

Basic results in biological control of the European Cherry Fruit Fly *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae) with entomopathogenic nematodes

Erste Ergebnisse zur biologischen Bekämpfung der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae) mit entomopathogenen Nematoden

Kirsten Köppler*, Arne Peters**, Heidrun Vogt*

Abstract

In 2002 and 2003, within the ‚Bundesprogramm Ökologischer Landbau‘, initial experiments to control the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* were carried out under laboratory, semi-field and field conditions with several entomopathogenic nematode species and strains. In the laboratory the efficacy of nematodes against *R. cerasi* larvae, pupae and adults was examined. To characterize the controlling potential, different nematode dosages, exposure temperatures and substrates were tested in cell wells, petri dishes and plastic boxes. In the semi-field experiments plastic fruit boxes, filled with soil, were used. In the field tests *R. cerasi*-larvae and nematodes were released in defined areas in a cherry orchard of the institute. For evaluation of the experiments, the infestation rates and efficiencies (ABBOTT) were determined. *Steinernema carpocapsae* and *S. feltiae* achieved the highest efficacies. In laboratory, infestation rates in cell wells up to 91 % and efficiencies up to 96 %, in petri dishes up to 96 %, respectively 98 %, and in plastic boxes 88 %, respectively 89 %, were attained. The experimental substrates like quartz sand or soil type and the tested temperatures did not result in consistent significant differences in laboratory tests. A dosage below 25 nematodes per cm² resulted in insufficient infestation rates. In the semi-field experiments a maximum infestation rate of 86 % (efficiency 78 %) and in a first field test an efficiency of 88 % was obtained. *R. cerasi*-pupae were not infested. These results indicate a high controlling potential of entomopathogenic nematodes against *R. cerasi*, especially of the steinernematid species *S. carpocapsae* and *S. feltiae*. Further experiments under realistic conditions in the field are forcibly necessary before putting this control method into practice.

Keywords: *Rhagoletis cerasi*, European cherry fruit fly, entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae*, biological control

Einführung:

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 (vgl. EPP 1998, FAURIEL & REYNAUD 1998, REMUND 1971, REMUND & BOLLER 1975, RUSS et al. 1973). Sie können lediglich zum Monitoring verwendet werden. Es ist daher dringend notwendig, ein alternatives, umwelt- und naturhaushaltschonendes Regulierungsverfahren zu entwickeln. Eine Möglichkeit zur biologischen Bekämpfung der bodenbürtigen Stadien der Kirschfruchtfliege könnten entomopathogene Nematoden sein. Die Arten der Gattungen *Steinernema* und *Heterorhabditis* verfügen über Eigenschaften, durch die sie zu sehr guten Antagonisten von im Boden lebenden Schadinsekten werden können (GAUGLER 1988) und stellen bereits einen bedeutenden Aspekt in der biologischen Schädlingsbekämpfung dar (BARTH 2002, KLEIN 1990).

* Institut für Pflanzenschutz im Obstbau der BBA, Schwabenheimer Str. 101, D-69221 Dossenheim

** e-nema GmbH, Klausdorfer Str. 28-36, D-24223 Raisdorf

Material und Methoden:

Die Gewinnung des Versuchsmaterials erfolgte aus befallenen Kirschen, bei den Larven durch manuelle Isolation und bei den Puppen durch Auswandern der Larven und deren Verpuppung in Sand. 2002 und 2003 wurden Versuche mit entomopathogenen Nematoden im Labor in unterschiedlichen Expositionsszenarien mit den Nematodenarten und -stämmen *Steinernema bicornutum* (S.b.), *S. carpocapsae* (S.c.), *S. carpocapsae* Stamm China (S.c.C.), *S. feltiae* (S.f.) und *Heterorhabditis bacteriophora* (H.b.) durchgeführt. Zunächst wurde die Wirksamkeit der Nematoden 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 erfolgte in Petrischalen in verschiedenen Medien (Quarzsand, Erde vom Versuchsfeld des Instituts) mit 5 *R. cerasi*-Larven und 50 Nematoden/cm². Die Dosierung von 50 Nematoden/cm² ergab sich aus der praxisrelevanten Aufwandmenge an Nematoden gegen andere Schadinsekten. 2003 kamen die Nematoden (außer S.b.) neben Sand in 4 verschiedenen gelagerten Bodentypen (leichte, mittlere, schwere LUFA-Standardböden: 2.2, 3A, 5M, 6S) in Plastikdosen 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. Ein wichtiger Punkt zur Einschätzung der Wirksamkeit der Nematoden gegen die Kirschfruchtfliege ist deren Persistenz im Boden. Hierzu wurden im Labor 30 Plastikdosen mit dem Bodentyp 3A und S.f. angesetzt. Die Zugabe von jeweils 5 *R. cerasi*-Larven erfolgte am 1., 3., 6., 8., 10. und 13. Tag. Für alle Laborversuche wurde eine Substratfeuchtigkeit von ca. 10 % eingestellt. Die Kontrolle bestand jeweils aus Ansätzen ohne Nematodenzugabe. Die Ansätze wurden jeweils bei 20°C (Kulturplatten auch bei 24° C) mindestens 5 Tage inkubiert.

