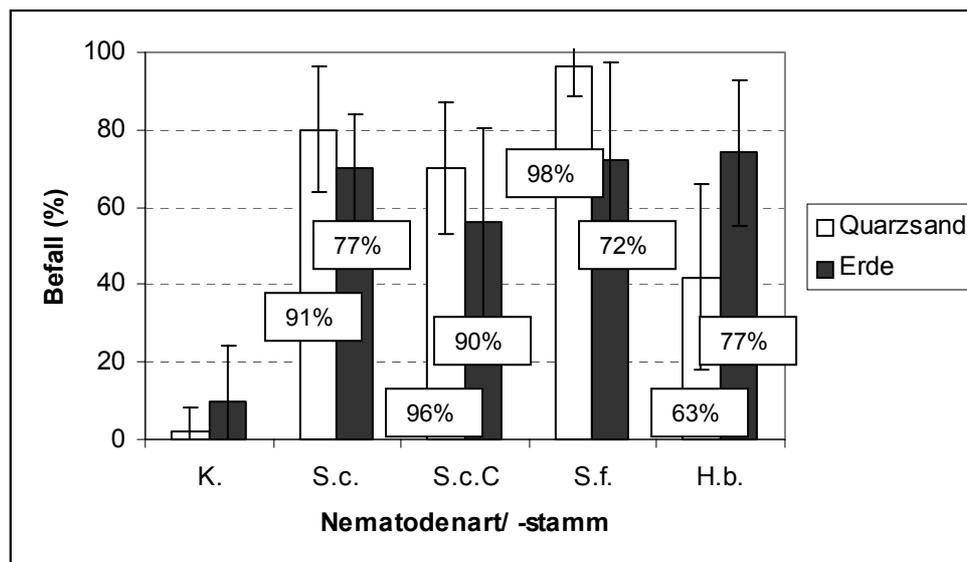


Abb 2: Petrischalen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven bei 20°C unter Angabe der durchschnittlichen Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

2003

Die Untersuchungen zum Infektionspotential der einzelnen Nematoden in verschiedenen LUFA-Standardböden ergaben insgesamt keine signifikanten Unterschieden zwischen den Bodentypen (KRUSKAL & WALLIS). Nur bei *S. carpocapsae* und *H. bacteriophora* traten in dem Ansatz mit 25 Nematoden/cm² Unterschiede auf, die aber keine einheitliche Tendenz aufwiesen (vgl. Abb. 3 bis 5). Im Vergleich der Nematodenarten wurden signifikante Unterschiede deutlich, die bei allen drei Dosierungen auf signifikant geringere Infektionswerte von *H. bacteriophora* zurückzuführen waren. Nur in der Dosierung von 10 Nematoden/cm² unterschied sich auch *S. carpocapsae* mit geringeren Werten von *S. feltiae* signifikant (MANN-WHITNEY, Korrektur nach BONFERRONI, Abb. 3). Signifikante Unterschiede in der Infektionsrate zwischen den Dosierungen von 10 und 50 Nematoden/cm² traten mit höheren Werten bei höherer Dosierung in den mittleren und schwereren Böden (3A, 5M, 6S) auf (KRUSKAL & WALLIS, MANN-WHITNEY, Korrektur nach BONFERRONI). Die Nematoden mit den höchsten Befallszahlen und Wirkungsgraden (nach ABBOTT) über alle Bodentypen, die sich nicht signifikant voneinander unterschieden (KRUSKAL & WALLIS), sind für die drei Dosierungen in Tabelle 3 dargestellt. Die Abbildungen 3 bis 5 zeigen die durchschnittlichen Befallsraten mit Standardabweichung der *R. cerasi*-Larven für die einzelnen Nematodenarten und -stämme in den verschiedenen Bodentypen und Dosierungen.

Tab. 3: Mittlere Befallsraten und Wirkungsgrade nach ABBOTT (über alle LUFA-Standardböden sowie Sand) der Nematodenarten und -stämmen, die sich in den einzelnen Dosierungen nicht signifikant voneinander unterscheiden (fett: Nematodenart/ -stamm mit den jew. höchsten Werten pro Dosierung)

Dosierung [Nematoden/cm ²]	<i>S. carpocapsae</i>		<i>S. carpocapsae</i> Stamm China		<i>S. feltiae</i>	
	Befall [%]	Wirkungsgrad [%]	Befall [%]	Wirkungsgrad [%]	Befall [%]	Wirkungsgrad [%]
10			60	59	75	73
25	69	67	70	67	85	84
50	78	76	84	82	88	89

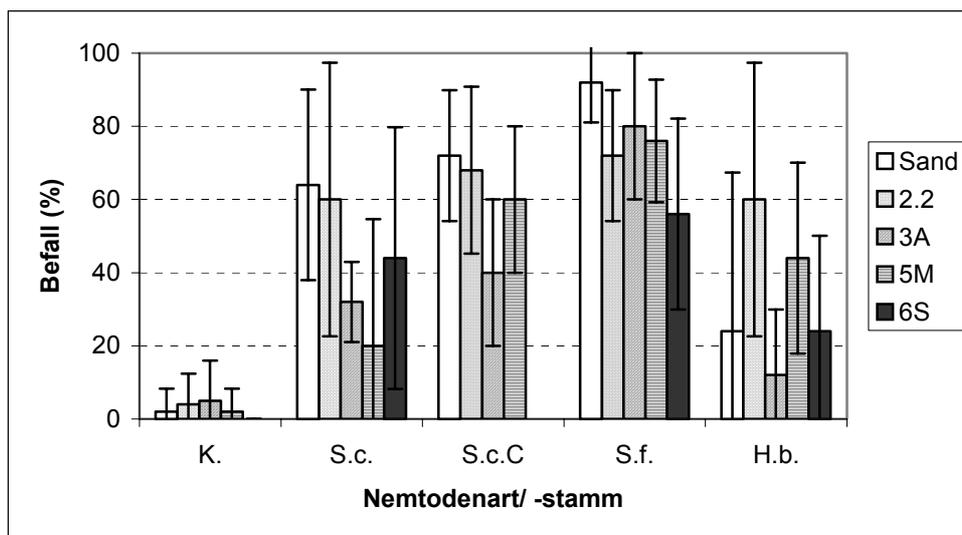


Abb. 3: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven bei einer Dosierung von 10 Nematoden/cm² in Sand und den LUFA-Standardböden, K.=Kontrolle

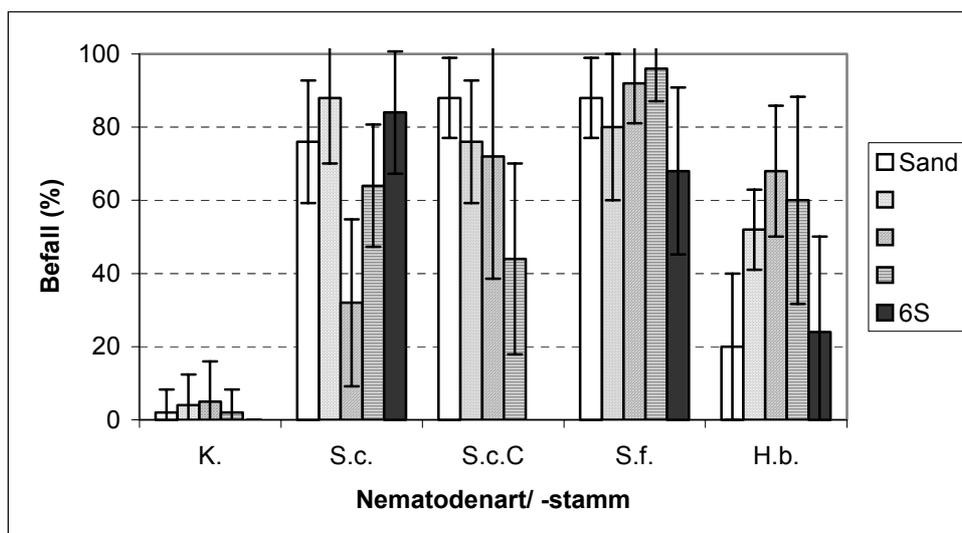


Abb. 4: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven bei einer Dosierung von 25 Nematoden/cm² in Sand und den LUFA-Standardböden, K.=Kontrolle

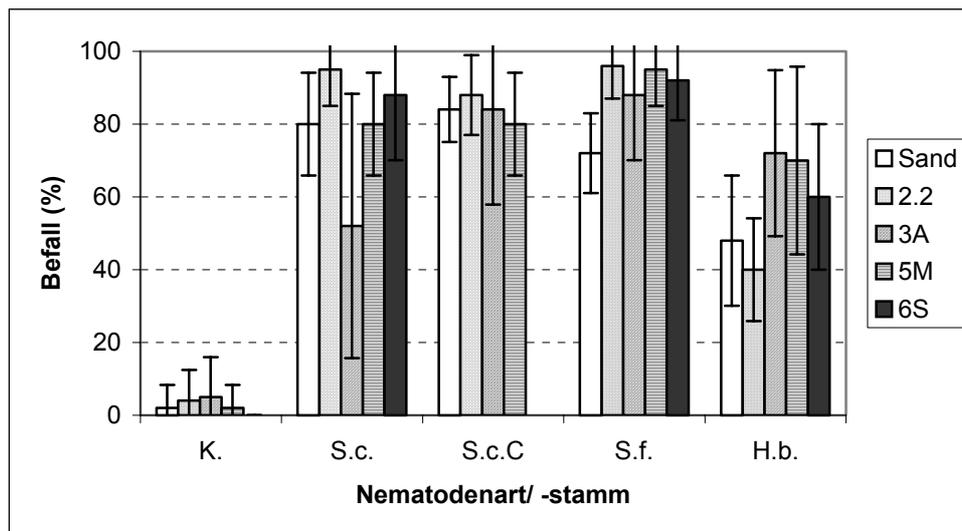


Abb. 5: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven bei einer Dosierung von 50 Nematoden/cm² in Sand und den LUFA-Standardböden, K.=Kontrolle

Die Ergebnisse der Versuche unter Verwendung der Bodenprobenisolate aus Befallsgebieten und der türkischen Stämme sind in Abb. 6 dargestellt. Zwei *Heterorhabditis*-Isolate aus der Türkei (*H. spec.* 39-8, *H. spec.* 1121) und *H. bacteriophora* aus einer der Bodenproben (*H.b.* 2-14) zeigten die höchste Infektionsraten mit 83, 73 bzw. 81 % sowie Wirkungsgraden von 84, 72 bzw. 81 % über alle drei Dosierungen. Signifikante Unterschiede im Vergleich zum Referenzstamm von *H. bacteriophora* lagen nicht vor (KRUSKAL & WALLIS).

