

Entwicklung einer Strategie zum Virulenzmanagement beim Apfelwicklergranulovirus und zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau

Development of a strategy for managing the virulence of *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV)
to control the codling moth in organic apple production

FKZ 090OE97, FKZ 090E98, FKZ 090E99, FKZ 090E100

Projektkoordination:

Julius Kühn-Institut, Institut für biologischen Pflanzenschutz
Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt
Tel.: +49 6151 407-0
Fax: +49 6151 407-290
E-Mail: bi@julius-kuehn.de
Internet: www.julius-kuehn.de/bi/

Autoren:

Jehle, Johannes A., Undorf-Spahn, Karin; Fritsch, Eva; Zebitz, Klaus P.W.; Kienzle, Jutta; Zimmer,
Jürgen, Benduhn, Bastian; Brockamp, Leona

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

Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger:	Julius Kühn-Institut (JKI), Darmstadt Universität Hohenheim
Förderkennzeichen:	2809OE097-100
Vorhabenbezeichnung:	Entwicklung einer Strategie zum Virulenzmanagement beim Apfelwickler-Granulovirus und zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau
Laufzeit:	15.06.2010 – 28.02.2014
Berichtszeitraum:	15.06.2010 – 28.02.2014
Koordination:	Prof. Dr. J. A. Jehle (JKI, Darmstadt)
Beteiligte Institute:	Julius Kühn-Institut (JKI), Darmstadt Universität Hohenheim DLR Rheinpfalz, Rheinbach Öko-Obstbau Norddeutschland (ÖON e.V.), Jork

INHALT

I Einführung	4
1. Gegenstand des Vorhabens.....	4
2. Ziele und Aufgabenstellung des Projektes.....	4
3. Planung und Ablauf des Projektes.....	5
II Teilprojekte	6
1 Teilprojekt 1	6
1.1 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	6
1.2 Material und Methoden.....	8
1.2.1 Versuchstiere.....	8
1.2.2 Virusisolate	11
1.2.3 Direkt-Biotest zur Bestimmung der Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber dem resistenten AW-Laborstamm NRW-WE und SA-GO.....	11
1.2.4 Resistenzmonitoring mittels Schnelltests mit AW-Freilandstämmen	12
1.2.5 Empfindlichkeitsvergleich von F1- und F2-Generation des Apfelwicklers	12
1.2.6 Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten	13
1.2.7 Tests zur Mischbarkeit des CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten	16
1.3 Ergebnisse und Diskussion	18
1.3.1 Bestimmung der Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber den resistenten Laborstämmen NRW-WE und SA-GO	18
1.3.2 Monitoring der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten in ökologisch bewirtschafteten Apfel-Anlagen in verschiedenen Regionen Deutschlands	20
1.3.3 Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation des Apfelwicklers..	28
1.3.4 Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten	32
1.3.5 Tests zur Mischbarkeit von CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten	38
1.4 Zusammenfassung.....	41
1.5 Literaturverzeichnis	43

1.6	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen (Teilprojekt 1)	46
2	Teilprojekt 2	47
2.1	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	47
2.2	Monitoring zum Auftreten erneuter Resistenzbildung mit den neuen Virusisolaten und Untersuchungen zum Virulenzmanagement mit Schwerpunkt auf dem Test der langfristigen Wirkung des Präparates CpGV-V 15 in den kritischen Betrieben.....	48
2.2.1	Versuche im Jahr 2011	49
2.2.2	Versuche im Jahr 2012.....	51
2.2.3	Versuche im Jahr 2013.....	58
2.2.4	Diskussion und Schlussfolgerungen	65
2.3	Wirkung verschiedener neuer CpGV–Isolate auf die zweite Generation von CpGV-M resistenten und nicht resistenten Populationen des Apfelwicklers	66
2.3.1	Versuche im Jahr 2010.....	66
2.3.2	Diskussion und Schlussfolgerungen	73
2.4	Optimale Integration anderer verfügbarer Verfahren in die Regulierungsstrategie unter Berücksichtigung der Neuentwicklungen in der Fungizidstrategie: Potential von NeemAzal-T/S.....	73
2.4.1	Versuche zur Einbindung von NeemAzal-TS in die Strategie zur Regulierung der ersten Generation im Jahr 2011	74
2.4.2	Laborversuche zur Wirkung von NeemAzal-T/S im Jahr 2012	83
2.5	Freilandversuche mit künstlichem Befall zur Wirkung von NeemAzal-T/S im Jahr 2012.....	85
2.5.1	Diskussion und Schlußfolgerungen zum Potential von NeemAzal-T/S	87
2.6	Optimale Integration anderer verfügbarer Verfahren in die Regulierungsstrategie unter Berücksichtigung der Neuentwicklungen in der Fungizidstrategie: Potential von <i>Trichogramma</i> -Schlupfwespen	87
2.6.1	Freilandversuche zur Ausbringung von <i>Trichogramma</i> -Schlupfwespen im Jahr 2011.....	87
2.6.2	Freilandversuche zur Ausbringung von <i>Trichogramma</i> -Schlupfwespen im Jahr 2012.....	95
2.6.3	Freilandversuche zur Ausbringung von <i>Trichogramma</i> -Schlupfwespen im Jahr 2013.....	105
2.6.4	Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von <i>Trichogramma evanescens</i> im Jahr 2011	111

2.6.5	Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von <i>Trichogramma evanescens</i> im Jahr 2012.....	112
2.6.6	Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von <i>Trichogramma evanescens</i> im Jahr 2013.....	117
2.6.7	Diskussion und Schlußfolgerungen zum Potential von <i>Trichogramma</i> -Schlupfwespen	124
2.7	Zusätzliche Möglichkeiten für <i>Trichogramma evanescens</i> im Einsatz zur Regulierung des Pflaumenwicklers.....	124
2.8	Optimale Prognose für die Strategien im ökologischen Obstbau	135
2.9	Zusammenfassung.....	136
2.10	Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen (Teilprojekt 2).....	138
2.11	Zitierte Literatur.....	139
III. Übersicht aller Veröffentlichungen zum Projekt		139
IV. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse		142

I Einführung

1 Gegenstand des Vorhabens

Das Apfelwicklergranulovirus (*Cydia pomonella* Granulovirus, CpGV) ist das bedeutendste biologische Agens zur Bekämpfung des Apfelwicklers (AW) und ist unverzichtbar in der ökologischen Apfelproduktion. Nach langjährigem erfolgreichem Einsatz von CpGV-Präparaten im ökologischen Apfelanbau wurde im Jahr 2005 erstmals über resistente Apfelwickler-Populationen berichtet. Das Auftreten von Resistenzen verursachte im Ökologischen Obstbau massive Probleme bei der Bekämpfung des Apfelwicklers und drohte bedeutende wirtschaftliche Schäden nach sich zu ziehen. Den betroffenen Obstbauern konnte in den vergangenen Jahren durch die Entdeckung und Selektion neuer CpGV-Isolate, welche die beobachtete Resistenz weitgehend brechen, geholfen werden. Im Jahr 2008 wurden jedoch zwei Apfelwicklerpopulationen identifiziert, bei denen trotz Anwendung neuer resistenzbrechender CpGV-Isolate ein beträchtlicher Schaden in den Anlagen zu verzeichnen war. Mittels einer neu entwickelten Schnelltest-Methode wurden 2009 zwei weitere verdächtige Populationen identifiziert. Das Auftreten dieser neuen Resistenzphänomene macht die Entwicklung eines langfristig angelegten Resistenzmanagements des Apfelwicklers dringend notwendig, wobei die Apfelwicklerbekämpfung auf eine möglichst breite Basis gestellt werden soll. Alternative Verfahren, wie z. B. der Einsatz entomopathogener Nematoden, *Trichogramma* sp. sowie NeemAzal, die derzeit in der Entwicklung sind, sollen bei der Regulierung des Apfelwicklers einbezogen werden.

Durch die Erarbeitung einer Bausteinstrategie für ein langfristiges Resistenzmanagement kann der Problematik der Minderempfindlichkeit des Apfelwicklers gegenüber dem CpGV begegnet werden. Auf diese Weise können die zu erwartenden und teilweise bereits vorhandenen massiven Einkommensverluste durch hohe Apfelwicklerschäden für ökologisch wirtschaftende Betriebe abgemildert oder sogar langfristig verhindert werden. Dadurch wird insgesamt eine Verbesserung der Wirtschaftlichkeit der ökologischen Produktion von Äpfeln erreicht.

2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

Ziel des Gesamtprojektes war die Erarbeitung einer langfristig tragfähigen Bausteinstrategie zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau in Zusammenarbeit von Forschung, Beratung und Praxis. Teil dieser Strategie sind sowohl die Anwendung eines Virulenzmanagement des Apfelwicklergranulovirus (CpGV) als auch die Evaluierung alternativer, für den ökologischen Apfelanbau geeigneter Bekämpfungsverfahren, die gerade in der Entwicklung sind.

- Bezug des Vorhabens zu den förderpolitischen Zielen

Bereich A (Landwirtschaftliche Produktion)

Bekanntmachung Nr. 11/03/51 vom 3.6.03: Pflanzenschutz. Themenbereich Entwicklung und Weiterentwicklung von Pflanzenschutzverfahren im Obstbau.

3 Planung und Ablauf des Projektes

In einem ersten Schritt mussten zunächst grundlegende Fragestellungen zum Virulenzmanagement für das CpGV geklärt werden. Auf dieser Basis sollten in Kombination mit anderen möglichen Bausteinen zur Apfelwicklerregulierung (z.B. Nematoden, *Trichogramma* u.a.) und unter Berücksichtigung der neuen Entwicklungen bei der Pilzbekämpfung Strategien zum langfristigen Resistenzmanagement erarbeitet und getestet werden. Diese Strategien sollten in Zusammenarbeit mit dem Beratungswesen und Praxisbetrieben an die jeweiligen Bedürfnisse in einzelnen Anbauregionen angepasst werden.

Im Einzelnen wurden in zwei Teilprojekten folgende Schwerpunkte bearbeitet:

Teilprojekt 1: Julius Kühn-Institut (JKI) (Nr. 2809OE097)

- Bestimmung der Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber Apfelwicklern, die Resistenzen gegen neue CpGV-Isolate zeigen.
- Monitoring der Resistenz nach Einsatz neuer CpGV-Isolate in ökologisch bewirtschafteten Anlagen in verschiedenen Regionen Deutschlands mittels Resistenz-Schnelltests.
- Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F-2 Generation des Apfelwicklers.
- Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegenüber neuen CpGV- Isolaten.
- Tests zur Mischbarkeit des CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten.