Um den Bedingungen im Freiland eher zu entsprechen, wurden 2002 und 2003 Halbfreilandversuche mit H.b., S.c., S.c.C. und S.f. durchgeführt. Sie bestanden aus der Bestückung von 5 Plastikobstkisten 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 Gazekäfig 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.

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.c., S.f., H.b.) 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-Fotoektoren 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 Versuche wurden jeweils die Wirkungsgrade nach ABBOTT berechnet.

Ergebnisse:

Die eingesetzten Nematodenarten und -stämmen unterschieden sich signifikant in ihrem Infektionspotential. Die gegen die Larven wirksamsten Nematoden über alle Versuche im Labor waren beide

Stämme von *Steinernema carpocapsae* sowie *S. feltiae*. Insbesondere *S. bicornutum* unterschied sich mit geringeren Wirkungsgraden von den anderen Nematoden signifikant. Gegen die Puppen der Kirschfruchtfliege zeigten die Nematoden keine Wirkung. Der Befall lag im Mittel bei 2 %. Höhere Dosierungen als die Standarddosierung von 50 Nematoden/cm² führten in den Kulturplatten nicht zu einem signifikant höheren Befall der Kirschfruchtfliegenlarven. Dosierungen unter 25 Nematoden/cm², die in den Plastikdosen getestet wurden, erwiesen sich nicht mehr als ausreichend wirksam. Bei den beiden Temperaturen von 20 und 24°C kam es in den Kulturplatten ebenfalls nicht zu Befallsunterschieden der Larven. Auch der Bodentyp konnte neben Sand nicht als eine Variable, die die Wirkung der Nematoden im Labor beeinflusste, ermittelt werden (KRUSKAL & WALLIS, MANN-WHITNEY, Korrektur nach BONFERRONI).

Für die graphische Darstellung wurden aufgrund der beschriebenen Ergebnisse im Labor beispielhaft die Wirkungsgrade nach ABBOTT bei einer Dosis von 50 Nematoden/cm² und bei 20°C gewählt (Abb. 1). Die Abbildung zeigt die mittlere Wirksamkeit der Nematodenarten und -stämme in den einzelnen Ansätzen (Kulturplatten mit Sand, Petrischalen mit Sand und Erde vom Versuchsfeld, Plastikdosen mit Sand und den verschiedenen LUFA-Standardbodentypen). Mit den Nematodenarten *S. bicornutum* und *H. bacteriophora* konnten mit durchschnittlich 48 und 64 % keine ausreichend hohen Wirkungsgrade erzielt werden. Bis auf wenige Ausnahmen führten die Nematoden *S. carpocapsae*, *S. carpocapsae* Stamm China und *S. feltiae* in allen Ansätze zu sehr hohen Wirkungsgraden mit z.T. über 90 %. Im Durchschnitt über alle Ansätze lagen diese zwischen 80 und 88%.

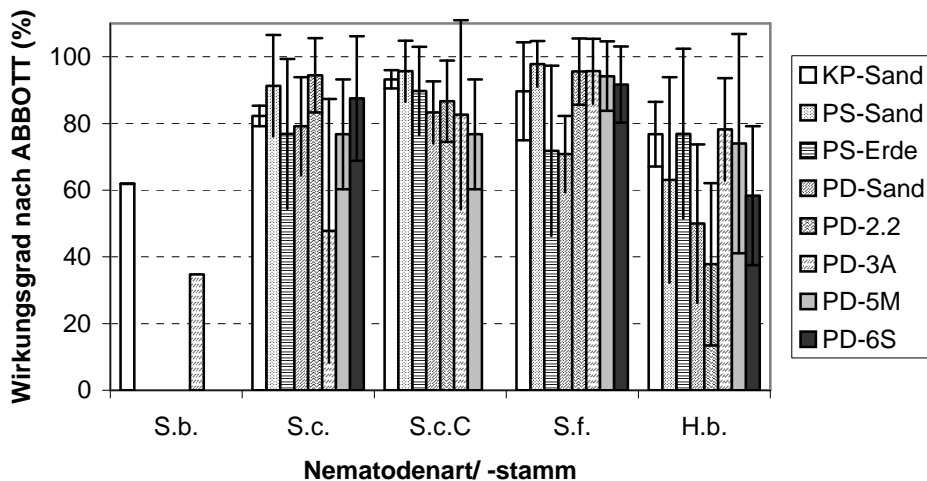


Abb. 1: Mittlere Wirkungsgrade (ABBOTT) in den Laboransätzen mit 50 Nematoden/cm² bei 20°C: KP=Kulturplatte, PS=Petrischale, PD=Plastikdose; 2.2, 3A, 5M, 6S=LUFA-Standardböden