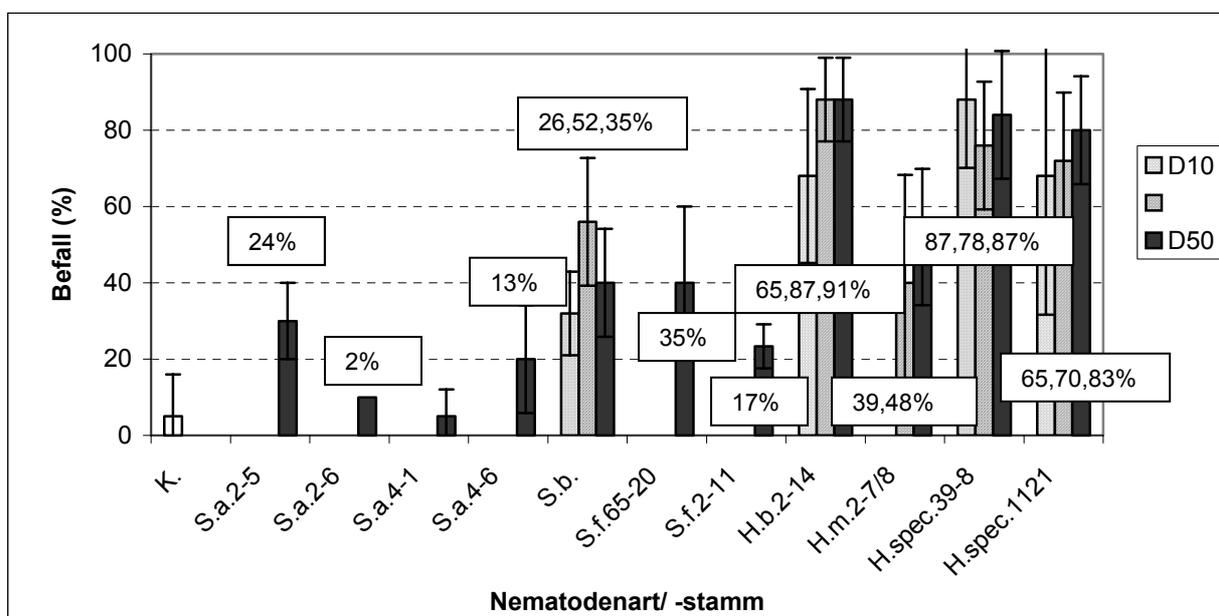


Abb. 6: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven durch Nematodenisolate aus Bodenproben von Befallsgebieten sowie türkische Stämme im Bodentyp 3A und bei 20°C unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern (keine Wirkungsgradangabe bei S.a. 4-1, da der errechnete Wert unter 0 lag), K.=Kontrolle

Der Vergleich des Befalls und der Wirkungsgrade nach ABBOTT zwischen den Ansätzen in Petrischalen mit Sand, 50 Nematoden/cm² und jeweils 5 *R. cerasi*-Larven 2002 und 2003 ergab keine signifikanten Unterschiede.

Vergleich des Befalls isolierter und ausgewanderter R. cerasi-Larven

Die manuelle Isolation der *R. cerasi*-Larven aus den Kirschen stellt eine Manipulation im Vergleich zu natürlichen Verhältnissen dar. Aus diesem Grund wurden in einem parallelen Ansatz isolierte und ausgewanderte Kirschfruchtfliegenlarven in Petrischalen mit Sand und *S. feltiae* exponiert. Im Mittel lag der Befall der ausgewanderten Larven bei 80 % (mittlerer Wirkungsgrad nach ABBOTT 83 %) und der der isolierten bei 93 % (mittlere Wirkungsgrad nach ABBOTT 97 %, Abb. 7). Der statistische Vergleich der Einzeldaten ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Varianten (KRUSKAL & WALLIS).

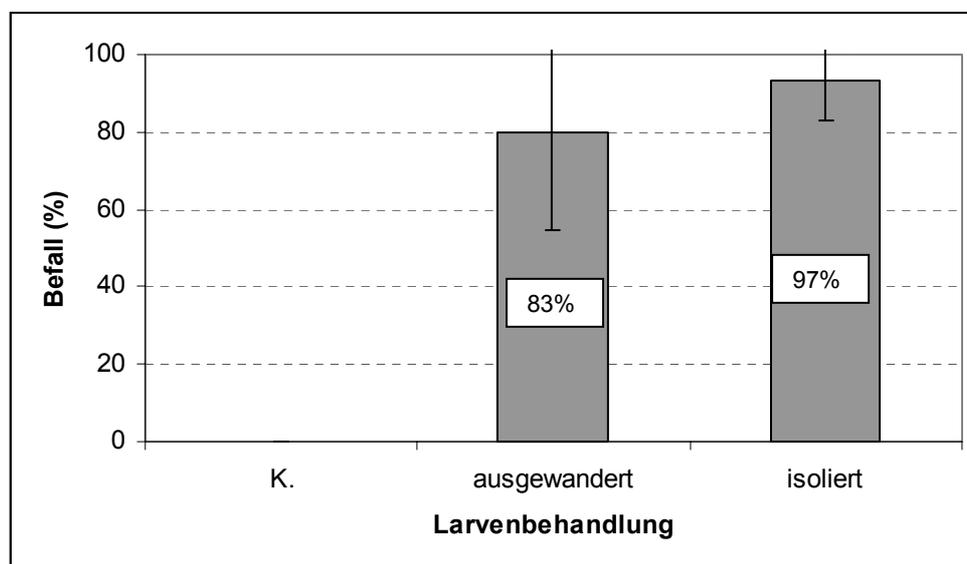


Abb. 7: Petrischalen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) ausgewanderter und manuell isolierter *R. cerasi*-Larven durch *S. feltiae* unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern (20°C), K.=Kontrolle

Persistenz entomopathogener Nematoden

Am Beispiel der Nematodenart *S. feltiae* wurde die Persistenz der Nematoden im Boden unter Laborbedingungen im LUFA-Standardbodentyp 3A überprüft. Die durchschnittlichen Befallszahlen und Wirkungsgrade zeigt Abb. 8. Sie unterscheiden sich auf dem 5 %-Niveau signifikant voneinander (KRUSKAL & WALLIS), was auf die Werte am 1. und 3. Tag zurückzuführen ist (MANN-WHITNEY, Korrektur nach BONFERRONI).

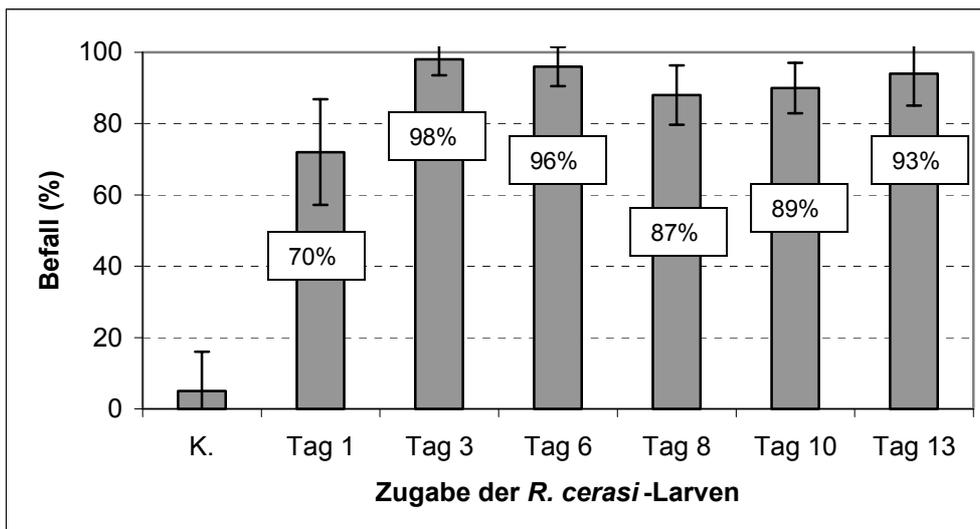


Abb. 8: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven durch *S. feltiae* im LUFA-Standardboden 3A und bei 20°C unter Zugabe der Larven am Tag 1, 3, 6, 8, 10 und 13 unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

Ermittlung der Infektiosität der entomopathogenen Nematoden gegenüber *R. cerasi*-Puppen

Der Befall der *R. cerasi*-Puppen lag im Durchschnitt für beide Temperaturen bei 2 %. Ein signifikanter Unterschied bestand zwischen den eingesetzten Nematoden nicht (KRUSKAL & WALLIS). Abb. 9 zeigt die Befallswerte für die einzelnen Nematodenarten und -stämme. Ein höherer Befall bei zunehmender Dosis trat wie bei den Larven nicht auf. Die Berechnung und Darstellung des Wirkungsgrades nach ABBOTT erschien bei den erzielten Befallswerten nicht sinnvoll.