Teilprojekt 2: Universität Hohenheim (Nr. 2809OE098-100)

- Monitoring zum Auftreten erneuter Resistenzbildung gegen die neuen Virusisolate und Untersuchungen zum Virulenzmanagement mit Schwerpunkt auf dem Test der langfristigen Wirkung des Präparates CpGV-V 15 in den kritischen Betrieben
- Wirkung von neuen CpGV-Isolaten auf die zweite Generation von CpGV-M resistenten und nicht resistenten Populationen des Apfelwicklers
- Optimale Integration anderer verfügbarer Verfahren in die Regulierungsstrategie unter Berücksichtigung der Neuentwicklungen bei der Strategie zur Regulierung von Pilzkrankheiten
- Potential von NeemAzal-T/S
- Potential von *Trichogramma*-Schlupfwespen
- Optimale Prognose für die Strategien im ökologischen Obstbau

II Teilprojekte

1 Teilprojekt 1

1.1 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die seit 2005 erstmals beobachtete Resistenz des Apfelwicklers, *Cydia pomonella* (L.), gegenüber dem Apfelwicklergranulovirus CpGV-M ("Mexican strain"; Tanada, 1964), ist bislang auf einzelne, lokal begrenzte Apfelanlagen beschränkt, wobei in Europa etwa 40 Anlagen mit Resistenzproblemen erfasst wurden (Schmitt et al., 2013). Zahlreiche Laboruntersuchungen mit Abkömmlingen des Apfelwicklers (AW) aus diesen Anlagen haben gezeigt, dass unterschiedliche Niveaus der Resistenz gegen CpGV-M innerhalb dieser Freilandstämme vorhanden sind. Hierbei wurden sowohl mittels Bestimmungen der mittleren Letalkonzentration (LC_{50}) in Biotests mit Eilarven als auch durch Einzelpaarkreuzungen, Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber CpGV-M von Faktor 1.000 bis 100.000 festgestellt. Eine der bereits 2006 untersuchten AW-Freilandpopulationen aus der ökologisch bewirtschafteten Anlage NRW-WE war sogar um das 1.000.000-fache unempfindlicher im Vergleich zum sensiblen Laborstamm CpS (Fritsch et al., 2005; Asser-Kaiser et al., 2007). Es zeigte sich, dass resistente AW-Populationen genetisch heterogen sind und sich sowohl aus resistenten als auch sensiblen Tieren zusammensetzen (Eberle & Jehle, 2006). Über Einzelpaarkreuzungen konnte im Labor aus einem resistenten Wildstamm (CpR) ein homogener resistenter AW-Stamm (CpRR1) selektiert werden. Genetische Untersuchungen an diesem Stamm, die im Rahmen des BÖLN-Projektes 05OE023 durchgeführt wurden, ergaben, dass das für die CpGV-Resistenz verantwortliche Gen auf dem Geschlechtschromosom Z lokalisiert und monogenisch und konzentrationsabhängig dominant vererbt wird (Asser-Kaiser et al., 2007; 2010). Dieser ungewöhnliche Erbgang der Resistenz forciert eine rasche Selektion resistenter Individuen unter CpGV-Druck und erklärt einen raschen Aufbau resistenter Populationen. Zudem ergaben zumindest alle bisherigen Laborexperimente, dass die Fitnesskosten der Resistenz für resistente Apfelwickler gering sind, weshalb auch nach Absetzen von CpGV-Produkten mit einer fort dauernden Resistenz in den betroffenen Populationen zu rechnen ist (Undorf-Spahn et al., 2012).

Mit neuen CpGV-Isolaten konnte die bekannte CpGV-Resistenz sowohl in Laborversuchen als auch im Freiland weitgehend gebrochen werden (Jehle et al., 2006; Eberle et al., 2008; Berling et al., 2009a/b; Kienzle et al., 2007; Zingg, 2008). Die Verwendung neuer CpGV-Isolate führte in den betroffenen Betrieben zu einer deutlichen Entlastung der Resistenzproblematik. Im Sommer 2008 wurden erstmals auch in der hoch resistenten Anlage NRW-WE resistenzbrechende Virusisolate eingesetzt, die jedoch nicht den erhofften Bekämpfungserfolg erzielten, und weiterhin erhebliche Schäden durch den Apfelwickler festzustellen waren.

Parallel zur Entwicklung und Testung neuer CpGV-Isolate wurde am DLR Rheinpfalz Neustadt/Wstr. ein neuer Schnelltest zum Resistenzmonitoring entwickelt und validiert (Schulze-Bopp & Jehle, 2013). Während bei einem herkömmlichen Resistenztest diapausierende Larven gesammelt, überwintert und bis zur F1-Generation weitergezüchtet wurden, um sie dann einem Bioassay zu unterziehen, werden beim Schnelltest L2-L4 Larven

aus befallenen Äpfeln extrahiert und einer diskriminierenden CpGV-Konzentration ausgesetzt, bei der anfällige Tiere an einer Virusinfektion zu Grunde gehen. Der Vorteil des Schnelltests liegt darin, dass resistente Populationen innerhalb weniger Wochen identifiziert werden und die Ergebnisse noch in derselben Vegetationsperiode vorliegen. Der Nachteil besteht darin, dass der Stichprobenumfang relativ klein ist, da mit jeder Larve nur ein einziger Test gemacht werden kann. Daher können mit diesem Test keine Aussagen über die genetische Basis gemacht werden. Dennoch lieferten die Schnelltests erste Hinweise darüber, dass eine unterschiedliche Empfindlichkeit zwischen Apfelwicklern der ersten (F1) und der zweiten Generation (F2) bestehen könnte. Zwar ist seit längerem bekannt, dass CpGV-Applikationen in der zweiten Generation weniger stark wirksam sind als in der ersten Generation, doch war dieser Unterschied bisher durch das unterschiedliche Eiablageverhalten der Tiere während der zweiten Generation erklärt worden. Der Unterschied konnte aber auch im Laufe des Resistenzschnelltests beobachtet werden, obwohl hier die Tiere unter konstanten Laborbedingungen getestet wurden. Für den Fall, dass ein physiologischer Hintergrund dieses Unterschieds der Wirkung von CpGV auf die erste und zweite Generation gegeben ist, wäre dies sowohl für die Strategieentwicklung als auch für das Resistenzmanagement von Bedeutung. Es war daher von grundlegender Wichtigkeit, diesen Aspekt durch systematische Untersuchungen abzuklären.

Im Jahr 2008 wurden zwei Apfelwickler-Populationen (NRW-WE und SA-GO) identifiziert, bei denen trotz Anwendung neuer CpGV-Isolate (z. B. Madex Max) ein beträchtlicher Schaden zu verzeichnen war. Um eine erste Abschätzung der Empfindlichkeit dieser Populationen gegenüber konventionellen und neuen CpGV-Isolaten zu machen, wurden Einzelpaarkreuzungen zwischen gesammelten Feldtieren und anfälligen Labortieren durchgeführt und die Nachkommen einer diskriminierenden Viruskonzentration unterworfen. Die durchgeführten Kreuzungsexperimente zeigten, dass die CpGV-Resistenz in diesen Populationen nicht dem bekannten Muster folgte. Insbesondere sind in diesen Populationen keine ausgeprägte Geschlechtsabhängigkeit und eine etwa gleich starke Resistenz gegenüber alten und neuen CpGV-Isolaten zu verzeichnen (Schulze-Bopp & Jehle, unveröffentlicht). Dies legte die Hypothese nahe, dass hier ein anderer Resistenzmechanismus zugrunde liegen könnte, den es auch zu klären galt.

Bereits 2007 wurden am JKI in Darmstadt Untersuchungen zur Mischbarkeit des CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten (Pflanzenstärkungsmittel und Fungizide), die ebenfalls im ökologischen Apfelanbau Anwendung finden, durchgeführt. Entsprechend der in der Praxis üblichen Konzentrationen der Präparate wurden diese mit CpGV in Wasser gemischt und die Aktivität der Viren nach einer 4-stündigen Einwirkzeit im Biotest überprüft. Dabei zeigte sich bei Präparaten, die in Lösung stark alkalische pH-Werte aufwiesen (Wasserglas und Schwefel-Kalk), ein signifikanter Aktivitätsverlust (Fritsch et al., 2008). Dies bedeutet für die Praxis, dass das CpGV nicht zusammen mit diesen Präparaten in Tankmischungen ausgebracht werden darf. Inzwischen sind weitere Präparate, die vor allem zur Pilzbekämpfung oder als Pflanzenstärkungsmittel eingesetzt werden, auf dem Markt, deren Mischbarkeit mit CpGV ergänzend untersucht wurde, um auch für diese neuen Produkte praxisrelevante Empfehlungen für die Kompatibilität mit dem CpGV geben zu können.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Versuchstiere

Sensibler AW-Laborstamm CpS

Als Versuchstiere für Mischbarkeitstests und Kreuzungsexperiment dienten frisch geschlüpfte L1-Larven des Apfelwicklers eines empfindlichen Laborstammes CpS. Die Tiere wurden ursprünglich von der Fa. Andermatt Biocontrol (Schweiz) bereitgestellt und am JKI/Darmstadt nach der von Bathon (1981) beschriebenen Methode weiter gezüchtet.

Resistente AW-Laborstämme NRW-WE und SA-GO

Die im Biotest verwendeten Testtiere stammten ursprünglich aus der biologisch bewirtschafteten Apfelanlage NRW-WE, eine Problemanlage, die sich bereits 2005 als CpGV-M resistent erwiesen hatte (Fritsch et. al, 2005, 2006). Im Spätsommer 2008 und 2009 wurden in dieser Anlage von der Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau (FÖKO e.V.) Diapause-Larven mit Hilfe von Wellpappstreifen gesammelt und deren Nachkommen zum Aufbau einer Laborzucht am JKI/Darmstadt verwendet. In der gleichen Anlage wurden 2009 ein weiteres Mal Diapause-Tiere gesammelt und deren Folgegeneration in die bereits vorhandene Laborzucht eingekreuzt.

Die resistenten Testtiere SA-GO stammten ursprünglich aus einer Apfelanlage in Sachsen, bei der der Einsatz resistenzbrechender Isolate (z. B. Madex Max) nicht die erwartete Wirkung zeigte. Im Spätsommer 2008 wurden in dieser Anlage Diapause-Larven für Wirksamkeitstests gesammelt, die auch zum Aufbau einer Laborzucht dienten. Im selben Jahr wurde die Apfelanlage komplett gerodet.

