

# Biologische Bekämpfung des Maiswurzelbohrers (*Diabrotica virgifera virgifera*) mit entomoparasitischen Nematoden - Ein Rückblick über 5 Jahre Versuchstätigkeit

Andreas Kahrer<sup>1</sup>, Christina Pilz<sup>2</sup>, Alois Egarter<sup>1</sup>, Katharina Wechselberger<sup>1</sup>, Giselher Grabenweger<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Spargelfeldstraße 191, A-1220 Wien, Österreich

<sup>2</sup>Pessl Instruments GmbH; Werksweg 107, 8160 Weiz, Österreich

<sup>3</sup>Forschungsanstalt Agroscope; Ökologischer Pflanzenschutz; Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF; Reckenholz-Tänikon ART; Reckenholzstrasse 191, CH - 8046 Zürich, Schweiz

Korrespondenz: andreas.kahrer@ages.at

**Kurzfassung:** Zwischen 2009 und 2013 wurden zahlreiche Feldversuche ausgeführt, um Wirksamkeit und Verlässlichkeit unterschiedlicher Aufwandmengen des Handelsprodukts Dianem™, welches auf insektenparasitischen Nematoden der Art *Heterorhabditis bacteriophora* beruht, zu untersuchen. Künstliche Infektion der Maispflanzen mit jeweils 300 bis 500 MWB Eiern führten zum Schlupf von etwa 40 Käfern pro Pflanze und bildeten die Grundlage, um verlässliche Ergebnisse zu erzielen. Die Anwendung von Dianem verringerte die MWB Population unter optimalen Bedingungen zwar bis zu 60-70% - sie war jedoch nur mäßig wirksam bezüglich des Schutzes der Maiswurzeln. Um hohe Wirksamkeit zu erzielen, waren Aufwandmengen von 2 - 3 x 10<sup>9</sup> Nematoden/ha notwendig. Auch eine geeignete Ausbringungstechnik erwies sich als Voraussetzung für eine gute Wirksamkeit des Mittels.

**Schlüsselworte:** *Diabrotica virgifera* – *Heterorhabditis bacteriophora* – Biologische Bekämpfung – Aufwandmenge – künstliche Infektion

## Einleitung

Der Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera*, MWB) ist der gefährlichste Maisschädling im Südosten Österreichs. Seit dem Verbot von Neonikotinoiden herrscht erhöhter Bedarf an seiner nichtchemischen Bekämpfung. Entomoparasitische Nematoden der Art *Heterorhabditis bacteriophora* sind unter Labor- und Freilandbedingungen sehr virulent gegen MWB Larven (Töpfer et. al. 2005, 2010, Pilz et. al. 2009). Da diese aus arbeitstechnischen Gründen gemeinsam mit der Aussaat ausgebracht werden, müssen sie eine Zeitspanne von 4-6 Wochen ohne Wirtstier überdauern. In 5 jährigen Feldversuchen wurde daher die Wirksamkeit des Handelsprodukts Dianem™ bei unterschiedlichen Aufwandmengen überprüft.

## Material & Methode

### Zeitraumen und Versuchsflächen

Die Versuche erfolgten zwischen 2009 und 2011 im Rahmen des Deutschen *Diabrotica* Forschungsprogramms (Anonymus 2012) oder einer privaten Finanzierung in den Jahren 2012 und 2013. Die Versuchsflächen lagen in Deutsch Jahrndorf (17°-6'-4'' N und 48°-0'-3'' O), welches durch hohe natürliche MWB Populationen gekennzeichnet ist. Sommertemperaturen sind hoch, der jährliche Niederschlag schwankt zwischen 400 und 700 mm. Falls erforderlich, müssen die Maisfelder künstlich bewässert werden. Der Mais wurde in den Versuchsjahren häufig ohne Fruchtwechsel angebaut - bis zu 20 *Diabrotica*-Käfer je Maispflanze waren zu beobachten. Jedoch waren dabei keine ökonomischen Schäden zu beklagen - höchstwahrscheinlich infolge der künstlichen Bewässerung. Der Ertrag lag bei

etwa 13t/ha. Abhängig vom jeweiligen Jahr wird der Mais etwa zwischen dem 1. und dem 20. April angebaut. Vorversuche hatten gezeigt, dass der Eischlupf ca. am 20. Mai begann. Der Bodentyp im Versuchsgebiet ist zumeist Tschernosem.