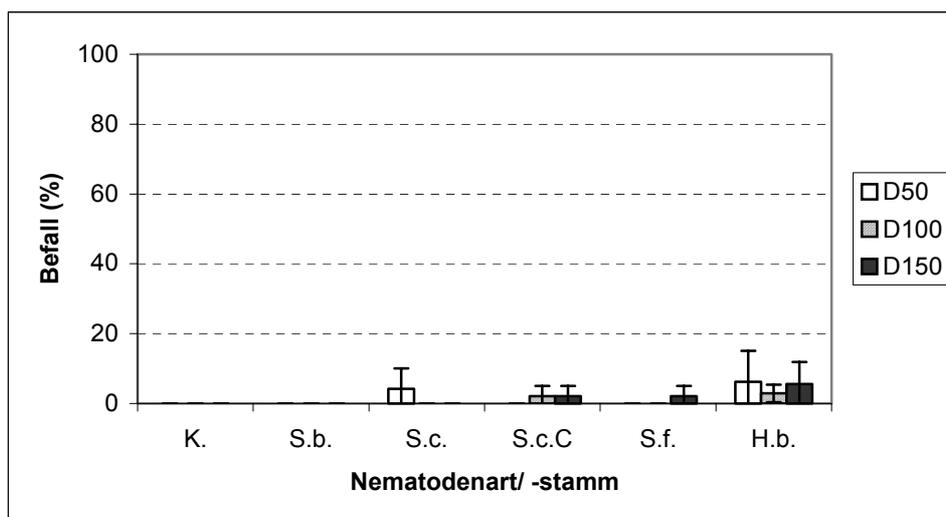


Abb 9: Kulturplatten (Cell wells[®]): durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Puppen unter Einbeziehung beider Temperaturen von 20°C und 24°C, K.=Kontrolle, D=Dosis

Ermittlung der Infektiösität der entomopathogenen Nematoden gegenüber adulten *R. cerasi*

Die Infektionsversuche adulter *R. cerasi* führte zu dem in Abb. 10 gezeigten Ergebnis. Im Durchschnitt wurden von *S. carpocapsae* 5 % und von *S. feltiae* 40 % der eingesetzten Tiere beim Schlupf befallen. Die Ermittlung des Wirkungsgrades nach ABBOTT war schwierig, da aufgrund der geringen Zahl der für diesen Versuch zur Verfügung stehenden Tiere eine natürliche Mortalitätsrate und die Anzahl der überliegenden Tiere nicht erfasst werden konnte. In der Kontrolle verblieben 6, in dem Ansatz mit *S. carpocapsae* 3 und in dem mit *S. feltiae* 2 Puppen ohne Krankheitssymptome oder Anzeichen auf Absterben, die in der Versuchszeit vom 16. April bis 20. Mai 2003 nicht geschlüpft waren.

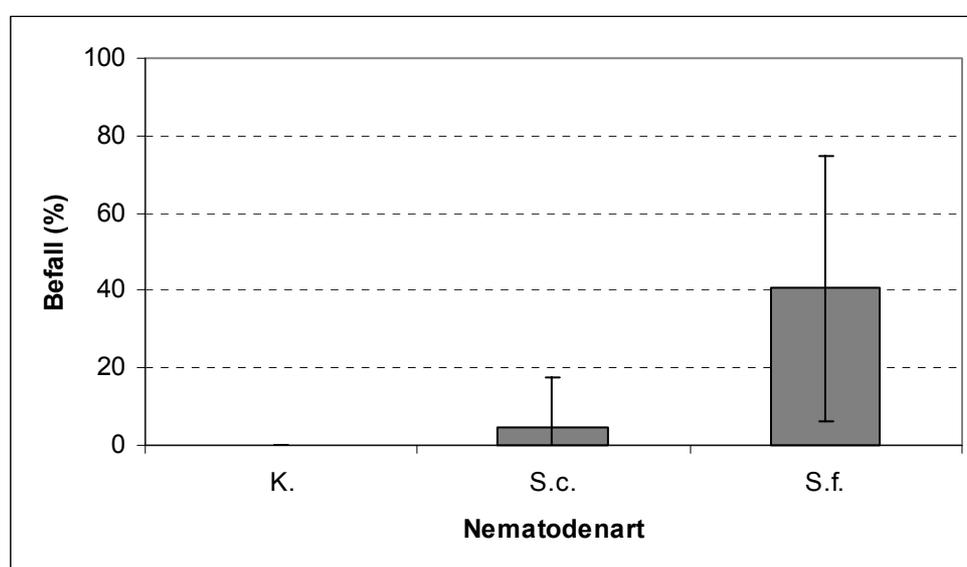


Abb 10: Durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*, K.=Kontrolle

Beobachtungen zum Eindringen der Nematoden in die Wirtstiere

Die Beobachtungen während der Befallsauswertungen zum Auswandern und nicht zum Eindringen des infektiösen Nematoden-Stadiums aus dem Wirt ergaben, dass die Nematoden oft an beiden Enden der *R. cerasi*-Larven in höherer Konzentration zu sehen waren. Das deutete auf ein Auswandern im Anal- oder Oralbereich hin. Diese Beobachtungen können nicht als quantitative Untersuchungen angesehen werden und lassen keine endgültigen Schlussfolgerungen über das Penetrationsverhalten der Nematoden zu.

Die geringen Befallsraten der *R. cerasi*-Puppen weisen darauf hin, dass die Nematoden nicht oder kaum in der Lage sind, in die Puppen einzudringen. Zur Klärung dieser Frage wurden Auswanderungsversuche nach Infektion der Larven in Sand durchgeführt. Danach konnten nur in einem Fall lebende L3-Stadien von *H. bacteriophora* in der Ringerlösung gefunden werden. Bei allen anderen Ansätzen waren keine Nematoden außerhalb der ausgelegten

Puppen nachzuweisen. Dieses Ergebnis bestätigt die Vermutung, dass die intakte Tönnchenpuppenhülle eine Penetrationsbarriere für die Nematoden darstellt.

Vergleichsuntersuchungen zur Infektiösität entomopathogener Nematoden gegenüber der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata*

Die Anwendung der drei Nematodenarten *S. carpocapsae*, *S. feltiae* und *H. bacteriophora* gegen die Larven der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata* führte zu den in den Abbildungen 11 bis 13 gezeigten Ergebnissen. Über alle drei Dosierungen und Bodentypen erreichte *S. feltiae* jeweils die höchsten Befallswerte. In Sand lagen sie im Mittel bei 96 % und 100 % (Wirkungsgrad nach ABBOTT ebenfalls 96 % und 100 %). Insbesondere bei *S. feltiae* kam es unter Anwendung aller drei Dosierungen zu einem signifikanten Abfall der Infektionsrate von Quarzsand zu den anderen beiden Bodentypen, wobei die Infektion im Bodentyp 2.2. mit einem hohen Anteil organischen Materials unter dem in Bodentyp 3A lag (KRUSKAL & WALLIS, MANN-WHITNEY, Korrektur nach BONFERRONI). Die Infektion in 2.2. lag in Abhängigkeit von der Nematodenmenge für *S. feltiae* im Durchschnitt zwischen 16 % und 52 % (Wirkungsgrade von 7 % bis 47 %) sowie in 3A zwischen 32 % und 76 % (Wirkungsgrade von 26 % bis 83 %). Mit den anderen beiden untersuchten Nematodenarten *S. carpocapsae* und *H. bacteriophora* konnten keine ausreichenden Befallswerte und Wirkungsgrade erzielt werden. Die höchste Infektion mit *S. carpocapsae* lag in Sand mit 50 Nematoden/cm² vor. Ansonsten lagen alle anderen Werte unter 60 % (vgl. Abb. 11 bis 13). Die deutlichen Unterschiede im Befall zwischen den Bodentypen, die bei *S. feltiae* auftraten, konnten bei *S. carpocapsae* und *H. bacteriophora* nicht nachgewiesen werden.

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen erscheint *C. capitata* nicht geeignet zu sein, im Labor als Modellorganismus für *R. cerasi* verwendet zu werden. Weitere Versuche wären jedoch notwendig.

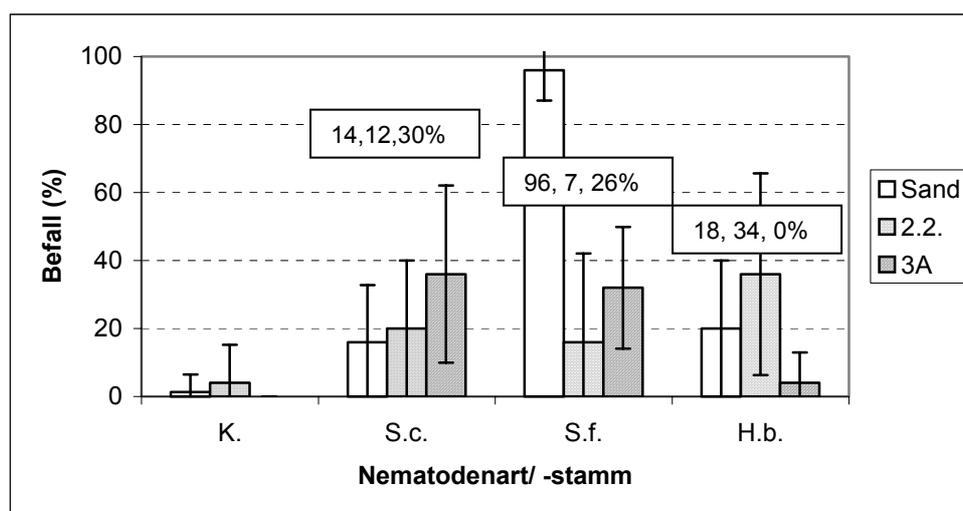


Abb.11: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *C. capitata*-Larven bei einer Dosierung von 10 Nematoden/cm² unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

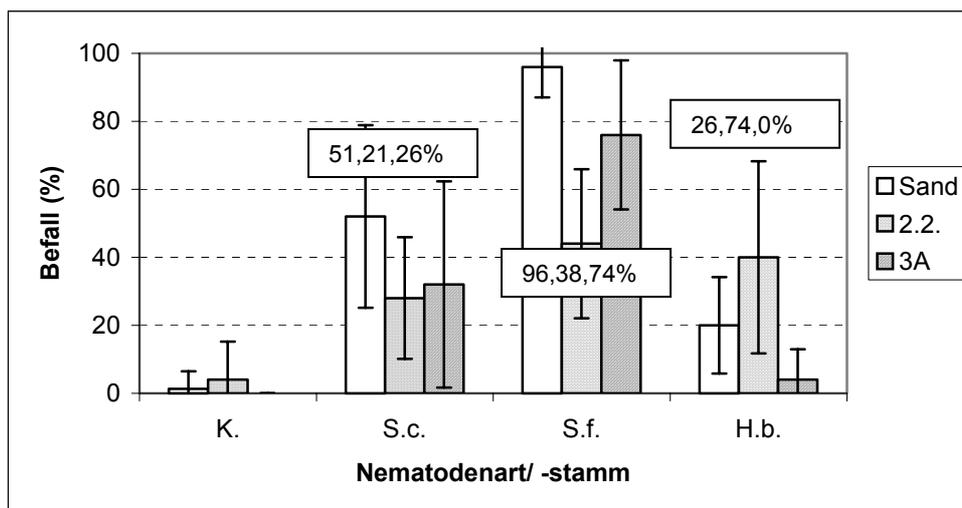


Abb.12: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *C. capitata*-Larven bei einer Dosierung von 25 Nematoden/cm² unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