Für die Erhaltung der Zuchten wurden frisch geschlüpfte Eilarven (L1) auf ein künstliches Nährmedium nach Ivaldi-Sender (1974) aufgesetzt und für etwa 2 Wochen bei 26 °C und Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel) inkubiert, bis sie das L5-Stadium erreichten. Diese wurden dann zur Verpuppung auf Wellpapprollen umgesetzt und für weitere 2 Wochen unter gleichen Bedingungen bis zum Falterschlupf weitergezüchtet. Die Falter wurden in einem gesonderten Raum bei 20 °C und unter Langtagbedingungen in Plexiglaszylindern, die mit Baumwollgaze (MULLRO, Hartmann) bespannt waren, gehalten. Befeuchtete Watte diente den Faltern als Wasserquelle und zur Eiablage wurden Parafilm[®]-Streifen in die Zylinder eingehängt. Die mit Eigelegen besetzten Parafilm[®]-Streifen wurden alle 2 Tage abgenommen und bei 26 °C und Langtagbedingungen bis zum Schlüpfen der L1-Larven inkubiert.

Herkunft der AW-Freilandstämme für Schnelltests

Für das Resistenzmonitoring mittels Schnelltests wurden in den Jahren 2010 bis 2013 jeweils im Sommer von der FÖKO eV, vertreten durch Frau Jutta Kienzle, in verschiedenen Regionen Deutschlands Sammlungen von Apfelwicklerpopulationen in mit resistenzbrechenden CpGV-Isolaten behandelten Apfelanlagen organisiert. Die folgende Tab. 1.1 gibt eine Übersicht über die Herkunft der verschiedenen Apfelwicklerpopulationen für jedes Sammeljahr.

Im Jahr 2010 wurden in fünf mit Madex Max behandelten Anlagen mit Apfelwicklerlarven (F1-Generation) befallene Äpfel gesammelt und an das JKI/Darmstadt weitergegeben.

Bezüglich der Anlagen RP-NS-10 und HH-CR-10 ist anzumerken, dass bei den ersten Spritzungen im Frühjahr das Präparat Madex3 (enthält CpGV-M) der Andermatt Biocontrol AG (Schweiz) verwendet wurde, ehe weitere Behandlungen mit dem neuen Präparat Madex Max folgten.

Im Jahr 2011 wurden insgesamt sieben Betriebe für das Resistenzmonitoring ausgewählt. In vier der Anlagen mit z.T. nachgewiesener CpGV-M Resistenz wurde im Sommer 2011 das Präparat Madex Max eingesetzt. In einer Anlage (NS-HL), die bereits 2010 getestet und für die eine unzureichende Wirkung von Madex Max nachgewiesen werden konnte, sollte 2011 mit CpGV-V15 behandelt werden. In drei weiteren Betrieben kam aufgrund einer unzureichenden Wirkung von Madex Max im Vorjahr, das neue Versuchspräparat CpGV-V15 zum Einsatz. Bis auf die Anlage BW-DE-11, in der Apfelwickler der zweiten Generation (F2) gesammelt und getestet wurden, waren alle anderen gesammelten Äpfel mit Larven der ersten Generation (F1) befallen.

Im Vergleich zu dem Präparat Madex Max erwies sich das Isolat CpGV-V15 in den Schnelltests der im Jahr 2011 untersuchten AW-Stämme insgesamt als deutlich wirksamer. Im Folgejahr 2012 wurde daher sowohl bei NS-JO-12 als auch in einer weiteren Anlage mit Apfelwicklerproblemen in Norddeutschland (NS-JOG-12) ausschließlich mit CpGV-V15 behandelt. In dieser Anlage wurden zusätzlich an einer anderen Stelle unbehandelte Kontrolltiere (NS-JOG(K)-12) gesammelt, deren Empfindlichkeit gegenüber CpGV-M und Madex Max untersucht wurde. Alle gesammelten Äpfel waren mit Apfelwicklerlarven der ersten Generation (F1) befallen. In dem Betrieb NRW-WE-12 konnten aufgrund der erfolgreichen Spritzungen mit CpGV-V15 keine Tiere für die Durchführung von Resistenz-Schnelltests gesammelt werden.

Im Jahr 2013 wurden zwei auffällige Anlagen untersucht, in denen Madex Max zum Einsatz kam. Für BW-DE konnte bereits im Jahr 2004 eine verminderte Wirksamkeit des CpGV-M festgestellt werden, weshalb in dieser Anlage bereits ab dem Jahr 2011 mit dem resistenzbrechenden Präparat Madex Max behandelt wurde. Die Befallsregulierung war jedoch nie ganz zufriedenstellend, so dass im Jahr 2013 erneut für ein Resistenzmonitoring gesammelt wurde. In den Schnelltests wurden 2013 ausschließlich Apfelwickler der 2. Generation (F2) eingesetzt.

Tab. 1.1: Übersicht der gesammelten Apfelwicklerstämme in den verschiedenen, mit resistenzbrechenden CpGV-Isolaten behandelten Apfelanlagen von 2010 bis 2013

Sammeljahr	Code	Lage	Beschreibung	Behandlung im Sammeljahr
2010	BW-LF-10	Südbaden	erstmals 2006 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	Madex Max
	BW-SM-10	Stuttgart	-	Madex Max
	SL-SA-10	Saarwellingen	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	Madex Max
	RP-NS-10	Neustadt	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	3 x mit Madex3 dann Madex Max
	HH-CR-10	Hamburg	-	14 x mit Madex3 dann MadexMax
	NS-HL-10	Kehdinger Land	-	6 x mit Madex Max
2011	SL-SA-11	Saarwellingen	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen; im Schnelltest 2010 keine gute Wirkung von Madex Max	CpGV-V15
	NRW-WE-11	Wesel	erstmals 2005 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen; 2008 keine gute Wirkung von Madex Max	CpGV-V15
	HH-CR-11	Hamburg	im Schnelltest 2010 keine gute Wirkung von Madex Max	CpGV-V15
	NS-HL-11	Hüll/Kehdinger Land	im Schnelltest 2010 keine gute Wirkung von Madex Max; 2011 eigentlich Behandlung mit CpGV-V15 vorgesehen	Madex Max
	NS-JO-11	Jork	-	Madex Max
	BW-ST-11	Stritach	-	Madex Max
	BW-DE-11 (F2)	Denzlingen	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	Madex Max
2012	NS-JOG(K)-12	Jork	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	unbehandelt
	NS-JOG-12	Jork	erstmals 2005 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	CpGV-V15
	NS-JO-12	Jork	im Schnelltest 2010 keine gute Wirkung von Madex Max	CpGV-V15
2013	NS-BS-13 (F2)	Altes Land (Jork/Borstel)	-	Madex Max
	BW-DE-13 (F2)	Denzlingen	erstmals 2004 CpGV-M-Resistenz nachgewiesen	Madex Max

Sensible AW-Freilandstämme für Untersuchungen der F1- und F2-Generation

Im Rahmen des Teilprojektes 2 wurden über 3 Jahre von 2010 bis 2013 jeweils im Juni und Ende August in einer unbehandelten Anlage in Sachsen (SA-MU) befallene Äpfel gesammelt und die daraus entnommenen Apfelwicklerlarven am JKI/Darmstadt einem Schnelltest nach Schulze-Bopp & Jehle (2013) unterzogen, um die Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation gegenüber dem CpGV zu untersuchen. Da der Apfelwickler-Befall in den Jahren 2011 und 2012 witterungsbedingt sehr gering war, stand nur eine geringe Anzahl an Versuchstieren zur Verfügung. Folglich wurden im Juli und September 2013 zusätzlich in einer Streuobstanlage des DLR Rheinpfalz (RP) in Neustadt/Wstr. in drei verschiedenen Parzellen mit unterschiedlichen Apfelsorten (Pinova, Rubinette, Braeburn) sowie in einer weiteren Streuobstanlage (Sorte Roter Topaz) in Sachsen (SA) Apfelwicklerlarven der ersten und zweiten Generation für die Untersuchungen gesammelt.

1.2.2 Virusisolate

In den Biotests wurden verschiedene CpGV-Isolate verwendet. Als Referenz diente CpGV-M, das ursprünglich von dem Wildtyp Isolat M ("Mexican strain", Tanada, 1964) abstammt. Ein weiteres CpGV-Isolat, CpGV-E2, wurde ursprünglich in England aus erkrankten Apfelwicklerlarven eines Laborstammes an der University of Reading isoliert (Crook et al., 1985). Bei dem Isolat CpGV-V15 handelt es sich um ein von der Firma Andermatt Biocontrol AG (Schweiz) neu selektiertes resistenzbrechendes Präparat. Das resistenzbrechende CpGV-S basiert auf dem kanadischen Isolat CpGV Virosoft™ (Vincent et al., 2007). Dieses Isolat wurde anstelle des kommerziellen Präparats Madex Max der Fa. Andermatt Biocontrol AG (Schweiz) in den Resistenz-Schnelltests im Labor eingesetzt. Die Virusisolate wurden größtenteils an der DLR Rheinpfalz (RP) in Neustadt/Wstr. *in vivo*, in L4-Larven eines normal empfindlichen Laborstammes des Apfelwicklers (CpS) vermehrt. Aus den infizierten Larvenkadavern wurden die Viruseinschlusskörper (occlusion bodies = OB) isoliert und über einen Gradienten (50-60 % Glycerin) gereinigt (Jehle et al., 1992). Die Bestimmung des Virustiters erfolgte durch Auszählung der OB mit Hilfe einer Petroff-Hauser-Zählkammer (Tiefe 0,02 mm) im Dunkelfeld eines LEICA-Lichtmikroskops (DMRBE).

1.2.3 Direkt-Biotest zur Bestimmung der Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber dem resistenten AW-Laborstamm NRW-WE und SA-GO

Für die Bestimmung der Wirksamkeit der neuen, resistenzbrechenden CpGV-Isolate, CpGV-S, -V15 und -E2, wurde die bei Eberle & Jehle (2006) beschriebene Direktmethode eingesetzt. Im Biotest wurde L1-Larven eine einzige diskriminierende Viruskonzentration des jeweiligen CpGV-Isolates von $5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium verabreicht. Diese Viruskonzentration entspricht ungefähr einer LC_{95} des sensiblen Laborstammes CpS, d. h. sie bewirkt bei L1-Larven eine mindestens 95 %-ige Mortalität 7 bzw. spätestens 14 Tage nach Versuchsansatz. Die Mortalität resistenter Stämme liegt bei dieser Viruskonzentration in der Regel unter 30 % (Asser-Kaiser et al., 2007; Eberle et al., 2008).