### ***Künstliche Infektion der Maispflanzen***

Um gleichmäßigen Besatz der Maispflanzen mit MWB Larven zu gewährleisten, wurden Einzelpflanzen mit jeweils gleichen Mengen an Eiern künstlich infiziert. Diese waren von Weibchen abgelegt worden, welche im Vorsommer gefangen und im Labor zur Eiablage gebracht worden waren. Dazu wurden sie mit Wasser, Nährstoffen (Maiskolben, Kürbisstückchen, Hefezuckerteig) und mit leichter, sandiger Erde für die Eiablage versorgt. Nach dieser wurde das Substrat samt Eiern bei 6°C gelagert. Ungefähr am 6. Mai wurde es bei 25°C inkubiert. Unter diesen Bedingungen dauert es erfahrungsgemäß 17 Tage, bis die ersten Larven schlüpfen. Etwa am 20. Mai wurde es gut durchmischt und die Eizahl in 5 Stichproben ermittelt. Ausreichend grosse Portionen wurden danach in 20 cm Abstand zu 6 oder 12 Maispflanzen je Parzelle in etwa 10 – 15 cm Bodentiefe vergraben. Auf diese Weise wurden je nach Experiment bis zu 3000 Eier je Pflanze ausgebracht.

### ***Nematoden***

Die insektenparasitischen Nematoden gehören zur Art *Heterorhabditis bacteriophora* und sind im Handelsprodukt Dianem™ enthalten, welches durch die e-nema GmbH, Schwentental, Deutschland erzeugt wird. Sie wurden als Suspension ausgebracht – falls nicht anders angegeben. Die Aufwandmengen reichten von 1 - 3 Mrd. Infektionsstadien je ha. Das Mittel wurde mit der Aussaat ausgebracht: dazu dienten neben Tank und Dosiereinrichtung an der Sämaschine befestigte flexible Plastikschläuche, starre Edelstahlröhren oder sogenannte "Cultanschare". Dabei handelt es sich um eine Vorrichtung, welche für die Ausbringung von Flüssigdüngern durch LTZ Augustenberg in Deutschland entwickelt worden war. In allen Fällen wurde die Suspension direkt neben das Saatkorn appliziert.

### ***Versuchsglieder und Auswertung***

Jedes Experiment umfasste neben den „Nematodenvarianten auch eine mit *Clothianidin* [25 g a.i. / 50 000 Korn] behandelte und eine völlig unbehandelte Kontrolle. Die Parzellen maßen jeweils 200 m<sup>2</sup> und waren in randomisierter Blockverteilung in 5 facher Wiederholung angeordnet. Der Befall wurde durch Zählen geschlüpfter Käfer in Gazezelten, welche über infizierte Maispflanzen gestülpt worden waren, ermittelt, der Schaden hingegen durch Wurzelbonitur zu Ende Juli gemäß der "node injury scale" (Oleson 2005). Der Wirkungsgrad wurde nach Abbott errechnet.

### ***Angaben zu einzelnen Experimenten***

Im Experiment "Hutweide 2009" wurde der Wirkungsgrad einer Nematodensuspension von 2,6 Mrd. Nematoden/ha mit einer *Clothianidin* Saatgutbehandlung verglichen. Die künstliche Infektion erfolgte durch Ausbringung von 300 Eiern / Pflanze. Im Experiment "Karlhof 2013" hingegen wurden verschiedene Aufwandmengen einer Nematodensuspension (1,0 – 1,5, - 2,0 - 2,5 und 3,0 Mrd. Nematoden/ha) miteinander verglichen. Als Kontrollvariante diente Saatgutbeizung mit *Clothianidin*. Die künstliche Infektion erfolgte mit 450 Eiern je Pflanze.

## **Ergebnisse und Diskussion**

### ***Gepoolte Wirksamkeitsdaten***

Um geeignete Aufwandmengen für die Praxisanwendung von Dianem zu ermitteln, wurden zahlreiche Versuche unter unterschiedlichsten Bedingungen wie Temperatur, Niederschlag

Bewässerung, Bodenart, Aufwandmenge, Anbaudatum, .... etc. ausgeführt. Trotz der Verschiedenartigkeit der Verhältnisse werden im Folgenden sämtliche Wirksamkeitsdaten gemeinsam dargestellt, um einen besseren Überblick zu ermöglichen (Abb. 1). Bei dieser Methode können Trends sichtbar werden, die bei der Betrachtung von Einzelversuchen ver-