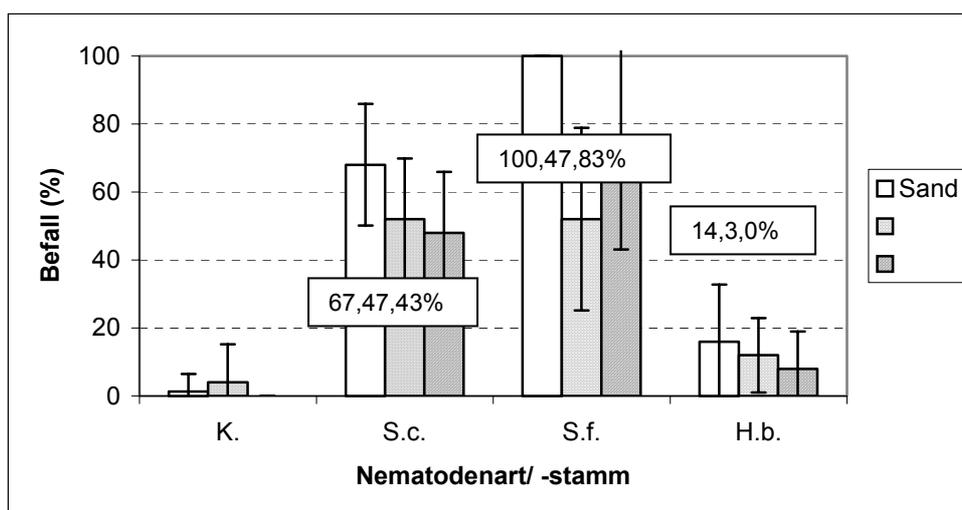


Abb.13: Plastikdosen: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *C. capitata*-Larven bei einer Dosierung von 50 Nematoden/cm² unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

Halbfreilandversuche

In praxisnäheren Ansätzen, d.h. in Halbfreilandversuchen bei Verwendung von gewachsenem Freilandboden, ergaben sich für 2002 und 2003 die durchschnittlichen Befallswerte und Wirkungsgrade nach ABBOTT aus Abb. 14. Im ersten Untersuchungsjahr erreichte *S. feltiae* mit 72 % befallenen Tieren (Wirkungsgrad 70 %) den höchsten Wert. 2003 lag er mit 76 % ähnlich hoch. Im zweiten Jahr wies *S. carpocapsae* im Vergleich dazu noch höhere Befallsraten mit einem Mittelwert von 86 % auf. 2003 traten in der Kontrolle

höhere Verluste auf, die sich auf die Höhe der Wirkungsgrade auswirkten, so dass sich für *S. feltiae* 54 % und für *S. carpocapsae* 78 % ergaben.

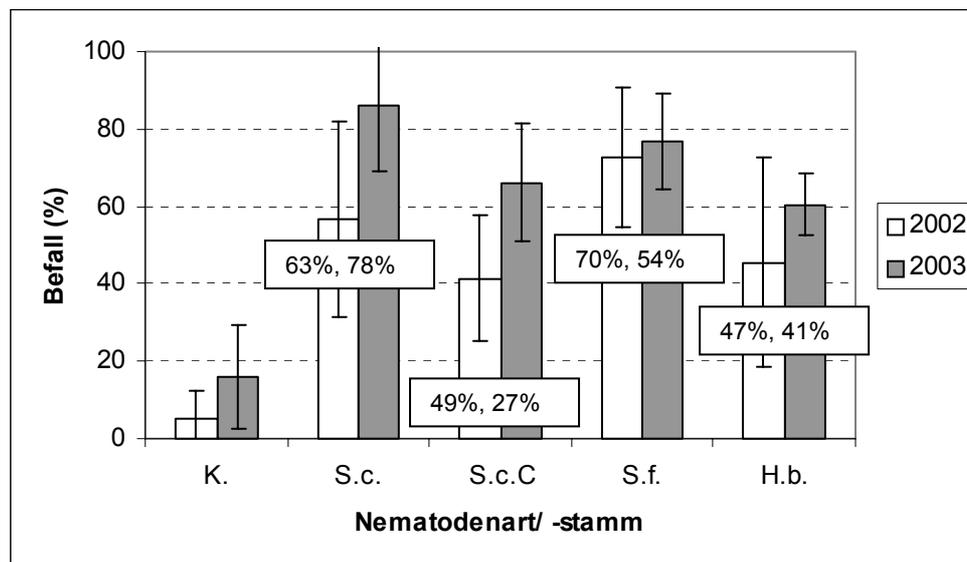


Abb 14: Halbfreilandversuche 2002 und 2003: durchschnittliche Befallsraten (\pm Standardabweichung) der *R. cerasi*-Larven unter Angabe der mittleren Wirkungsgrade nach ABBOTT in den Textfeldern, K.=Kontrolle

Freilandversuche

Der Freilandversuch, der 2002 mit dem Entlassen von Kirschfruchtfliegenlarven und Nematodenausbringung auf der Kirschanlage des Instituts angesetzt und im Mai/Juni 2003 mittels Boden-Fotoelektoren ausgewertet wurde, ergab im Folgejahr für alle Behandlungsvarianten geringe Wiederfangraten (Tab. 4). Die mit Nematoden behandelte Flächen wiesen im Vergleich zur Kontrolle einen geringeren Schlupf von Adulten auf, so dass Wirkungsgrade zwischen 56 % und 88 %, letzterer Wert nach Behandlung mit *S. feltiae* erreicht wurden (Abb. 15). Diese Ergebnisse sind als vorläufig zu betrachten, da die Werte aufgrund der geringen Schlupfraten (Wiederfangraten) in allen Behandlungsvarianten auf einer kleinen Datenbasis beruhen. Ein weiterer Freilandversuch konnte im zweiten Untersuchungsjahr infolge der höheren Verfügbarkeit von befallenen Kirschen mit einer größeren Anzahl von Larven und Wiederholungen durchgeführt werden. Dessen Auswertung ist für das Jahr 2004 geplant.

Tab. 4: Freilandversuch 2002/2003: durchschnittliche Wiederfangraten adulter *R. cerasi*

	Wiederfang [%]
Kontrolle	10,7
<i>S. carpocapsae</i>	4,7
<i>S. feltiae</i>	1,3
<i>H. bacteriophora</i>	4,7

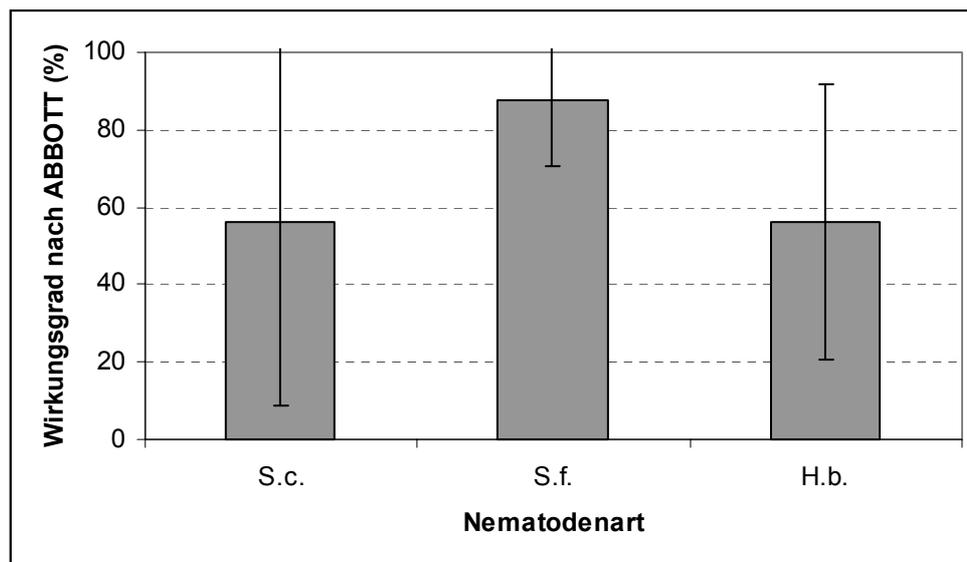


Abb 15: Freilandversuche 2002/2003: durchschnittliche Wirkungsgrade nach ABBOTT (\pm Standardabweichung)

3.1.2.3 Biologie der Kirschfruchtfliege

Beobachtungen zur Verpuppung der Kirschfruchtfliegenlarven

Im Durchschnitt fand die Verpuppung der Kirschfruchtfliegenlarven 4,3 cm unterhalb der Bodenoberfläche statt. Dieser Wert bezieht sich auf 6 von den 10 eingesetzten Tieren, da 4 Puppen nicht wiedergefunden werden konnten. Die maximale Tiefe lag bei 8,0 cm und die minimale bei 0,5 cm. In Tab. 5 sind die Werte der Verpuppungstiefe im einzelnen dargestellt.