Die Infektionsversuche wurden in autoklavierbaren Schalen (LICEFA, Bad-Salzuflen) durchgeführt, die durch Einsatz eines Rasters in 50 Kompartimente geteilt waren. Jede Rasterschale wurde mit 48 ml frisch zubereitetem Nährmedium gefüllt, in das zuvor 2 ml Virussuspension eingerührt wurden. Für die unbehandelte Kontrolle wurden dem Medium 2

ml Wasser beigemischt. Für jede Virusvariante wurde eine Schale mit je 50 L1-Larven besetzt, die unbehandelte Kontrolle bestand aus zwei Rasterschalen mit insgesamt 100 Tieren. Die Inkubation der Versuchstiere erfolgte bei 26 °C unter Langtagbedingungen. Bereits 24 h nach Versuchsansatz wurde eine erste Mortalitätsbestimmung vorgenommen, die dazu diente, die Anzahl der Tiere, die beim Aufsetzen verletzt und abgetötet wurden, zu bestimmen und vom Versuch auszuschließen. Die Bestimmung der Virusmortalität erfolgte nach 7 und 14 Tagen. Für jede Virus-Wirt-Variante wurden mindestens drei unabhängige Wiederholungen durchgeführt.

Die Mortalitätsdaten wurden anhand der Kontrollmortalität nach Abbott (1925) und auf der Basis der Varianzanalyse (ANOVA) statistisch unter Verwendung des Computerprogramms SAS 9.3. (GLM Prozedur) analysiert.

1.2.4 Resistenzmonitoring mittels Schnelltests mit AW-Freilandstämmen

Die Resistenz-Schnelltests wurden nach der von Schulze-Bopp & Jehle (2013) beschriebenen Methode durchgeführt. Hierbei wurden die in den Anlagen gesammelten Äpfel mit Befall aufgeschnitten, die Larven entnommen und deren Larvenstadien dokumentiert. Die Larven wurden bezüglich ihrer Entwicklung (L1–L5) gleichmäßig auf virusfreies Futter (=Kontrolle) nach Ivaldi-Sender (1974) und virushaltiges Futter verteilt und anschließend bei 26 °C und Langtag (16/8 h hell/dunkel) für 14 Tage weiter gezüchtet. In den Schnelltests wurden die CpGV-Isolate CpGV-S und CpGV-V15 eingesetzt. Die verabreichte Virusmenge im Schnelltest entsprach einer diskriminierenden Viruskonzentration von 2×10^5 OB/ml Medium, die bei Verwendung von L1-L4 Larven nach 14 Tagen bei CpGV-M sensitiven Apfelwicklern Mortalitäten von 98 % bis 100 % hervorruft, bei resistenten Tieren jedoch weniger als 30 % (Eberle et al., 2008; Schulze-Bopp & Jehle, 2013). Da L5-Larven aufgrund ihrer physiologischen Alterstoleranz nicht mehr ausreichend peroral infizierbar sind, wurden diese zur Kontrolle ausschließlich auf unbehandeltes Medium aufgesetzt. Die Sterblichkeit dieser Tiere gab Hinweise auf die Wirkung des im Freiland eingesetzten Viruspräparats und zeigte an, inwieweit möglicherweise - trotz unzureichender Befallsminimierung - eine Reduktion der Folgepopulation zu erwarten war. Die Auswertung der Resistenz-Schnelltests erfolgte 7 und 14 Tage nach Versuchsansatz durch Bonitur der Larvenmortalität.

1.2.5 Empfindlichkeitsvergleich von F1- und F2-Generation des Apfelwicklers

Freilanduntersuchungen mit empfindlichen AW-Stämmen

Im Rahmen des Teilprojektes 2 wurden über 3 Jahre jeweils im Juni/Juli und August/September in unbehandelten Streuobstanlagen befallene Äpfel gesammelt und die daraus entnommenen Apfelwicklerlarven der F1- und F2-Generation einem Schnelltest nach Schulze-Bopp & Jehle (2013) unterzogen. Da in allen Anlagen keine Resistenzen vorlagen und es sich somit gegenüber dem CpGV um normal empfindliche Tiere handelte, wurden die

Infektionsversuche mit dem herkömmlichen CpGV-M durchgeführt. Hierfür wurden die Larven (L2 – L4) auf Nährmedium aufgesetzt, dem das CpGV-M in einer Konzentration von 4000 OB/ml beigemischt worden war. Die Tiere wurden 14 Tage bei 26 °C und unter Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel) weitergezüchtet. Bei der eingesetzten Viruskonzentration von 4000 OB/ml reagierte der empfindliche AW-Laborstamm CpS im Biotest mit L1-Larven nach 14 Tagen mit einer etwa 95 %-igen Mortalität. Als Kontrolle dienten Tiere, die auf virusfreies Medium aufgesetzt wurden. Die nach 7 und 14 Tagen ermittelten Mortalitätsdaten wurden anhand der Kontrollmortalität nach Abbott (1925) korrigiert. In der Regel findet man in den befallenen Äpfel Larven unterschiedlicher Stadien (L1-L5), wobei aufgrund einer entwicklungsbedingten Toleranz gegenüber dem CpGV L5-Larven vom Infektionsversuch ausgeschlossen und ausschließlich auf Kontrollmedium aufgesetzt wurden.

Laboruntersuchungen mit einem resistenten AW-Stamm

Für die Untersuchungen wurden ca. 300 L1-Larven aus der 37. Generation des resistenten Laborstammes NRW-WE auf Zuchtmedium aufgesetzt und bei 26 °C und Kurztagbedingungen (8/16 h hell/dunkel) bis zum Ende der Larvalentwicklung gehalten. Nach etwa 20 Tagen wurden die Larven (L5) abgesammelt und in Plastikdosen mit Wellpapprollen überführt. In der Wellpappe entwickelten sich die Tiere zu Diapauselarven, d. h. die Verpuppung blieb aus. Die Diapauselarven wurden über etwa 20 Wochen und bei 4 °C und Dunkelheit gelagert. Durch Einstellen von Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel) und sukzessive Erhöhung der Temperatur wieder auf 26 °C konnte das Ruhestadium beendet werden. Innerhalb von weiteren 3 Wochen entwickelten sich etwa 40 % der Diapauselarven zum Falter. Die hieraus resultierende erste Generation (F1) wurde bei 26 °C und Langtagbedingungen weiter gezüchtet, um eine Folgegeneration (F2) zu erhalten. In Biotests nach der Direktmethode (siehe 1.2.3) mit L1-Larven aus beiden Generationen, F1 und F2, wurde die Empfindlichkeit der Tiere sowohl gegenüber CpGV-M als auch den resistenzbrechenden Isolaten CpGV-S und CpGV-V15 bestimmt unter Verwendung einer diskriminierenden Viruskonzentration von 2×10^5 OB/ml Medium. Zur statistischen Absicherung wurde die Induktion der Diapause in unabhängigen Ansätzen zweimal wiederholt, wofür jeweils L1-Larven der 38. und 39. Generation des resistenten Stammes NRW-WE entnommen wurden. Die Empfindlichkeit der Tiere der F1- und F2- Generation wurde jeweils bestimmt.

1.2.6 Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten

Etablierung homogener resistenter Linien des Stammes NRW-WE

Die Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz erfolgten mit dem resistenten Laborstamm NRW-WE, von dem zunächst unter Virusdruck homogen resistente Linien erzeugt wurden. Hierfür wurden L1-Larven (jeweils ca. 300 Tiere) aus der Laborzucht seriell auf CpGV-M- und CpGV-S-haltigem Futter nach einer Methode von Berling et al. (2009a) und Zichovà et al. (2013) selektiert, wobei die Nachkommen der überlebenden Tiere jeweils auf virushaltigem Futter weiter gezüchtet wurden. Für die Selektion der resistenten Tiere wurde

eine hohe Viruskonzentration von 2×10^5 OB/ml Medium verwendet. Bei der gewählten Konzentration war zu erwarten, dass bei Z-gebundener Vererbung der Resistenz 14 Tage nach Versuchsansatz nicht nur alle homozygot sensiblen Männchen ($Z^S Z^S$) und heterogametisch sensiblen Weibchen ($Z^S W$) sondern auch heterozygot resistente Männchen ($Z^R Z^S$) sterben. Mit hoher Wahrscheinlichkeit überleben die Virusexposition somit überwiegend homozygot resistente Männchen ($Z^R Z^R$) und heterogametisch resistente Weibchen ($Z^R W$). Aus der wiederholten Selektion unter Virusdruck über fünf Generationen resultierten zwei genetisch homogene, resistente Apfelwickler-Linien - NRW-WE-5-M (CpR5M) und NRW-WE-5-S (CpR5S), die als separate Laborzuchten gehalten wurden und für die Kreuzungsexperimente zur Verfügung standen.

Tests auf Homogenität

Zur Überprüfung der Empfindlichkeit der selektierten NRW-WE-Linien gegenüber CpGV-M und CpGV-S wurden die Tiere aus der fünften Passage nach der unter 1.2.3 beschriebenen Direktmethode getestet. Hierbei wurden die L1-Larven einer diskriminierenden Viruskonzentration von $5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium ausgesetzt, die bei sensiblen Larven bereits nach 7 Tagen zu einer Mortalität von 95 % führt. Die Bestimmung der Mortalität im Biotest erfolgte nach 7 und 14 Tagen Inkubation bei 26 °C und unter Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel). Als Referenz dienten Tiere des ursprünglichen nicht selektierten Laborstammes von NRW-WE.

Kreuzungsexperimente

Aufgrund der Etablierung homogener AW-Linien des resistenten Stammes NRW-WE konnten statt Einzelpaarkreuzungen sogenannte Massenkreuzungen mit jeweils 5 bis 10 Falterpaaren vorgenommen werden. In den hybriden Kreuzungen wurden Individuen der beiden homogen resistenten Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S eingesetzt und jeweils mit Faltern des CpGV empfindlichen Laborstammes (CpS) reziprok gekreuzt, d. h. resistente Männchen (CpR5M/S ♂) mit sensiblen Weibchen (CpS ♀) und resistenten Weibchen (CpR5M/S ♀) mit sensiblen Männchen (CpS ♂). Von jeder Kreuzungsvariante wurden mindestens drei unabhängige Wiederholungen vorgenommen (Abb. 1.1 a)

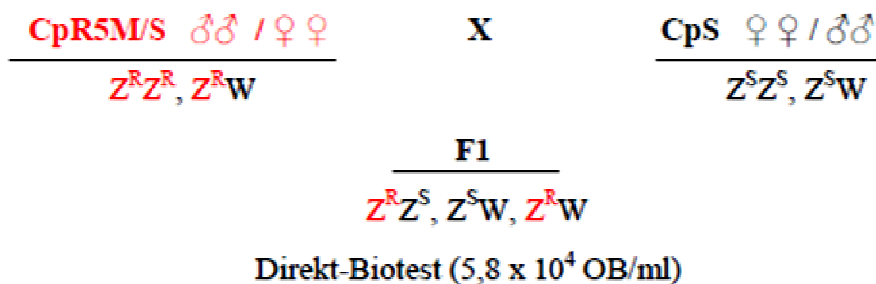
Die Falterpaare wurden in mit Gaze bespannten Kunststoffzylindern bei 22 °C und unter Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel) gehalten. Zur Eiablage dienten eingehängte Parafilmstreifen und als Nahrung wurde 10 %-iges Honigwasser angeboten. Im Gegensatz zur Haltung von Einzelpaaren war die Eiablage bei den Massenkreuzungen ausreichend, so dass für die anschließenden Biotests genügend L1-Larven zur Verfügung standen.