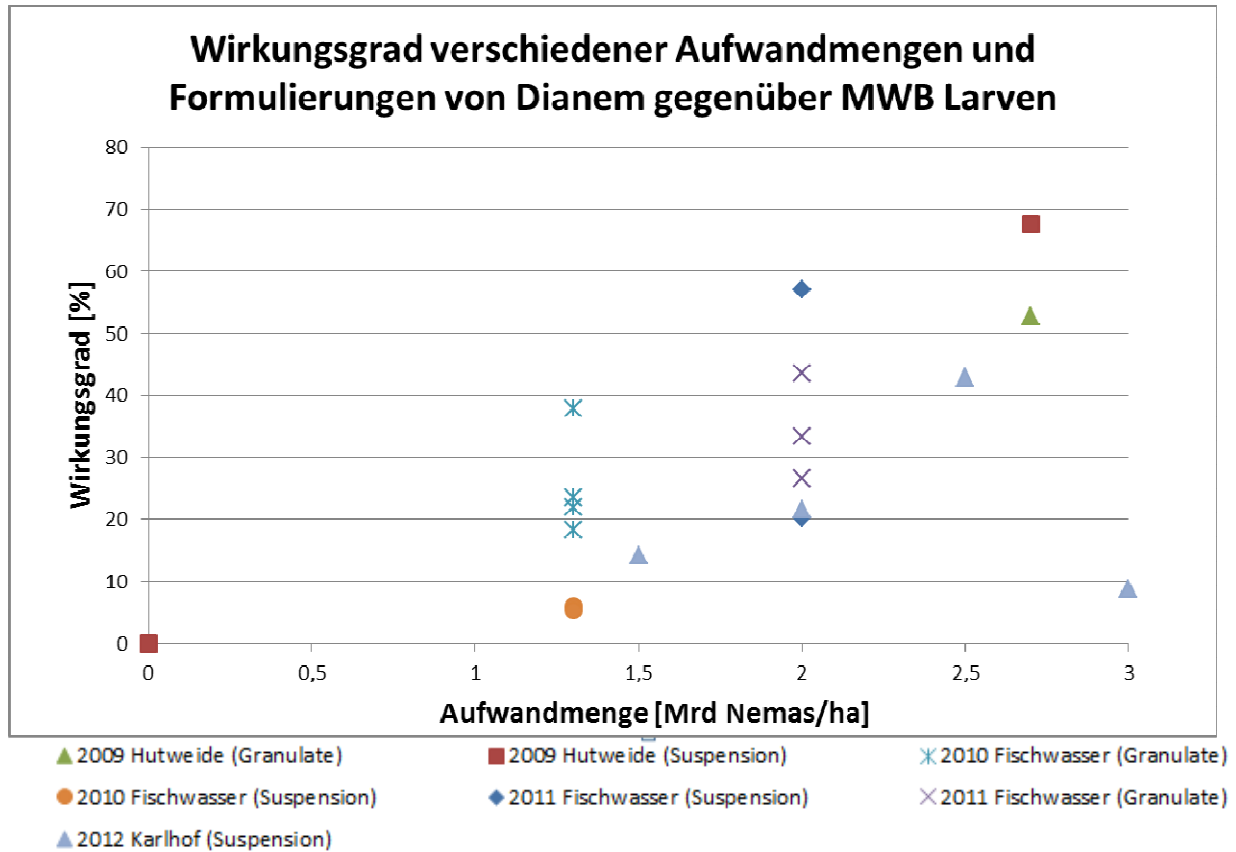


Abb 1: Wirksamkeit von *Heterorhabditis bacteriophora* gegenüber MWB Larven bei verschiedenen Aufwandmengen in Feldversuchen zwischen 2009 und 2012 in Deutsch Jahrndorf. Die obere Begrenzung dieser „Wolke“ an Datenpunkten zeigt eine deutliche, überwiegend lineare Dosis Wirkungsbeziehung.

deckt sind: die Wirksamkeit für einzelne Aufwandmengen von Dianem schwankte stark, zeigte aber jeweils eine spezifische Obergrenze. Diese Obergrenzen lassen in ihrer Gesamtheit eine deutliche Dosis-Wirkungsbeziehung erkennen, nämlich eine Gerade, welche vom Koordinatenursprung ausgeht und ab etwa 2,5 Mrd. auf hohem Niveau konstant bleibt. Diese gedachte Linie repräsentiert Höchstwerte, welche aber nur unter optimalen Bedingungen erreicht werden. Eine solche Relation zu finden, war das Ziel unserer Untersuchungen gewesen. Nur bei sehr hohen Aufwandmengen von 2-3 Mrd. Nematoden/ha sind Wirkungsgrade zwischen 60% und 70% erreichbar. Der exakte Grund für niedrige Wirksamkeit ist nicht völlig klar, in einem Falle konnten verstopfte Ausbringungsrohre als Ursache gefunden werden. Dieses Problem konnte durch Verwendung sogenannter Cultanschare behoben werden, welche die Nematodensuspension direkt zum frischgesäten Samenkorn leiteten. Ein anderer Grund könnte in niedriger Bodenfeuchtigkeit liegen, welche für das Überleben der Nematoden entscheidend wäre. Wurzelbonituren zeigten ein weniger deutliches Bild und sind hier nicht dargestellt. Während obenstehend ein Überblick gegeben wurde, sollen nachfolgend zwei Fallbeispiele genauer behandelt werden.