Tab. 5. Verpuppungstiefe [cm] von *R. cerasi*

Larve Nr.	Verpuppungstiefe [cm]
1	8,0
2	kein Wiederfund
3	2,2
4	0,5
5	kein Wiederfund
6	5,4
7	5,0
8	kein Wiederfund
9	4,4
10	kein Wiederfund

Werden die *R. cerasi*-Larven nicht, wie bei den Untersuchungen zur Einwanderung in den Boden, in ihrem Bewegungsradius eingeschränkt, ergeben sich die in Tab. 6 gezeigten

Werte für den Einwanderungsradius verbunden mit der Tiefe. Dabei liegt der durchschnittliche Radius bei 1,6 cm und die mittlere Tiefe bei 2,1 cm. Diese Werte beruhen auf 5 von 10 wiedergefundenen *R. cerasi*-Puppen.

Tab. 6. Verpuppungsradius und dazugehörige Verpuppungstiefe [cm] von *R. cerasi*

Larve Nr.	Verpuppungsradius [cm]	Verpuppungstiefe [cm]
1	kein Wiederfund	
2	kein Wiederfund	
3	2,0	0,9
4	kein Wiederfund	
5	kein Wiederfund	
6	1,3	1,9
7	kein Wiederfund	
8	1,0	2,4
9	2,4	2,7
10	1,5	2,6

3.1.2.4 Versuche zur Wirksamkeit eines Neempräparates NeemAzal-T/S

Einfluss von NeemAzal-T/S auf die Lebensdauer und Reproduktion adulter *R. cerasi*

Versuch 1

Die Verabreichung von NeemAzal-T/S an adulte Fliegen über das Futter führte zu deutlichen Einschränkungen der Fekundität der Weibchen. Die Effekte waren dosisabhängig. Bei einer NeemAzal-T/S-Gabe im Futter von 0,55 % und 1 % kam es im Vergleich zur Kontrolle zu einer signifikanten Abnahme der Summe der abgelegten Eier, der Dauer der Eiablage, der Eizahl pro Tag und Weibchen sowie zu einer schnelleren Beendigung der Eiablage (KRUSKAL & WALLIS). Die Lebensdauer der Weibchen, die mit der hohen Dosis gefüttert wurden, war im Vergleich zu den geringeren Dosierungen und zur Kontrolle geringer. Dieser Unterschied war nicht signifikant (KRUSKAL & WALLIS). Im Beginn der Eiablage war zwischen den einzelnen Versuchsvarianten kein deutlicher Einfluss des Neems feststellbar. Die Parameter zur Beurteilung des Einflusses des Wirkstoffes sind als Mittelwerte pro Weibchen in Tab. 7 dargestellt. Den Zeitverlauf der Eiablage pro Behandlungsvariante zeigt Abb. 16. Dafür wurden jeweils für 4 Tage die Eisummen gebildet.

Tab. 7: Vergleich verschiedener Parameter der Lebensdauer und Eiablage von *R. cerasi* nach Neem-Applikation (NeemAzal-T/S) in verschiedenen Konzentrationen (Anteil Futter Trockengewicht)

Mittelwerte pro Weibchen Neemkonzentration	Alter Weibchen [d]	Summe Eier	Beginn Eiablage [d]	Ende Eiablage [d]	Dauer Eiablage [d]	durchschnittl. Anzahl Eier/Tag
Kontrolle	40,5	171,5	11,3	37,0	26,7	6,8
0,01%	46,0	130,3	11,7	34,8	24,0	4,7
0,10%	46,5	132,5	14,0	35,2	22,0	5,6
0,55%	34,5	10,5	5,5	15,2	10,2	0,7
1,00%	30,0	10,2	9,4	11,8	3,2	1,9

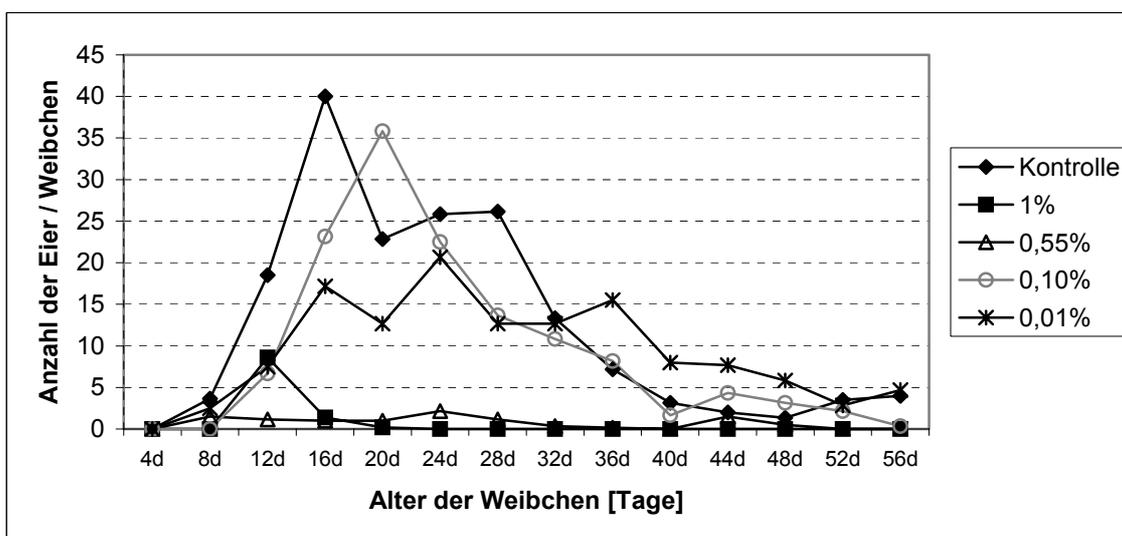


Abb. 16: Anzahl der pro Weibchen abgelegten Eier in Abhängigkeit von der Neem-Applikation (NeemAzal-T/S) in verschiedenen Konzentrationen (Anteil Futter Trockengewicht)

Versuch 2

Im zweiten Versuch mit NeemAzal-T/S wurden neben den wirksamen Konzentrationen von 1 % und 2 % im Futter Behandlungsvarianten eingestellt, bei dem der Wirkstoff nur über einen begrenzten Zeitraum gegeben wurde, über 2 Tage ab dem Schlupf, bis zur Eiablage und ab der Eiablage. In der Applikation höherer Neemkonzentrationen bestätigte sich das Ergebnis vom ersten Versuch. Die Gabe von 1 % NeemAzal-T/S im Gesamtzeitraum bewirkte eine signifikante Abnahme der Summe der pro Weibchen gelegten Eier und der Dauer der Eiablage sowie eine signifikant frühere Einstellung der Eiablage (KRUSKAL & WALLIS). Diese Wirkung wurde durch eine 2 %ige Neemapplikation nicht signifikant verstärkt. Im Gegensatz zum ersten Versuch unterschied sich die Eizahl pro Tag und Weibchen nicht zwischen den Ansätzen. Hierbei ist zu beachten, dass in Versuch 1 deutlich mehr Eier gelegt wurden. Im ersten Versuch starben die Weibchen mit Neembehandlungen von 0,55 % und 1 % früher, was jedoch nicht signifikant war. Im zweiten Versuch wurde dieser Unterschied deutlicher. Tab. 6 zeigt die Parameter des Neemeinflusses analog zu Tab. 8. In Abb. 17 ist der Eiablageverlauf wiederum im 4-tägigem Abstand graphisch dargestellt.

Tab. 8: Vergleich verschiedener Parameter der Lebensdauer und Eiablage von *R. cerasi* nach Neem-Applikation (NeemAzal-T/S) in verschiedenen Konzentrationen (Anteil Futter Trockengewicht) und Applikationsdauer

Mittelwerte pro Weibchen Neemkonzentration	Alter Weibchen [d]	Summe Eier	Beginn Eiablage [d]	Ende Eiablage [d]	Dauer Eiablage [d]	durchschnittl. Anzahl Eier/Tag
Kontrolle	50,8	64,0	13,5	49,5	37,0	1,7
1,0 %	26,8	3,4	12,8	18,8	7,0	1,0
2,0 %	27,8	4,4	11,7	16,7	3,6	2,9
2 Tage ab Schlupf 1,0 %	50,6	81,8	12,8	50,6	38,8	2,1
bis zur Eiablage 1,0 %	37,3	28,5	24,0	39,7	12,5	1,5
ab Eiablage 1,0 %	50,4	17,6	12,4	36,8	25,4	1,3

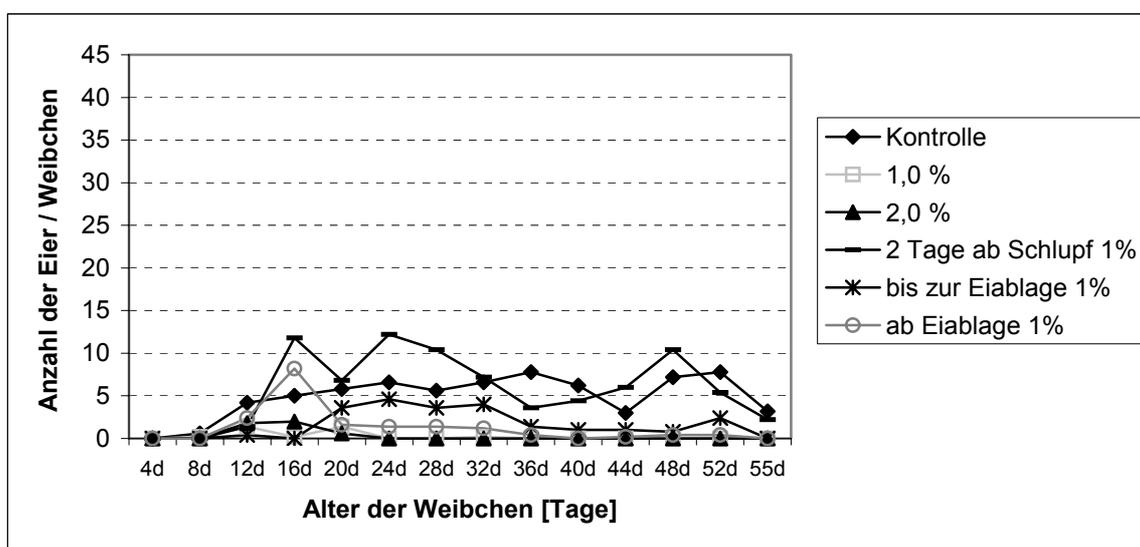


Abb. 16: Anzahl der pro Weibchen abgelegten Eier in Abhängigkeit von der Neem-Applikation (NeemAzal-T/S) in verschiedenen Konzentrationen (Anteil Futter Trockengewicht) und Applikationsdauer

Für beide Versuche lässt sich zusammenfassend sagen, dass eine NeemAzal-T/S-Konzentration im Trockenfutter ab ca. 0,5 % eine deutliche Reduktion der Fekundität und der Lebensdauer bewirkt. Eine kurzzeitige Applikation des Wirkstoffes genügt nicht.