Die Nachkommen aus den Kreuzungen (L1-Larven) wurden im Direkt-Biotest nach der unter 1.2.3 beschriebenen Methode einer diskriminierenden Viruskonzentration von $5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium ausgesetzt, sowohl von CpGV-M als auch von CpGV-S. Die Mortalitäten, die Hinweise auf den Vererbungsmodus der Resistenz geben, wurden bis zur Verpuppung nach 7, 14 und 28 Tagen bestimmt und zusätzlich wurde das Geschlecht aller überlebenden Puppen ermittelt.

Als Kontrolle in den Direkt-Biotests dienten jeweils L1-Larven, die auf unbehandeltes Medium aufgesetzt wurden. Alle männlichen Tiere aus den Kontrollen (F1♂) der Biotests der jeweiligen Kreuzungen, wurden bis zum Adultstadium weiter gezüchtet und direkt in den

Rückkreuzungen mit Weibchen der Elterngeneration (CpS♀ bzw. CpR5M/S♀) eingesetzt (Abb. 1.1 b). Für jeden Kreuzungsansatz wurden 8-10 Falterpaare in jeweils 3 unabhängigen Wiederholungen gebildet und wie bereits beschrieben zur Kopulation und Eiablage gebracht. Die Nachkommen aus diesen Rückkreuzungen wurden wiederum zur Überprüfung ihrer Empfindlichkeit im Direkt-Biotest mit einer diskriminierenden Viruskonzentration ($5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium) von CpGV-M und -S eingesetzt. Die resultierenden Mortalitätsverhältnisse geben Hinweise darauf, inwieweit die Vererbung der Resistenz bei den selektierten resistenten Linien von NRW-WE dem bereits beschriebenen, geschlechtsgebunden Vererbungsmodus folgt oder aber Abweichungen zeigt.

a) Kreuzungen (Kr) der F0



b) Rückkreuzungen (RKr) der F1

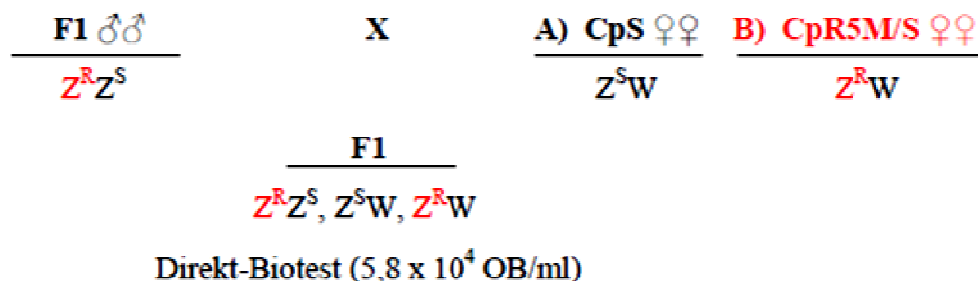


Abb.1.1 a und b: Übersicht der durchgeführten Kreuzung zwischen resistenten (CpR5M/S) und sensiblen (CpS) Apfelwicklern. CpR5M/S bezeichnet die homogen resistenten Linie NRW-WE-5-M bzw. NRW-WE-5-S. Angegeben sind die jeweiligen Genotypen für die Hypothese einer geschlechtsgebundenen und monogametischen Vererbung der Resistenz. In den Kreuzungen „Kr“ (a) wurden ♂♂ und ♀♀ von CpR mit den reziproken Geschlechtern von CpS gekreuzt. Die Rückkreuzungen „RKr“ (b) wurden mit den F1 ♂ aus den Massenkreuzungen (Kr) mit den ♀ beider Eltern – mit CpS♀ (A) und mit CpR5M/S♀ (B) - durchgeführt. Die Mortalität der Nachkommen aus den Kreuzungen (Kr und Rkr) wurde jeweils im Direkt-Biotest mit CpGV-M und CpGV-S ermittelt.

1.2.7 Tests zur Mischbarkeit des CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten

Die in den Mischbarkeitstests mit CpGV-M bei 4- bzw. 12-stündiger Expositionszeit verwendeten kommerziellen Präparate sind in Tab. 1.2 aufgelistet. Für die Durchführung der Untersuchungen mit verlängerter Expositionszeit (12 Stunden) wurden zwei Fungizide, Cuprozin 2720 WP und Cuprozin Progress, eingesetzt, sowie die als Pflanzenstärkungsmittel gelisteten Produkte Myco-Sin, Ulmasud B, VitiSan und Molke. Alle Präparate wurden entsprechend der praxisüblichen Konzentrationen (Wasservolumen von 300 l pro ha und 2 m Kronenhöhe) in einem Volumen von 200 ml Wasser angesetzt, wobei für die Präparate MycoSin und Düngeal zwei verschiedene Konzentrationen verwendet wurden. Die pH-Werte wurden direkt nach Ansatz der Präparatelösungen mit Indikatorstreifen (Roth, Art.Nr: C731 pH 4,5-10 und MERCK, Art Nr. 9541 pH 2,5-4,5) bestimmt.

Nach Zugabe von CpGV-M ($2,4 \times 10^5$ OB/ml) wurden die Suspensionen für 4 bzw. 12 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die 4-stündige Einwirkzeit entspricht dabei annäherungsweise den angenommenen Bedingungen während der Spritzung der Tankmischungen im Freiland. Als Positiv-Kontrolle diente eine unbehandelte Suspension des CpGV-M, die ebenfalls für 4 bzw. 12 Stunden bei Raumtemperatur in Wasser inkubiert wurde. Die anschließende Bestimmung der Virusaktivität erfolgte in Biotests mit L1-Larven des sensiblen AW-Laborstammes CpS.

Hierfür wurden Aliquots der Präparate-Virus-Suspensionen mit frisch zubereitetem Nährmedium (nach Ivaldi-Sender, 1974) vermischt und in Biotest-Rasterschalen (LICEFA, Bad-Salzuflen) gefüllt. Am folgenden Tag wurde für jedes Präparat eine Rasterschale mit 50 L1-Larven besetzt. Die Larven wurden bei 26 °C und 60-70 % relativer Luftfeuchte unter Langtagbedingungen (16/8 h hell/dunkel) inkubiert. Die Mortalität der Versuchstiere wurde nach 7 und 14 Tagen bestimmt und mit der Sterblichkeit der Kontrolltiere verglichen. Als Kontrolle wurde das CpGV-M in gleicher Konzentration direkt in das Nährmedium eingerührt. Bei dieser Viruskonzentration war im Biotest nach 7 Tagen eine 70 %-ige und nach 14 Tagen eine 100 %-ige Mortalität zu erwarten. Die Biotests wurden dreimal unabhängig wiederholt, so dass der Testumfang bei 100 Tieren je Präparat lag.

Tab. 1.2: Übersicht der in Mischungen mit CpGV-M getesteten Präparate. Angegeben sind die in der Praxis üblichen Aufwandmengen der Präparate und die pH-Werte der entsprechenden Lösungen direkt nach Ansatz ermittelt mit Indikatorstreifen (Kh = Kronenhöhe).

Präparat (Inhaltsstoff)	Aufwandmenge auf 300 l Wasser bei 2 m Kh	pH-Wert gemessen direkt
<i>Produkte mit fungizider Wirkung</i>		
Cuprozin Progress	2 l	7,0
Cuprozin 2720 WP (Funguran Progress)	1,42 kg	7,0
<i>Pflanzenstärkungsmittel</i>		
Cocana	8 kg	10,0
Myco-Sin (Aluminiumsulfat, Schwefelsaure Tonerde)	8 kg 2,4 kg	3,5 3,5
Ulmasud B	8 kg	3,3
VitiSan	5 kg	8,5
HF-Pilzvorsorge	4 l	6,5
CutiSan	2 kg	7,0
Omniprotect	6 kg	11,5
<i>Andere Produkte</i>		
Molke	14 kg	4,5
Ventex	9 kg	11,5
Süßholzextrakt	40 l	7,0
Düngal (Calciumchloridlösung)	20 l	7,0
Orangenöl	4 l	7,0

1.3 Ergebnisse und Diskussion

1.3.1 Bestimmung der Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber den resistenten Laborstämmen NRW-WE und SA-GO

Die Anwendung resistenzbrechender Isolate, wie Madex Plus und Madex Max sowie das ursprünglich aus dem Iran stammende Isolat CpGV-I12 (Rezapanah et al., 2008), zeigten in den ökologisch bewirtschafteten Apfelanlagen NRW-WE und SA-GO keine ausreichende Befallsreduzierung des Apfelwicklers. Erst durch den Einsatz eines weiteren selektierten Isolats (CpGV-V15) der Firma Andermatt Biocontrol AG (Schweiz) konnten in der Saison 2010 und 2011 im Betrieb NRW-WE erste Erfolge bei der Befallsminimierung erreicht werden. In Biotests im Labor wurde die Wirkung von CpGV-V15 im Vergleich zu den resistenzbrechenden Isolaten CpGV-S und CpGV-E2 gegenüber den im Labor gezüchteten, hoch resistenten Stämmen NRW-WE und SA-GO überprüft. Als Referenz wurde zusätzlich das Isolat CpGV-M eingesetzt, für das bereits 2005 eine Resistenz von NRW-WE nachgewiesen wurde (Fritsch et al., 2005). Für SA-GO erfolgte der Resistenznachweis im Jahr 2008.