Die Wirkungsgrade des Persistenzversuches mit *S. feltiae* erreichten über den Zeitraum von fast zwei Wochen Werte von durchschnittlich 90 %. Lediglich zwischen dem ersten und dritten Tag unterschieden sich die Wirkungsgrade mit geringerer Wirkung am Tag 1 schwach signifikant (MANN-WHITNEY).

Im ersten Untersuchungsjahr erreichte *S. feltiae* im Halbfreiland mit einem mittleren Wirkungsgrad von 70 % den höchsten Wert, *S. carpocapsae* wies 63 % auf. 2003 lag der durchschnittliche Wirkungsgrad von *S. feltiae* bei 54 %, wohingegen *S. carpocapsae* mit 78 % wirksamer war (Abb. 2). Insbesondere 2003 traten in der Kontrolle höhere Verluste auf, die sich auf die Wirkungsgrade nach ABBOTT mindernd auswirkten. Immerhin betrug die Infektionsrate in den Nematodenbehandlungen bis zu 86 %.

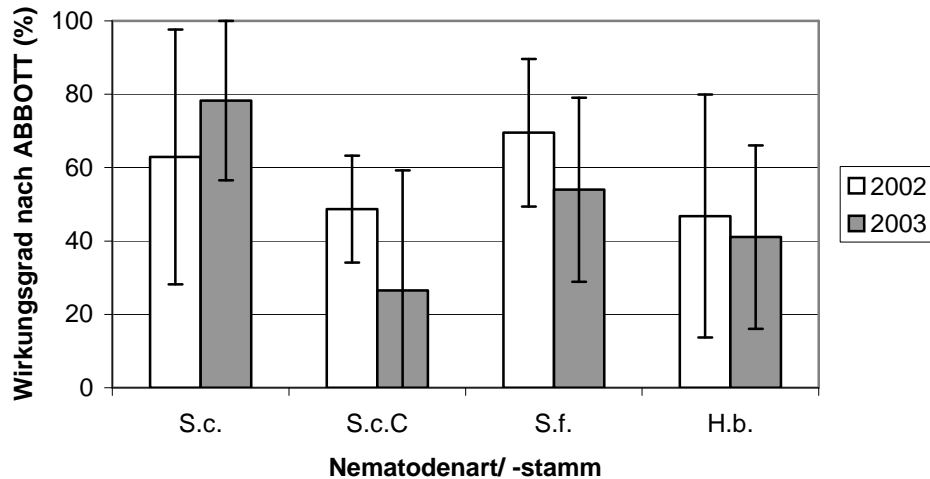


Abb. 2: Halbfreilandversuche 2002 und 2003: Mittlere Wirkungsgrade nach ABBOTT (\pm Standardabweichung)

Der Freilandversuch aus dem Jahr 2002 ergab im Folgejahr für alle Behandlungsvarianten geringe Wiederfangraten zwischen 11 % in der Kontrolle und 1 % bei Behandlung mit *S. feltiae*. Alle mit Nematoden behandelten 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. 3).

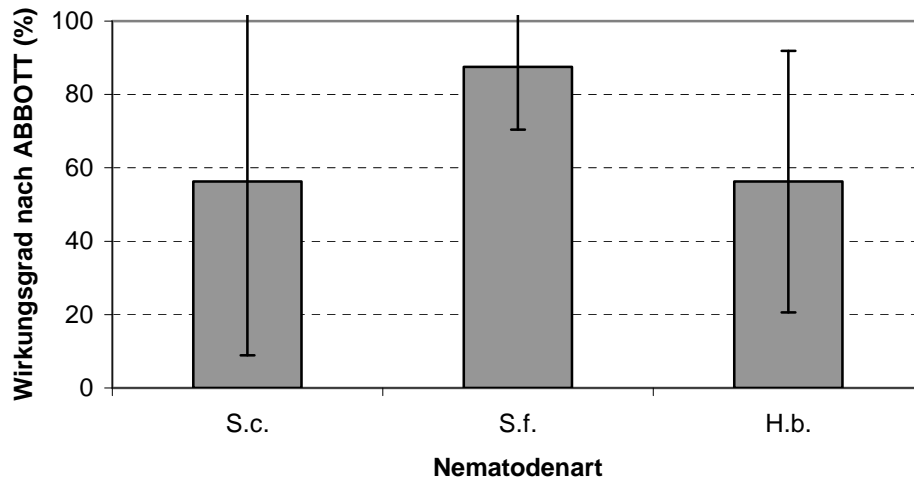


Abb. 3: Freilandversuche 2002/2003: Mittlere Wirkungsgrade nach ABBOTT (\pm Standardabweichung)