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung, insbesondere Ableitung von Vorschlägen für Maßnahmen, die durch BMVEL weiter verwendet werden können

Die in den 1,5 Jahren erzielten Ergebnisse zeigen, dass entomopathogene Nematoden ein beträchtliches Bekämpfungspotential gegen die Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* besitzen. Für eine endgültige Beurteilung sind jedoch weitere Versuche, insbesondere Freilandversuche unter Praxisbedingungen dringend notwendig. Um die Umsetzbarkeit eines möglichen Verfahrens beurteilen zu können, müssten dabei Faktoren ermittelt und eingestellt werden, die die Wirksamkeit der Nematoden beeinflussen können. Das wären z.B. Bodenfeuchtigkeit, Persistenz der Nematoden im Zusammenhang mit der Dauer des Larvenfalls im Freiland, Bewuchs der Flächen sowie Bewirtschaftungsform der Anlage. Außerdem wären Untersuchungen zur Populationsbiologie der Kirschfruchtfliege, wie beispielsweise Populationsschätzungen im Zusammenhang mit der Erfassung des Befalls vor und nach einer Behandlung, die Ermittlung der natürlichen Mortalität des Schädlings sowie die Abschätzung eines möglichen Zuflugs von benachbarten Wirtspflanzen, wichtig. Unter Beachtung wirtschaftlicher Aspekte sollten weitere Labor- sowie Freilandversuche mit Dosierungen < 50 Nematoden/cm² durchgeführt werden. Außerdem ist es wichtig, genauer zu klären, in welchem Maße und unter welchen Bedingungen adulte Kirschfruchtfliegen unter Labor- und Freilandbedingungen während des Schlupfes im Boden von entomopathogenen Nematoden befallen werden.

Für die Entwicklung eines praxisreifen Verfahrens zur Anwendung entomopathogener Nematoden bedarf es eines mindestens 2 bis 3 jährigen Folgeprojektes.

4 Zusammenfassung

In der Projektlaufzeit vom 03.06.2002 bis zum 31.12.2003 wurden Versuche zur Wirkung entomopathogener Nematoden gegen die Kirschfruchtfliege im Labor, Halbfreiland und Freiland durchgeführt. Die verwendeten Nematodenarten und -stämme waren in beiden Untersuchungsjahren *Steinernema bicornutum*, *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China, *S. feltiae* und *Heterorhabditis bacteriophora*. 2003 kamen zusätzlich 8 verschiedene Nematodenisolate aus Bodenproben von Befallsgebieten sowie 3 türkische Stämme beider Gattungen für Laborversuche hinzu. Dabei wurden die Arten *S. affine* und *H. megidis* aus den Bodenproben erstmalig getestet. Das Ziel der Laborversuche war es, die wirksamsten Nematodenarten und -stämme sowohl gegen die Kirschfruchtfliegenlarven und -puppen als auch die Adulten zu ermitteln. Faktoren, die im Labor in die Untersuchungen einbezogen werden konnten, waren Dosierung der Nematoden, Temperatur, Bodentyp (Sand, Erde vom Versuchsfeld des Instituts, LUFA-Standardböden) sowie verschiedene Versuchsgefäße, d.h. Expositionsszenarien. Um den Bedingungen im Freiland mehr zu entsprechen und

Ergebnisse ohne Einhaltung der obligatorischen Diapause zu erhalten, wurden in beiden Untersuchungsjahren Halfreilandversuche in Plastikobstkisten mit gewachsenem Boden vom Institutsgelände mit den im Labor erfolgreichsten Nematoden gegen die Larven durchgeführt. Die Beurteilung der Wirkung erfolgte dabei nach mindestens 2 Wochen Exposition durch Ausgraben der in Netzen eingesetzten Kirschfruchtfliegenlarven sowie der mikroskopischen Befallsauswertung. Für die Versuche im Freiland 2002 und 2003 wurden Nematoden und Kirschfruchtfliegenlarven auf der Kirschanlage des Instituts entlassen. Die Ermittlung des Befalls erfolgte bzw. wird indirekt über die schlüpfenden adulten Tiere im Folgejahr mittels Boden-Fotoelektoren erfolgen. Somit konnte in die Auswertungen innerhalb der Projektlaufzeit nur der Freilandversuch einbezogen werden, der 2002 angesetzt wurde.

Die Nematodenarten *S. feltiae* und *S. carpocapsae*, von letzterer beide eingesetzten Stämme, erwiesen sich im Labor gegen die Larven der Kirschfruchtfliege als am wirksamsten. Es wurden bei sehr engem Zusammentreffen der Larven und Nematoden in den Kulturplatten mit Quarzsand Befallsraten mit der Standarddosierung von 50 Nematoden/cm² im Mittel bis 91 % und Wirkungsgrade bis 96 % erreicht. Eine höhere Dosierung führte nicht zu einem signifikant höheren Befall. Auch erwiesen sich die beiden Inkubationstemperaturen von 20 und 24°C nicht als befallsrelevant. Die ebenfalls in den Kulturplatten getestete Infektiosität der Nematoden gegenüber den Puppen zeigte, dass Kirschfruchtfliegenpuppen nicht anfällig sind. In den Petrischalen mit einem größeren Aktionsvolumen für Wirt und Parasit kam es in Quarzsand bei der erfolgreichsten Nematodenart *S. feltiae* zu einem Befall von 96 % und einem Wirkungsgrad von 98 %. Im Vergleich dazu war die Infektion in Erde mit 72 % geringer. Der Wirkungsgrad betrug hier ebenfalls 72 %. Der Vergleich verschiedener Bodentypen zeigte unter Laborbedingungen keine Befallsunterschiede in Abhängigkeit vom Bodentyp. Obwohl in den Plastikdosen im Verhältnis zum Bodenvolumen weniger Nematoden mit der Standarddosierung von 50 Nematoden/cm² zur Verfügung standen als in den vorher beschriebenen Versuchen, kam es zu Befallsraten im Durchschnitt bis zu 88 % und Wirkungsgraden bis 89 %. Dosierungen unter 25 Nematoden/cm² erwiesen sich als nicht mehr ausreichend. Wiederum ergab *S. feltiae* die besten Werte, unterschied sich aber meist nicht signifikant von *S. carpocapsae*. Trotz nicht nachgewiesener Unterschiede im Befall in verschiedenen Bodentypen im Labor ist dieser Faktor unter praxisnäheren Bedingungen weiterzuverfolgen. Mit den Untersuchungen der Nematodenarten und -stämme aus Bodenproben von Befallsgebieten und aus der Türkei wurden keine besseren Befallswerte und Wirkungsgrade erzielt als die eben beschriebenen. Aus diesem Grund ist eine Konzentration auf die bereits in größerem Maßstab produzierbaren untersuchten Stämme von *S. feltiae* und *S. carpocapsae* zu empfehlen.

Wie lange Nematoden im Boden wirksam sind, konnte ebenfalls nur unter Laborbedingungen geklärt werden. Der Versuch zeigte eine mindestens zweiwöchige gleichbleibend hohe Infektiosität von *S. feltiae*. Obwohl nach Laborversuchen festgestellt wurde, dass Nematoden nicht in der Lage sind, intakte Puppenhüllen zu passieren, ist davon auszugehen, dass ein gewisses Infektionspotential erhalten bleibt. Durch sekundäre Effekte nach einem Nematodenbefall, wie z.B. Pilze oder Bakterien, kann die Puppenhülle zerstört und die

infektiösen Larvenstadien der Nematoden für weitere Infektionen zur Verfügung stehen. In den Versuchen mit Erde vom Versuchsfeld und den LUFA-Standardböden wurden meist zerstörte Puppenhüllen gefunden.

Die Frage, ob die manuelle Isolation der Larven aus den Kirschen den Befall der Larven in den drei Versuchsabschnitten, Labor, Halbfreiland und Freiland, beeinflusst hat, wäre nur mit einem Freilandversuch unter Praxisbedingungen abzuklären. Im Labor konnten keine signifikanten Unterschiede im Befall zwischen isolierten und ausgewanderten Larven festgestellt werden.

Um ggf. an einer anderen Stelle des Lebenszyklus der Kirschfruchtfliege regulierend eingreifen zu können, wurden auch Versuche mit schlüpfenden adulten Kirschfruchtfliegen durchgeführt. Die Befallszahlen lagen mit 40 % durch *S. feltiae* deutlich unter denen der Larven. Der durchgeführte Versuch kann jedoch nur als erster Ansatz zur Klärung dieser Frage betrachtet werden.

Im Halbfreiland mit gewachsenem Boden vom Versuchsfeld des Instituts konnten ebenfalls *S. feltiae* und *S. carpocapsae* mit 72 % bzw. 86 % Befall als am wirksamsten ermittelt werden. Die Befallsraten und Wirkungsgrade lagen unter denen im Labor, schwanken jedoch stark zwischen den beiden Untersuchungsjahren. Dieser Versuch deutet trotz den eben dargestellten Ergebnissen der Laborexperimente, die unter idealisierten Bedingungen stattfanden, auf einen Einfluss des Bodens, dessen Zusammensetzung und der möglichen Präsenz natürlicher Feinde der Nematoden auf deren Wirksamkeit hin.

Im Freilandversuch war wiederum *S. feltiae* mit einem Wirkungsgrad von 88 % am erfolgreichsten. Bei diesem Versuch war es nicht möglich, den Befall genauer zu definieren, da die natürliche Mortalität der Kirschfruchtfliegen im Boden nicht bekannt ist. In diesem Versuch wurde deutlich, dass eine hohe Sterblichkeit der Larven oder Puppen im Boden vorliegen muss, da auch in der Kontrolle nur rund 11 % der eingesetzten Larven als Adulte wiedergefangen werden konnten. Die Ergebnisse des Versuchsteils im Freiland können sich nur auf einen Versuch beziehen, da aufgrund der obligatorischen Diapause der Kirschfruchtfliege der zweite Versuch erst im Frühjahr 2004 auswertbar ist.

Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde gezeigt, dass entomopathogene Nematoden und insbesondere die Arten *Steinernema feltiae* und *S. carpocapsae* ein großes Potential zur biologischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* besitzen. Erst weiterführende Forschungsarbeiten können eine Umsetzung in die Praxis gewährleisten.

Die Fütterungsversuche mit NeemAzal-T/S führten zu dem Resultat, dass eine Wirkstoffkonzentration im Trockenfutter ab ca. 0,5 % eine deutliche Reduktion der Fekundität und der Lebensdauer der Fliegen bewirkt. Eine kurzzeitige Applikation des Wirkstoffes ist dafür nicht ausreichend. Weitere Untersuchungen, z.B. an eingetzten Bäumen und der Spritzung von Zuckerlösung mit dem Wirkstoff wären notwendig, um Aussagen über eine Praxisrelevanz vornehmen zu können.

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; ggf. mit Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen

Es lagen im abgelaufenen Versuchszeitraum keine wesentlichen Änderungen im Arbeits-, Zeit- und Finanzierungsplan vor. Die geplanten Arbeiten teilten sich in zwei Teilprojekte, Teilprojekt a und b. Das Literaturstudium von Teilprojekt a stellte eine begleitende Tätigkeit während der gesamten Projektlaufzeit dar. Das Ziel des Teilprojektes b war es, grundlegende Kenntnisse zur Regulierung der Kirschfruchtfliege mittels entomopathogener Nematoden zu erarbeiten. Dieses Ziel wurde grundsätzlich erfüllt. Geringfügige methodische Änderungen in der Gewinnung der Larven der Kirschfruchtfliege führten zu einer verbesserten Verfügbarkeit des Versuchsmaterials und Durchführbarkeit der Versuche. Die Beobachtungen zum Eindringen der Nematoden in die Wirtstiere stellten eine Nebenfrage dar. Wichtiger erschienen die durchgeführten Untersuchungen zur Auswanderung der Nematoden aus dem befallenen Wirt als Beurteilungskriterium für eine Infektion weiterer Wirte. Diese Frage ist für eine Einschätzung von möglicherweise notwendigen wiederholten Behandlungen mit Nematoden im Freiland und damit für eine Beurteilung der Umsetzbarkeit der Ergebnisse in die Praxis von Bedeutung. Zusätzlich wurde ein Versuch zur Anfälligkeit der Larven der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata* gegenüber entomopathogenen Nematoden in das Projekt einbezogen. Damit sollte geklärt werden, ob die polyvoltine und gut im Labor vermehrbare Mittelmeerfruchtfliege als Modellorganismus für *Rhagoletis cerasi* herangezogen werden kann.

Außerdem sollten Grundlagen zum möglichen Einsatz eines Neempräparates zur Kirschfruchtfliegenbekämpfung geschaffen werden. Dieses Ziel konnte ebenfalls erreicht werden, jedoch waren Versuche mit adulten Fliegen, die aus Puppen nach Beendigung der Diapause gewonnen wurden, nur eingeschränkt möglich. Die Anzahl der gewonnenen Puppen war durch frostbedingte Ernteauffälle im Frühjahr 2002 in Thüringen, Nordhessen und der Fränkischen Schweiz sowie durch zu geringen Befall der Kirschen begrenzt. Daher konnte nur der Versuch zum Einfluss von NeemAzal-T/S auf die Lebensdauer und Reproduktion adulter *R. cerasi* durchgeführt werden. Der geplante Freilandversuch zur Wirkung mit NeemAzal-T/S konnte durch die im Sommer 2003 vorherrschenden extremen Witterungsbedingungen nicht durchgeführt werden. Durch die starke Hitze und Trockenheit kam es zu einer sehr schnellen Reife der Kirschen und somit einer Verkürzung des Versuchszeitraumes, auch unter Einbeziehung von Standorten, an denen die Kirschreife normalerweise später in der Saison stattfindet. Da der Schwerpunkt des Projektes auf der

Anwendung der entomopathogenen Nematoden lag, wurden diese Versuche vorrangig bearbeitet.

Zu weiterführenden Fragestellungen und weiteren notwendigen Arbeiten wurde bereits in dem Abschnitt 3.2, „Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse, Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung“, eingegangen. Aus den vorliegenden Untersuchungen ist abzuleiten, dass entomopathogene Nematoden eine Möglichkeit zur Bekämpfung der Kirschfruchtfliege darstellen. Die endgültige Beurteilung dieses Bekämpfungsvermögens ist erst möglich, wenn die in Abschnitt 3.2 aufgeführten Fragen zur Anwendung unter Praxisbedingungen geklärt werden. Auch besitzt NeemAzal-T/S bei der oralen Aufnahme ein Bekämpfungspotential durch die Auswirkungen auf die Reproduktion und Lebensdauer der Fliegen. Zu dieser Fragestellung sind ebenfalls weitere Untersuchungen unter Labor- und Freilandbedingungen (z.B. Käfigversuche) sowie praxisgerechte Versuche notwendig.

6 Literaturverzeichnis

ADÁN A, SORIA J, DEL ESTAL P, SÁNCHEZ-BRUNETE C & VIÑUELA E (1998): Differential action of two azadirachtin formulations on the developmental stages of *Ceratitis capitata*. Bol. San. Veg. Plagas 24: 1009-1018.

ALUJA M & BOLLER EF (1992 a): Host marking pheromone of *Rhagoletis cerasi*: field deployment of synthetic pheromone as a novel cherry fruit fly management strategy. Entomologia Experimentalis et Applicata 65: 141-147.

ALUJA M & BOLLER EF (1992 b): Host marking pheromone of *Rhagoletis cerasi*: foraging behavior in response to synthetic pheromonal isomers. J. Chem. Ecol. 18: 1299-1311.

BACKHAUS GF (1994): Biological control of *Otiorhynchus sulcatus* F. by use of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis*. Acta Horticulturae 364: 131-142.

BARTH M (2002): Nematodenprodukte für den biologischen Pflanzenschutz. DGaaE-Nachrichten 16 (1): 14.

BEAVERS JB & CALKINS CO (1984): Susceptibility of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) to Steinernematid and Heterorhabditid nematodes in laboratory studies. Env. Entomol. 13 (1): 137-139.

BOLLER EF (1966a): Beitrag zur Kenntnis der Eiablage und Fertilität der Kirschenfliege *Rhagoletis cerasi* L. Mitt. Schweiz. Ent. Ges.. 38 (3 und 4): 193-202.

BOLLER EF (1966b): Der Einfluss natürlicher Reduktionsfaktoren auf die Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* L. in der Nordwestschweiz, unter besonderer Berücksichtigung des Puppenstadiums. Schweizerische Landwirtschaftliche Forschung 5: 153-210.

BOLLER EF (1968): An artificial oviposition device for the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*. J. Econ. Entomol. 61 (3): 850-852.

BOLLER EF (1984): *Rhagoletis cerasi* and *Ceratitidis capitata*. Handbook of Insect Rearing. Vol. 2: 135-144. PRITAM SINGH & RF MOORE (eds.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

BOLLER EF (1989): *Rhagoletis* spp. In: World Crop Pests, Volume 3B, Fruit Flies, Their Biology, Natural Enemies and Control. A.S. Robinson & G. Hooper (Eds)., 119-127.

BOLLER EF & ALUJA M (1992): Oviposition deterring pheromone in *Rhagoletis cerasi* L. Biological activity of 4 synthetic isomers and HMP discrimination of two host races as measured by an improved laboratory bioassay. J. Appl. Entomol. 113: 113-119.

BOLLER EF, KATSOYANNOS BI & HIPPE C (1998): Host races of *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae): Effect of prior adult experience on oviposition site preference. J. Appl. Ent. 122 : 231-237.

CASTILLO M-A, MOYA P, HERNANDEZ E & PRIMO-YUFERA E (2000): Susceptibility of *Ceratitidis capitata* WIEDEMANN (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. Biological Control 19: 274-282.

DE LA ROSA W, LOPEZ FL & LIEDO P (2002): *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 95 (1): 36-43.

DI ILIO V, CHRISTOFARO M, MARCHINI D, NOBILI P & DALLAI R (1999): Effects of neem compound on the fecundity and longevity of *Ceratitidis capitata* (Diptera:Tephritidae). J. Econ. Entomol. 92 (1): 76-82.

EHLERS RU & PETERS A (1998): Control of grubs on sports turf. Rasen Turf Gazon 29: 60-67.

EKESI S, MANIANIA NK & LUX SA (2002): Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology 12: 7-17.

EKESI S, MANIANIA NK & LUX SA (2003): Effect of soil temperature and moisture on survival and infectivity of *Metarhizium anisopliae* to four tephritid fruit fly puparia. J. Invertebr. Pathol. 83: 157-167.

EPP P (1998): Untersuchungen zum Einsatz von Gelbtafeln zur Prognose und Befallsminderung der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi*. Obstbauliche Versuchsberichte Baden-Württemberg, 12. Jahrg.. Hrsg. Ministerium Ländlicher Raum Bad.-Württ.

FAURIEL J & REYNAUD L (1998): La lutte contre la mouche de la cerise *Rhagoletis cerasi* en agriculture biologique. Journées Techniques Nationales Arboriculture: 39-52.

FIMIANI P (1982): Multilarval infestation by *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Trypetidae) in cherry fruits. Proc. CEC/IOBC Int. Symp.. Athens/Greece 16-19 Nov. 1982: 52-59.

FRENZEL M & DETTNER K (1989): Biologie und Struktur eines männchenspezifischen Duftstoffes bei der gallbildenden Bohrflye *Urophora cardui*. Mitt. Dtsch. Ges. f. allg. & angew. Entomologie 7: 132-135.