Die Ergebnisse der Biotests mit diskriminierender Viruskonzentration von $5,8 \times 10^4$ OBS/ml Medium zeigten im Mittel nach 7 Tagen für CpGV-M und CpGV-S keinen signifikanten Unterschied (ANOVA, $P=0,8448$) in der Reaktion der Testlarven von NRW-WE (ANOVA, $P=0,8448$) und SA-GO (ANOVA, $P=0,9709$). Die Mortalitätswerte für NRW-WE (8,9 % bzw. 6,7 %) und SA-GO (2,4 % bzw. 2,0 %) waren aber deutlich niedriger im Vergleich zu den jeweiligen Werten für CpGV-V15 und CpGV-E2 (Abb. 1.2 a und b). Auch nach 14-tägiger Versuchsdauer stieg die Mortalität der mit CpGV-S infizierten Larven von NRW-WE lediglich auf 26,8 % an und lag damit unter dem Wert für das Referenzisolat CpGV-M (45,6 %). Bei SA-GO wurden nach 14 Tagen für CpGV-S (6,5 %) und für CpGV-M (8 %) geringere Mortalitäten beobachtet, die sich nicht signifikant unterschieden. Die geringen Mortalitätswerte auch nach 14-tägiger Inkubationszeit bestätigen die Resistenz der beiden Stämme NRW-WE und SA-GO gegenüber dem Isolat CpGV-S, wie sie im Freiland Einsatz beobachtet wurde.

Die Isolate CpGV-V15 und -E2 führten im Biotest nach 7 Tagen bei beiden AW-Stämmen zu deutlich höheren Mortalitäten von 40,3 % bzw. 69,6 % bei NRW-WE und 37,3 % bzw. 37,9 % bei SA-GO. Bei NRW-WE war die Wirkung von CpGV-E2 im Vergleich zu CpGV-V15 um den Faktor 1,7 signifikant besser (ANOVA, $P=0,013$). Nach 14 Tagen stiegen die Mortalitäten bei diesem Stamm im Biotest auf 86,5 % bzw. 100 % Mortalität an, wobei sich CpGV-V15 und CpGV-E2 nicht mehr signifikant in ihrer Wirkung unterschieden (ANOVA, $P=0,072$). Auch bei SA-GO zeigten die Isolate CpGV-V15 und -E2 nach 14-tägiger Inkubation eine gute Wirkung, wobei sich die Mortalitätswerte mit 80,8 % bzw. 91,7 % nicht signifikant unterschieden (ANOVA, $P=0,0565$).

In der Regel ist bei einem für das CpGV sensiblen AW-Stamm im Biotest bei der gewählten Infektionskonzentration bereits nach 7 Tagen eine Sterblichkeit von >95 % zu erwarten. Die

im Versuch mit CpGV-V15 und -E2 nach 7 Tagen sichtlich verzögerte Reaktion der Versuchstiere, wurde bislang bei allen getesteten, resistenzbrechenden CpGV-Isolaten beobachtet (Jehle, 2008). Dennoch zeigten die Ergebnisse der Labortests eine deutliche resistenzbrechende Wirkung für CpGV-V15 und -E2 gegenüber den resistenten AW-Stämmen NRW-WE und SA-GO. Die Empfindlichkeit des resistenten Stammes NRW-WE konnte auch im Freiland beobachtet werden, nachdem im Sommer 2011 das resistenzbrechende Präparat CpGV-V15 in der Apfelanlage eingesetzt worden war.

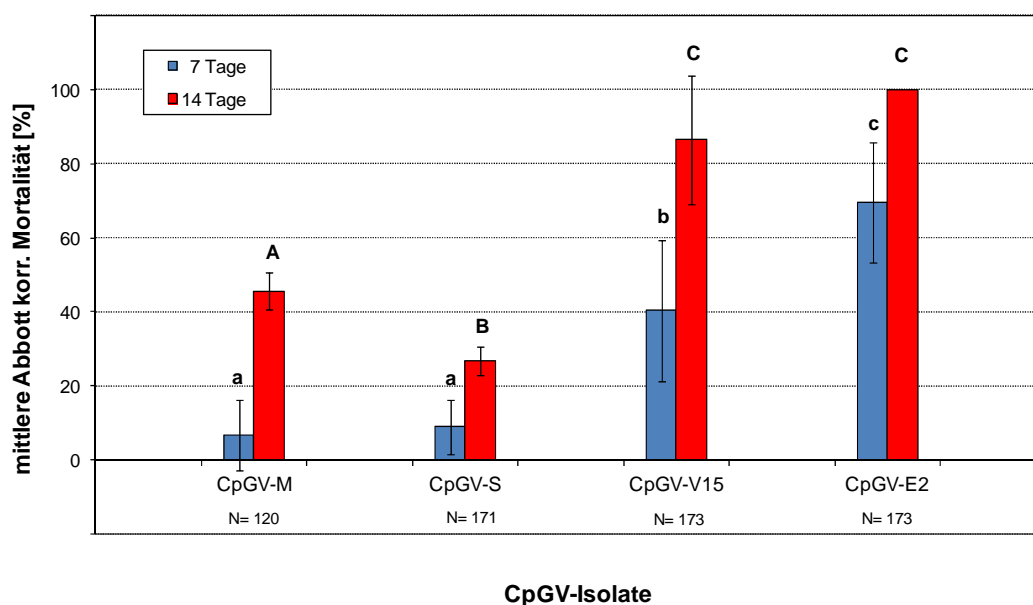


Abb. 1.2 a: Mittlere nach Abbott (1925) korrigierte Mortalität von L1-Larven des resistenten Laborstammes NRW-WE im Biotest mit diskriminierender Viruskonzentration ($5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium) nach 7 und 14 Tagen. Die senkrechten Balken kennzeichnen die Standardabweichung. Die Werte, die mit den gleichen Buchstaben (7 Tage-Vergleich: a, b, c und 14 Tage-Vergleich: A, B, C) gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nicht signifikant (SAS 9.3, Proc. GLM, Duncan's multiple range test, $P=0,05$).

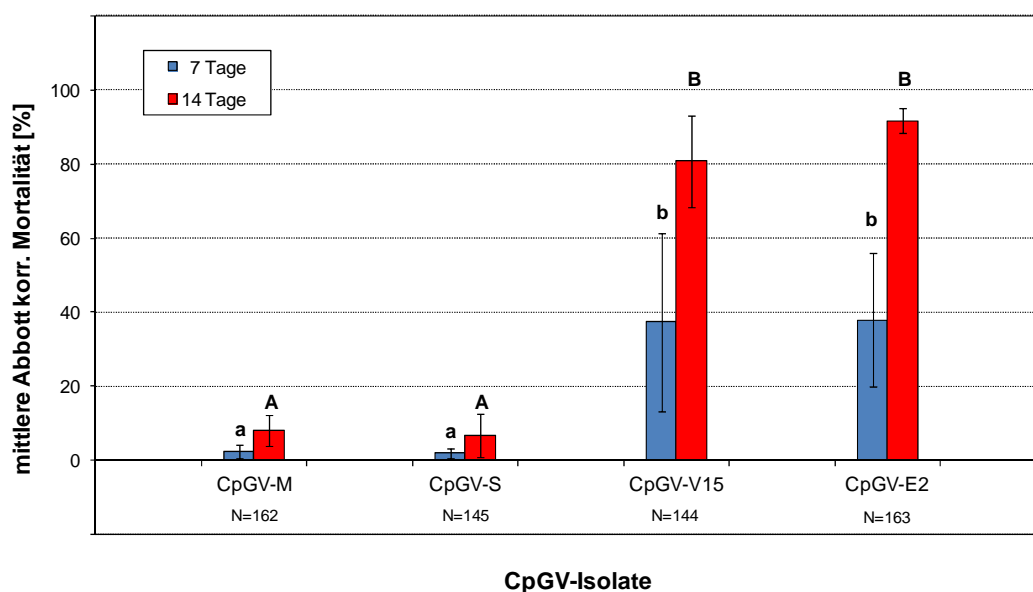


Abb. 1.2 b: Mittlere nach Abbott (1925) korrigierte Mortalität von L1-Larven des resistenten Laborstammes SA-GO im Biotest mit diskriminierender Viruskonzentration ($5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium) nach 7 und 14 Tagen. Die senkrechten Balken kennzeichnen die Standardabweichung. Die Werte, die mit den gleichen Buchstaben (7 Tage-Vergleich: a, b und 14 Tage-Vergleich: A, B) gekennzeichnet sind, unterscheiden sich nicht signifikant (SAS 9.3, Proc. GLM, Duncan's multiple range test, $P=0,05$).

1.3.2 Monitoring der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten in ökologisch bewirtschafteten Apfel-Anlagen in verschiedenen Regionen Deutschlands

In ausgewählten Betrieben der kooperierenden Partner (siehe Teilprojekt 2) wurden Problemanlagen mit z. T. bereits nachgewiesener Resistenz gegen CpGV-M mit den neuen, resistenzbrechenden CpGV-Isolaten Madex Max und CpGV-V15 behandelt. Um einer potentiellen Resistenzentwicklung auch gegenüber den neuen CpGV-Präparaten möglichst schnell entgegenwirken zu können, wurde in den behandelten Apfelanlagen frühzeitig ein Monitoring vorgenommen. Hierzu wurden zur Bestimmung der Wirksamkeit der neuen CpGV-Isolate in den behandelten Anlagen zwischen 2010 und 2013 Apfelwicklerlarven während der Vegetationsperiode gesammelt und im Labor einem Resistenz-Schnelltest nach der Methode von Schulze-Bopp & Jehle (2013) unterzogen. Diese Methode erlaubte ein schnelles Screening resistenter AW-Populationen noch während der Vegetationsperiode.

Ergebnisse 2010

Die 2010 im Schnelltest im Labor ermittelten Ergebnisse sind für sechs untersuchte Anlagen in Abb. 1.3 dargestellt. In den Äpfeln aus den Anlagen wurden nahezu alle Larvenstadien von L1 bis L5 gefunden. In vier der getesteten Anlagen BW-LF-10, BW-SM-10, SL-SA-10 und RP-NS-10 erwies sich die Behandlung mit Madex Max als wirksam, was sich in den Larvenmortalitäten der L1 bis L4 bzw. L5 von 60 bis 100 % zeigte. Eine Exposition der Larven auf CpGV-S und zusätzlich auf CpGV-V15 ergab eine weitere Erhöhung der Mortalitäten auf 90 bis 100 %. Bei diesen Testtieren, die auf CpGV-S bzw. CpGV-V15 Medium gehalten wurden, war zwar eine Coinfektion mit Madex Max durch die Freilandspritzung nicht auszuschließen, dennoch zeigten die Isolate eine deutliche Wirkungssteigerung im Labortest. Bei der Anlage RP-NS-10 war auffällig, dass in der Kontrolle 42 % der Larven (L2-L5) überlebten, was vermutlich auf den verspäteten Einsatz der Spritzungen mit Madex Max zurückzuführen war. Die ersten drei Spritzungen in dieser Anlage erfolgten zunächst mit Madex3, einem CpGV-M-Isolat, gegenüber dem sich die Population bereits 2004 als resistent erwiesen hatte. Im Schnelltest mit CpGV-S konnte die Mortalität auf 97 % gesteigert werden. Das Isolat CpGV-V15 erzielte bei Testtieren der Anlage SL-SA-10 mit 100 % Mortalität eine sehr gute Wirkung.