Diskussion:

Die Ergebnisse zeigen, dass entomopathogene Nematoden, insbesondere *Steinernema carpocapsae* und *S. feltiae*, ein beträchtliches Potential zur Bekämpfung der Kirschfruchtfliegenlarven besitzen. *R. cerasi*-Puppen sind dagegen nicht anfällig. Nematoden sind nicht in der Lage, intakte Puppenhüllen wegen fehlender Körperöffnungen zu penetrieren (WIESMANN 1933). RENN (1998) zeigte beispielsweise das Eindringen von Nematoden bei Fliegenlarven, insbesondere bei *Musca domestica*, über den Anus. Desweiteren fehlt bei den Puppen die Abgabe von CO₂, was den Nematoden der Wirtsfindung dient (KAYA 1990).

Die einzelnen Nematodenarten, auch *S. carpocapsae* und *S. feltiae*, verfolgen unterschiedliche Strategien, Wirte im Boden ausfindig zu machen (ISHIBASHI & KONDO 1990, LEWIS 2002). Nach den vorliegenden Ergebnissen erscheint keine der Strategien als besser geeignet für *R. cerasi*-Larven. Die beiden Inkubationstemperaturen von 20 und 24°C resultierten nicht in unterschiedlichen Wirkungsgraden. Beide Temperaturen liegen innerhalb des Temperaturoptimums für die verwendeten Nematodenarten und -stämme (vgl. GREWAL et al. 1994). Die Temperatur von 20°C galt als Standardtemperatur. 24°C stellte die durch 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. Der Vergleich der Wirkungsgrade in den Substraten Sand, Erde vom Versuchsfeld und LUFA-Standardböden zeigte keine konstanten signifikanten Unterschiede unter Laborbedingungen. Trotz dieser Ergebnisse ist davon auszugehen, dass ein Einfluss des Bodens, dessen Zusammensetzung und der möglichen Präsenz natürlicher Feinde der Nematoden auf deren Wirksamkeit besteht. KAYA (1990) beschreibt beispielsweise eine erschwerte Beweglichkeit von Nematoden in schweren Lehmböden. Die Halbfreiland- und Freilandversuche sind kritisch zu bewerten. Bei den Halbfreilandversuchen ist nicht geklärt, inwieweit sich die Verwendung von Gazekäfigen auf die Infektion der Kirschfruchtfliegenlarven auswirkte. Aufgrund der geringen Schlupfraten (Wiederfangraten) in allen Behandlungsvarianten beruhen die Daten des Freilandversuches auf einer kleinen Datenbasis. Für eine bessere Beurteilung dieses Versuchsabschnittes sind die Ergebnisse des zweiten Freilandversuchs notwendig. Desweiteren ist die Abschätzung der natürlichen Mortalität der Kirschfruchtfliegenlarven und -puppen im Boden wichtig, um mögliche versuchsbedingte Einflüsse auf das Ergebnis zu bewerten.

Für eine endgültige Beurteilung des Bekämpfungspotentials entomopathogener Nematoden gegen *R. cerasi* sind 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.

Literature Cited

- BARTH M (2002): Nematodenprodukte für den biologischen Pflanzenschutz. DGaE-Nachrichten 16 (1): 14.
- 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.
- GAUGLER R (1988): Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. Agric. Ecosyst. Environm. 24: 351.

- GREWAL PS, SELVAN S & GAUGLER R (1994): Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *J. Therm. Biol.*, 19: 245-253.
- ISHIBASHI N & KONDO E (1990): Behavior of Infective Juveniles. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Gaugler R, Kaya HK (eds.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Ann Arbor, Boston: 139-150.
- KAYA HK (1990): Soil ecology. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. GAUGLER, R., KAYA, H.K. (eds.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Ann Arbor, Boston: 93-115.
- 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.
- LEWIS EE (2002): Behavioural ecology. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, UK: 205-223.
- 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.
- WIESMANN R (1933): Untersuchungen über die Lebensgeschichte und Bekämpfung der Kirschfliege *Rhagoletis cerasi* Linné. *Landwirtsch. Jahrb. Schweiz* 47: 711-760.