FRENZEL M, DETTNER K, BOLAND W & ERBES P (1990): Identification and biological significance of 4-methyl-3Z,5-hexadienoic acid produced by males of the gall-forming tephritids *Urophora cardui* (L.) and *Urophora stylata* (Fab.) (Diptera: Tephritidae). Experientia 46: 542-547.

GAUGLER R (1988): Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. Agric. Ecosyst. Environm. 24: 351.

GAZIT Y, RÖSSLER Y & GLAZER I (2000): Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). Biocontrol Science Technology 10: 157-164.

GEIPEL KH (2001): Bekämpfung der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* L., Versuchsbericht, Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau.

GOUGE DH & HAGUE NGM (1995): The susceptibility of different species of sciarid flies to entomopathogenic nematodes. J. Helminthol. 69: 313-318.

GUT L, PELZ K & WISE J (2003): New management strategies and controls for cherry fruit fly and apple maggot. Joint Annual Meeting of the Entomological Societies of Canada and British Columbia, Kelowna, 1-5 November 2003, Abstract: 41.

HAISCH A (1975): Zur Puppendiapause der Kirschenfliege, *Rhagoletis cerasi* L.. Z. angew. Ent. 79: 1-11.

HARDIN B (2000): Biodegradable decoy reduces insecticide use. *Agricultural Research*, January 2000: 12-14.

HOFFMEISTER TS (1988): Biologie der Kirschfruchtfliege (*Rhagoletis cerasi* L.), verwandter Tephritiden und ihrer Parasiten Dipl. Thesis, Univ. Kiel, Kiel.

HOFFMEISTER TS (1992): Aspekte der Partnerfindung, Konkurrenz und Parasitierung frugivorer Bohrfliegen (Diptera: Tephritidae) Diss. Thesis, Univ. Kiel, Kiel.

HOFFMEISTER TS & BOLLER EF (2003): Host discrimination and marking pheromones in cherry fruit flies revisited: there is more to it than just a mark. Kurzfassung Posterbeitrag. Entomologentagung der DGaaE. Halle (Saale). 24.-28.März 2003: 147.

HURTER J, BOLLER EF, STAEDLER E & BLATTMANN B et al. (1987) Oviposition-detering pheromone in *Rhagoletis cerasi* L.: Purification and determination of the chemical constitution. *Experientia*, 43: 157-164.

KATSOYANNOS BI (1976): Female attraction to males in *Rhagoletis cerasi*. *Environ. Entomol.* 5: 474-476.

KATSOYANNOS BI, BOLLER EF & REMUND U (1977): Beitrag zur Entwicklung von Methoden für die Massenzucht der Kirschenfliege, *Rhagoletis cerasi* L., auf künstlichen Substraten. *Mitt. Schweiz. Ent. Gesellsch.* 50: 25-33.

KATSOYANNOS BI, BOLLER EF & BENZ G (1986): Das Verhalten der Kirschenfliege, *Rhagoletis cerasi* L., bei der Auswahl der Wirtspflanzen und ihre Dispersion. *Mitt. Schw. Ent. Ges.* 59: 315-335.

KATSOYANNOS BI, BOLLER EF & BENZ G (1987): Zur Reproduktionsbiologie der Kirschenfliege *Rhagoletis cerasi* L.: Präovipositionsperiode, Tagesperiodizität und Einfluss der Kopulation auf die Fekundität und Fertilität einzeln oder in Gruppen gehaltener Weibchen (Diptera: Tephritidae). *Mitt. Schweiz. Ent. Gesellsch.* 60: 3-13.

KATSOYANNOS BI, PAPADOPOULOS NT & STAVRIDIS D (2000) Evaluation of trap types and food attractants for *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 93: 1005-1010.

KLEIN MG (1990): Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Gaugler R, Kaya HK (eds.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Ann Arbor, Boston: 195-214.

KNEIFL V, PAPPSTEIN F & KNOURKOVA J (1997): Dispersion of cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi* L.). Vedecke Prace Ovocnarske 15: 89-92.

LABORDA R, BARGUES L, NAVARRO C, BARAJAS O, ARROYO M, GARCIA EM, MONTORO E, LLOPIS E, MARTINEZ A & SAYAGUES JM (2003): Susceptibility of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema* spp. ("Biorend C"). IOBC wprs Bulletin 26 (6): 95-97.

LEZAMA-GUTIERREZ R, TRUJILLO-DE LA LUZ A, MOLINA-OCHOA J, REBOLLEDO-DOMINGUEZ O, PESCADOR AR, LOPEZ-EDWARDS M & ALUJA M (2000): Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Laboratory and field trials. J. Econ. Entomol. 93 (4): 1080-1084.

LINDEGREN JE (1990): Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. Vth Colloq. on Invertebrate Pathology and Microbial Control (ICIP) 1990, Adelaide – incorporating: The XXIII Annual Meeting of the Soc. For Invertebrate Pathology (SIP). Proceedings and Abstracts. Adelaide, Australia 20-24 Aug. 1990: 223.

LINDEGREN JE, WONG TT & McINNIS DO (1990): Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. Env. Entomol. 19 (2): 383-386.

NACHTIGALL G (1991): Untersuchungen zur Bekämpfung kryptisch lebender Insekten mit entomopathogenen Nematoden unter besonderer Berücksichtigung von *Synanthedon myopaeformis* BORKH. (Lep., Sesiidae). Diss. Thesis, TH Darmstadt.

NEUBAUER C (1997): Mit Nematoden gegen Dickmaulrüssler. Gärtnerbörse 15: 854-857.

PATTERSON STARK JE & LACEY LA (1999): Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. J. Invert. Pathol. 74: 206-208.

PECK SL & MCQUATE GT (2000): Field tests of environmentally friendly malathion replacements to suppress wild mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) populations. J. Econ. Entomol. 92: 280-289.

POINAR GO & HISLOP RG (1981): Mortality of mediterranean fruit fly adults (*Ceratitis capitata*) from parasitic nematodes (*Neoplectana* and *Heterorhabditis* spp.). IRCS Medical Science: Biochemistry, Developmental Biology and Medicine, Environmental Biology and Medicine, Microbiology, Parasitology and Infectious Diseases 9: 6-11.

PROKOPY RJ, BOLLER EF (1970): Artificial eggging systems for the European cherry fruit fly. J. Econ. Entomol. 63 (5): 1413-1417.

PROKOPY RJ, WRIGHT SE, BLACK JL, HU XP & MCGUIRE M (2000): Attracticidal spheres for controlling apple maggot flies: commercial-orchard trials. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97: 293-299.

RAPTOPOULOS D, HANIOTAKIS G, KOUTSAFTIKIS A, KELLY D & MAVRAGANIS V (1995): Biological activity of chemicals identified from extracts and volatiles of male *Rhagoletis cerasi*. *J. Chem. Ecol.* 21: 1287-1297.

REID AP, HOMINICK WM & BRISCOE BR (1997): Molecular taxonomy and phylogeny of entomopathogenic nematode species (Rhabditida: Steinernematidae) by RFLP analysis of the ITS region of the ribosomal DNA repeat unit. *Syst Parasitol.* 37: 187-193.

REMUND U (1971): Anwendungsmöglichkeiten einer wirksamen visuellen Wegwerffalle für die Kirschfruchtfliege (*Rhagoletis cerasi* L.). *Schw. Z. Obst-Weinbau* 107: 196-205.

REMUND U & BOLLER EF (1975): Entwicklung und Anwendungsmöglichkeiten einer neuen visuellen Falle für die Kirschenfliege, *Rhagoletis cerasi* L. *Z. Angew. Ent.* 77: 348-353.

RUSS K, BOLLER EF, VALLO V, HAISCH A & SEZER S (1973): Development and application of visual traps for monitoring and control of populations of *Rhagoletis cerasi* L. *Entomophaga* 18 (1): 103-116.

SCHWARZ D (2000) Wirtsrassendifferenzierung bei der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* (L.). Dipl. Thesis, Univ. Kiel, Kiel.

SIMSER D & ROBERTS S (1994): Suppression of strawberry root weevil, *Otiorhynchus ovatus*, in cranberries by entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Nematologica* 40: 456-462.

SMITS PH (1992): Control of white grubs, *Phyllopertha horticola* and *Amphimallon solstitialis* in grass with heterorhabditid nematodes. In: Use of pathogens in scarab pest management. Intercept Andover, UK: 229-235.

SMITS PH, WIEGERS GL & VLUG HJ (1994): Selection of insect parasitic nematodes for biological control of the garden chafer, *Phyllopertha horticola*. *Entomol exp. Appl.* 70: 77-82.

STARK JEP & LACEY LA (1999): Susceptibility of Western Cherry Frit Fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *J. Invert. Pathol.* 74: 206-208.

THEINERT C & DICKLER E (2000): Zum Orientierungsverhalten der Kirschfruchtfliege, *Rhagoletis cerasi* L., eine Literaturübersicht. *Mittlg. Biol. Bundesanst.* 376: 271-272.

VAN RANDEN EJ & ROITBERG BD (1998a): The effect of a neem (*Azadirachta indica*) based insecticide on survival and development of juvenile Western cherry fruit fly (*Rhagoletis indifferens*) (Diptera:Tephritidae). Can. Entomol. 130 (6): 869-876.

VAN RANDEN EJ & ROITBERG BD (1998a): Effect of a neem (*Azadirachta indica*) based insecticide on oviposition deterrence, survival, behaviour and reproduction of adult Western cherry fruit fly (*Rhagoletis indifferens*) (Diptera:Tephritidae). J. Econ. Entomol. 91: 123-131.

VOGT H (2002): Expertenkolloquium Kirschfruchtfliege. Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst 54: 77-79.

WILSON M, NITZSCHE P & SHEARER PW (1999): Entomopathogenic nematodes to control black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae) on strawberry. J. Econ. Entomol. 92: 651-657.

WYSS E & ZUBER M (1998): Problem Kirschfruchtfliege - ein Fall für Fallen? Ökologie und Landbau 26: 44-45.

YEE WL & LACEY LA (2003): Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera:Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. Biological Control 27: 349-356.

www.e-nema.de: homepage der Firma e-nema GmbH