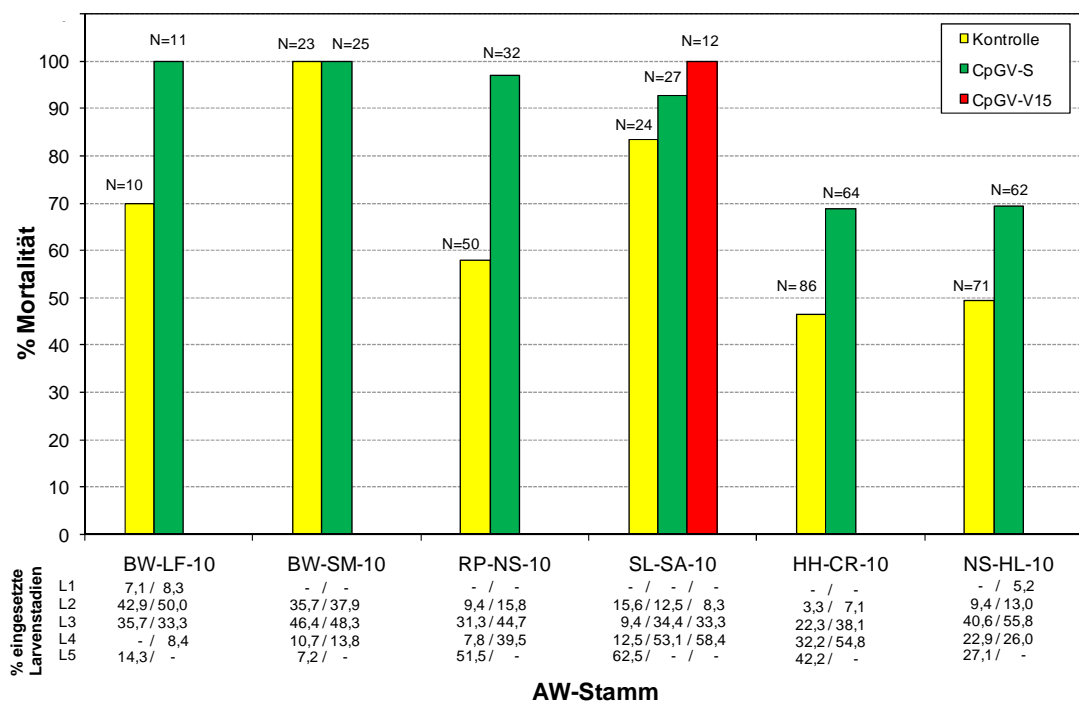


Abb. 1.3: Ergebnisse der Resistenz-Schnelltests 2010 mit Apfelwicklern der F1-Generation, die in mit Madex Max behandelten Anlagen gesammelt worden waren. Angegeben sind die Mortalitäten (%) der Larven, ermittelt 14 Tage nach Versuchsansatz auf virusfreiem Kontrollmedium und mit CpGV-S bzw. CpGV-V15 behandeltem Futter (2×10^5 OB/ml). Für die Kontrolle wurden L1-L5 Larven eingesetzt und für die Virusvariante L1-L4 Stadien.

Von den Apfelwicklern, die aus den Anlagen HH-CR-10 und NS-HL-10 stammten, überlebten etwa 55 % der L2-L5 im Schnelltest nach 14 Tagen auf virusfreiem Kontrollmedium. In der Anlage HH-CR-10 könnten die zu Beginn der Behandlung erfolgten Spritzungen mit Madex3 ein Grund dafür sein, dass der Befall nicht abgestoppt werden

konnte und sich die Larven im Apfel weiter entwickelten. Aber auch das Isolat CpGV-S konnte die Larvenmortalität im Biotest nur auf etwa 70 % steigern. Das gleiche Ergebnis zeigte sich bei den Testtieren aus der Anlage NS-HL-10. Für die Apfelanlagen HH-CR und NS-HL wird daher vermutet, dass sowohl das gespritzte Präparat Madex Max als auch das im Labor getestete Isolat CpGV-S nur eine unzureichende Wirkung auf die Populationen haben, was auf eine Resistenzentwicklung hinweist.

Ergebnisse 2011

Die Ergebnisse der Resistenz-Schnelltests nach Anwendung der resistenzbrechenden CpGV-Isolate Madex Max und CpGV-V15 in ausgewählten Problemanlagen in verschiedenen Regionen Deutschlands sind in Abb. 1.4 dargestellt. Die Gesamtzahl der aus den Äpfeln entnommenen Larven variierte zwischen 18 und 82 Tieren für die einzelnen Anlagen. Es waren sämtliche Larvenstadien von L1 bis L5 zu finden, wobei L2- bis L4-Larven zahlenmäßig überwogen.

In den mit CpGV-V15 behandelten Anlagen erreichte die Sterblichkeit der Kontrolltiere 14 Tage nach Versuchsansatz 100 % für die Anlagen SL-SA-11 und HH-CR-11 und 92,1 % für NRW-WE-11, wobei hier drei Tiere das Falterstadium erreichten (Tab. 1.3). Die Verabreichung von CpGV-V15-Medium führte bei den Tieren aus allen drei Anlagen zu 100 % Mortalität. Bei SL-SA-11 wurde für CpGV-S (= Madex Max) im Schnelltest zwar ebenfalls 100 % Mortalität erreicht, allerdings war hier eine mögliche Koinfektion der Tiere mit CpGV-V15 aus der Feldbehandlung nicht auszuschließen. Die hohe Sterblichkeit der Kontrolltiere wies darauf hin, dass die Spritzungen mit dem resistenzbrechenden Isolat CpGV-V15 in den Problemanlagen im Freiland eine sehr gute Wirkung zeigten. Das Erreichen einer 100 %-igen Mortalität im Schnelltest mit CpGV-V15 belegt auch gegenüber dem resistenten AW-Stamm NRW-WE-11 eine hohe Wirksamkeit dieses Viruspräparats.

Bei allen AW-Stämmen, die im Freiland mit dem Präparat Madex Max behandelt wurden, lag die Sterblichkeit der Kontrolltiere mit 25 - 77,8 % deutlich niedriger. Die Mehrzahl der überlebenden Tiere starb zu einem späteren Zeitpunkt noch ab, nur für NS-HL-11 wurden eine Diapauselarve und für NS-JO-11 zwei Präpuppen nach 40 Tagen registriert (Tab. 1.3). Nach 14-tägiger Exposition auf CpGV-S behandeltem Medium im Schnelltest, waren alle Larven aus der Anlage BW-ST-11 tot, was auf eine gute Wirksamkeit des Isolats bzw. des Präparates Madex-Max hinwies. Für die übrigen getesteten AW-Stämme lagen die Mortalitäten jedoch nur zwischen 66,7 und 82 %. Die Überlebenden starben zu einem späteren Zeitpunkt noch ab, allerdings konnten aufgrund starker Verpilzung des Mediums nicht alle Bonituren bis zum 40. Tag nach Versuchsbeginn erfolgen. Die Beobachtungen lassen vermuten, dass CpGV-S (= Madex Max) zwar eine Wirkung zeigte, diese aber erst verzögert eintrat und ein längeres Überleben der Apfelwicklerlarven, möglicherweise auch im Freiland zur Folge hatte, was den in der Anlage beobachteten höheren Fruchtschaden erklären könnte. Bei dem AW-Stamm NS-JO-11 zeigte sich im Schnelltest nach 14 Tagen mit CpGV-S eine Mortalität von 66,7 % und mit CpGV-V15 von 90,9 %, wobei alle überlebenden Larven später noch an einer Virusinfektion starben. Im Vergleich zu dem Isolate CpGV-V15 erwies sich das Präparat Madex Max in den Schnelltests nach 14 Tagen insgesamt als weniger

wirksam gegenüber den untersuchten AW-Stämmen. Ein Vergleich der Ergebnisse der Schnelltests von 2011 und 2010 für die Anlagen SL-SA und HH-CR zeigt ebenfalls, dass mit dem Einsatz von CpGV-V15 eine bessere Wirkung erzielt werden konnte (Abb. 1.4). In der Anlage NS-HL, in der Madex Max im Jahr 2011 erneut verwendet wurde, war keine Wirkungssteigerung gegenüber 2010 zu beobachten und die Mortalität der Versuchstiere lag wiederum nur bei 66,7 % im Schnelltest nach 14 Tagen.

Die Ergebnisse der Schnelltests 2011 belegen, dass in besonderen Problemanlagen, in denen aufgrund der Resistenzentwicklung des Apfelwicklers das resistenzbrechende Präparat Madex Max nicht den gewünschten Bekämpfungserfolg zeigte, auf das neu entwickelte und wirksamere Präparat CpGV-V15 zurückgegriffen werden kann.