### Experiment Karlhof 2013

Im Experiment "Karlhof 2013" wurde die Wirksamkeit unterschiedlicher Aufwandmengen von Dianem ermittelt. Der Käferschlupf in der unbehandelten Kontrolle lag mit 21,2 pro Pflanze ausreichend hoch für einen repräsentativen Feldversuch. Die Wirksamkeit von *Clothianidin* war normal hoch, während die Wirksamkeit von Dianem für sämtliche Aufwandmengen zwischen 60% und 70% lag. Die fehlende Dosis-Wirkungsbeziehung ist zwar ein Mangel, könnte aber durch extrem günstige Verhältnisse erklärt werden. Neben guter Bodenfeuchtigkeit könnten auch die erstmals verwendeten Culturschare dafür verantwortlich sein. Diese hohen Wirkungsgrade wurden nicht in Abb.1 dargestellt, da sie zu außergewöhnlich erscheinen - man sollte sie aber im Gedächtnis behalten.

### Experiment Hutweide 2009

Im Experiment "Hutweide 2009" zeigte die Auswertung des Käferschlupfes eine signifikante ( $p < 0,05$ ) Wirkung von 67,6% für *Heterorhabditis bacteriophora* und 42,8% für die *Clothianidin*-Beizung gegenüber der unbehandelten Parzelle mit 81,4 schlüpfenden Käfern pro Pflanze. Dies scheint nahe der Obergrenze der Wirksamkeit für Dianem zu liegen (siehe Abb. 1). Dieser Wirkungsgrad ist ein Maß für die Populationsreduktion des MWB. Im Gegensatz dazu war der Wirkungsgrad bei der Verhinderung von Wurzelschäden genau umgekehrt: *Clothianidin* reduzierte Wurzelschäden um 81,2%, während Dianem nur um 39,9%. Diese widersprüchlichen Ergebnisse könnten durch das Verhalten von *Heterorhabditis bacteriophora* erklärt werden: so bevorzugen deren Infektionsstadien *Diabrotica*-Larven im 2. und 3. Stadium (Kurtz 2009). Zusätzlich dürfte die Entwicklung innerhalb ihrer Wirtslarve schätzungsweise eine Woche oder noch länger dauern. Demgemäß könnten MWB Larven an ihrer Fertigentwicklung zwar gehindert werden, aber dennoch in der Lage sein, vor ihrem Tod das Wurzelwerk noch gehörig zu schädigen. Diese Begründung passt auch sehr gut zu Berichten von Landwirten, dass die Wirkung von Dianem sich erst im zweiten Jahr eingestellt hätte und unterstützt die Ansicht, dass das Präparat eher einen Langzeiteffekt hätte.

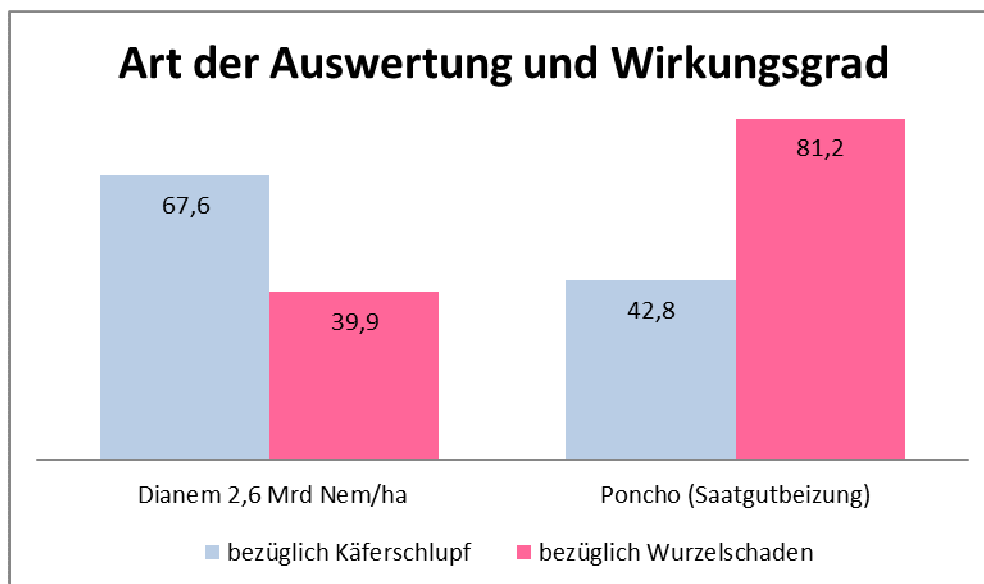


Abb. 2: Wirkungsgrad von Dianem<sup>TM</sup> (*Heterorhabditis bacteriophora*, Aufwandmenge  $2,6 \times 10^9$  Nematoden/ha) gegenüber einer Saatgutbeizung mit Poncho<sup>TM</sup> (*Clothianidin*, 25g a.i. / 50 000 Korn) im Feldversuch Hutweide 2009. Die Bewertung erfolgte entweder anhand des Käferschlupfes (blaugraue Säulen) oder anhand der Wurzelschäden nach der node injury scale (rosa Säulen). Je nach der angewandten Auswertungsmethode zeigten entweder insektenpathogene Nematoden oder eine *Clothianidin*-Beizung die bessere Wirksamkeit.

### **Ausblick**

Dianem ist in Österreich zur Bekämpfung von MWB Larven nun zwar zugelassen (Reg.Nr 3318), es wird jedoch nur wenig verwendet. Im Feldeinsatz erwies es sich als weniger zuverlässig, als chemische Produkte. Da der Anwender verlässliche Produkte bevorzugt, sind erneute Anstrengungen erforderlich, um seinen Einsatz zu verbessern. Derzeit scheint eine wissenschaftliche Supervision von Praxisanwendungen vorrangig zu sein, um förderliche bzw. hemmende Faktoren herauszufinden. Durch einen solchen Ansatz könnte die Beratung für Landwirte verbessert werden und dazu führen, dieses neuartige Präparat adäquat einzusetzen.

### **Danksagung**

Die Autoren bedanken sich bei den AGES Mitarbeitern Helmut Klapal, Otto Wurm, Verica Radovanovics für deren Arbeitseifer und bei den betreffenden Landwirten Walter Edlinger, Hans Jürgen Pflamitzer and Walter Zechmeister aus Deutsch Jahrndorf, welche die Feldversuche überhaupt erst ermöglichten und uns in mannigfaltiger Weise zur Seite standen.

### **Literatur**

- Anonymus 2012: Tagungsband der Internationalen Fachtagung zum Forschungsprogramm zur Bekämpfung des Westlichen Maiswurzelbohrers (14.-16. November 2012 in Berlin) (<http://diabrotica.jki.bund.de/>)
- Kurtz, B., Hiltbold, I., Turlings, T.C. J., Kuhlmann, U. & Toepfer, S. 2009: Comparative susceptibility of larval instars and pupae of the western corn rootworm to infection by three entomopathogenic nematodes. *BioControl* (2009) 54: 255-262.
- Oleson, J. D., Park, Y.-L., Nowatzki, T. M. & Tollefson, J. J. 2005: Node-Injury Scale to Evaluate Root Injury by Corn Rootworms. *J. Econ. Entomol.* 98(1): 18.
- Pilz, C., S. Keller, U. Kuhlmann & S. Toepfer. 2009: Comparative efficacy assessment of fungi, nematodes, and insecticides to control western corn rootworm larvae in maize. *BioControl.* 54: 671-684
- Toepfer, S, Gueldenzoph, C, Ehlers, R.-U. & Kuhlmann, U. 2005: Screening of entomopathogenic nematodes for virulence against the invasive western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe. *Bull Entomol Res* 95: 473-482
- Toepfer, S., A. Peters, R. U. Ehlers, & Kuhlmann U. 2008: Comparative assessment of the efficacy of entomopathogenic nematode species at reducing western corn rootworm larvae and root damage in maize. *J. Appl. Entomol.* 132: 337-348.
- Toepfer, S., R. Burger, R.-U. Ehlers, A. Peters, & Kuhlmann U. 2010: Controlling western corn rootworm larvae with entomopathogenic nematodes: effect of application techniques on plant-scale efficacy. *J. Appl. Entomol.* 134: 467-480.