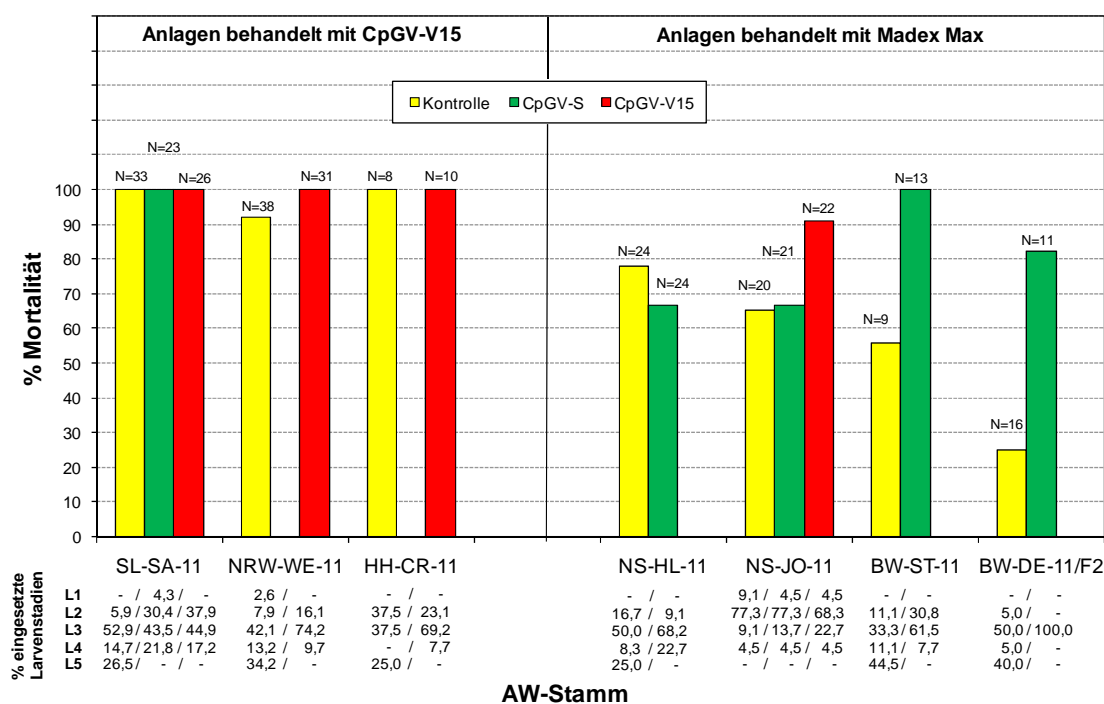


Abb. 1.4: Ergebnisse der Resistenz-Schnelltests 2011 mit Apfelwicklern der F1-Generation (und F2-Generation bei BW-DE-11), die in mit CpGV-V15 und Madex Max behandelten Anlagen gesammelt worden waren. Angegeben sind die Mortalitäten der Larven, die 14 Tage nach Versuchsansatz auf virusfreiem Kontrollmedium und mit CpGV-S bzw. -V15 behandeltem Futter (2×10^5 OB/ml) ermittelt wurden. Für die Kontrolle wurden L1- bis L5-Larven eingesetzt und für die Virusvariante L1- bis L4-Stadien.

Tab. 1.3: Übersicht der überlebenden Apfelwickler in den Schnelltests von 2011 bis 2013. Für die mit „x“ gekennzeichneten Versuchstiere, konnten aufgrund starker Verpilzung des Mediums keine Angaben gemacht werden.

AW-Stamm (Behandlung)	Variante im Schnelltest (Larvenstadien)	Anzahl Tiere getestet	Überlebende nach 14 Tagen	Überlebende nach 40 Tagen
NRW-WE-11 (CpGV-V15)	Kontrolle 1 (L5)	13	3	3 Falter
	Kontrolle 2 (L1-L4)	25	0	0
	CpGV-V15 (L2-L4)	31	0	0
SL-SA-11 (CpGV-V15)	Kontrolle 1 (L5)	9	0	0
	Kontrolle 2 (L2-L4)	24	0	0
	CpGV-V15 (L2-L4)	26	0	0
	CpGV-S (L2-L4)	23	0	0
HH-CR-11 (CpGV-V15)	Kontrolle 1 (L5)	2	0	0
	Kontrolle 2 (L2-L4)	6	0	0
	CpGV-V15 (L2-L4)	10	0	0
NS-HL-11 (Madex Max)	Kontrolle 1 (L2-L4)	18	4	x
	Kontrolle 2 (L5)	6	1	1 Diapauselarve
	CpGV-S (L2-L4)	24	8	0
NS-JO-11 (Madex Max)	Kontrolle (L1-L4)	20	7	0
	CpGV-S (L1-L4)	21	7	0
	CpGV-V15 (L1-L4)	22	2	0
BW-ST-11 (MadexMax)	Kontrolle 1 (L5)	4	2	2 Präpuppen
	Kontrolle 2 (L2-L4)	5	2	x
	CpGV-S (L2-L4)	13	0	0
BW-DE-11 (F2) (Madex Max)	Kontrolle 1 (L5)	8	7	x
	Kontrolle 2 (L2-L4)	8	5	x
	CpGV-S (L3)	11	2	x
NS-JO-12 (CpGV-V15)	Kontrolle 1 (L5)	1	0	0
	Kontrolle 2 (L2-L4)	33	0	0
	CpGV-V15 (L2-L3)	37	0	0
NS-JOG-12 (CpGV-V15)	Kontrolle (L2-L4)	14	0	0
	CpGV-V15 (L2-L3)	15	0	0
BW-DE-13 (F2) (Madex Max)	Kontrolle 1 (L5)	10	1	0
	Kontrolle 2 (L3-L4)	22	4	2 Diapauselarven
	CpGV-S (L1-L4)	29	2	0
NS-BS-13 (F2) (Madex Max)	Kontrolle (L2-L4)	39	32	29 Diapauselarven + 1 Falter
	CpGV-S (L2-L4)	55	44	38 Diapauselarven + 2 Falter

Ergebnisse 2012

In Norddeutschland wurden im Sommer 2012 zwei Problemanlagen mit dem resistenzbrechenden Präparat CpGV-V15 behandelt und anschließend die Wirksamkeit mittels Schnelltests im Labor überprüft. Hierfür konnten in der Anlage NS-JO-12 aus 243 gesammelten Äpfeln insgesamt 71 Larven und in der Anlage NS-JOG-12 aus 200 Äpfeln insgesamt 29 Larven entnommen werden. Es waren Larvenstadien von L2 bis L5 zu finden, wobei L2- und L3-Larven zahlenmäßig überwogen.

In der Anlage NS-JOG-12 erreichte die Sterblichkeit der Kontrolltiere bereits 7 Tage nach Versuchsansatz 100 % und auch die Exposition der Larven auf CpGV-V15 resultierte in einer 100 %-igen Mortalität (Abb. 1.5). Von den Kontrolltieren aus der Anlage NS-JO-12 verstarben 94,1 % nach 7 Tagen und 100 % nach 14 Tagen. Die Mortalität der Larven, die auf Futter mit CpGV-V15 aufgesetzt wurden, lag nach 7 Tagen bei 94,6 % und nach 14 Tagen ebenfalls bei 100 %. Bereits 2011 wurden Apfelwicklerlarven aus dem Betrieb NS-JO allerdings nach Behandlung mit Madex Max im Schnelltest mit CpGV-V15 untersucht. Die Mortalität lag hierbei nach 14 Tagen mit 90,9 % niedriger, wobei alle überlebenden Larven später noch an einer Virusinfektion starben (Tab. 1.3).

Die untersuchten AW-Stämme NS-JOG-12 und NS-JO-12 erwiesen sich in den Schnelltests als deutlich sensitiv gegenüber dem neuen Isolat CpGV-V15. Die hohe Sterblichkeit der Kontrolltiere bereits nach 7 Tagen war ein Beleg dafür, dass auch im Freiland die Applikation des resistenzbrechenden CpGV-Präparates in den untersuchten Problemanlagen eine sehr gute Wirksamkeit gegenüber dem Apfelwickler zeigte.

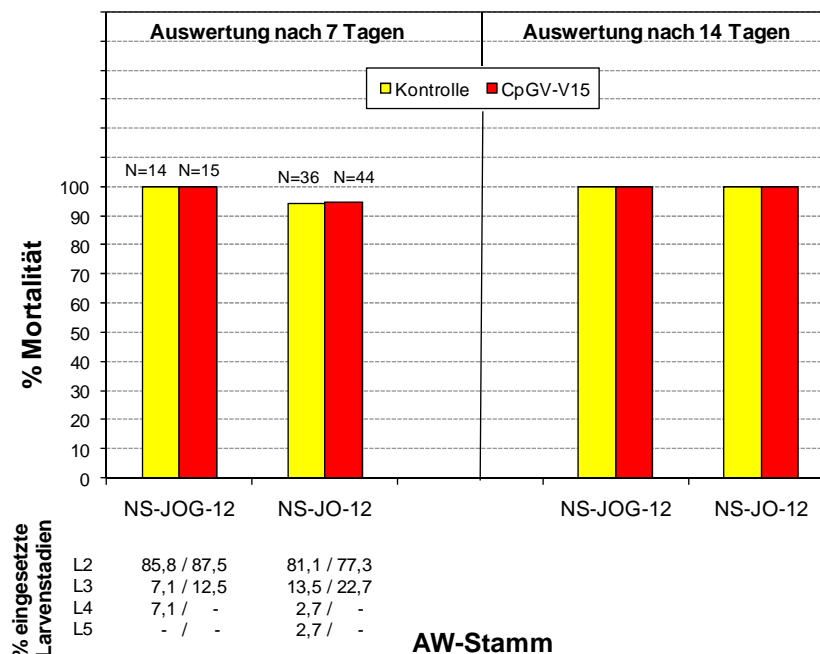


Abb. 1.5: Ergebnisse der Resistenz-Schnelltests mit Larven der F1-Generation, die im Sommer 2012 in den mit CpGV-V15 behandelten Anlagen NS-JOG-12 und NS-JO-12 gesammelt worden waren.

Angegeben sind die Mortalitäten der Larven, die 7 und 14 Tage nach Versuchsansatz auf unbehandeltem Kontrollmedium und CpGV-V15 behandeltem Futter (2×10^5 OB/ml) ermittelt wurden. Für die Kontrolle wurden L2- bis L5-Larven eingesetzt und für die Virusvariante L2- und L3-Stadien.

In dem Betrieb NS-JOG-12 wurden zusätzlich Tiere aus einer unbehandelten Parzelle (NS-JOG(K)-12) hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber CpGV-M untersucht. Es wurden 84 Äpfel gesammelt, aus denen jedoch nur 18 Larven (L2 und L3) für den Schnelltest entnommen werden konnten. Die Tiere wurden auf virusfreies Kontrollmedium und CpGV-M-haltiges (2×10^5 OB/ml) Futter verteilt. Die Ergebnisse des Schnelltests zeigten nach 7 Tagen in der Kontrolle eine Larvensterblichkeit von 57,1 % und in der CpGV-M-Variante von 90,0 % (Abb. 1.6). Nach 14 Tagen waren alle Tiere im Versuch an Virus verstorben. Die hohe Mortalität der Kontrolltiere wies darauf hin, dass die Apfelwicklerlarven wahrscheinlich schon mit Virus infiziert waren, bevor sie dem Schnelltest unterzogen worden waren. Eine Kontamination der ausgewählten Kontrollparzelle durch Abdrift von Viren während der CpGV-V15-Spritzungen in der Anlage NS-JOG-12 konnte nicht ausgeschlossen werden. Aufgrund dieser Problematik und der geringen Anzahl der Versuchstiere ließen sich keine Aussagen bezüglich der Empfindlichkeit der Tiere gegenüber CpGV-M treffen.

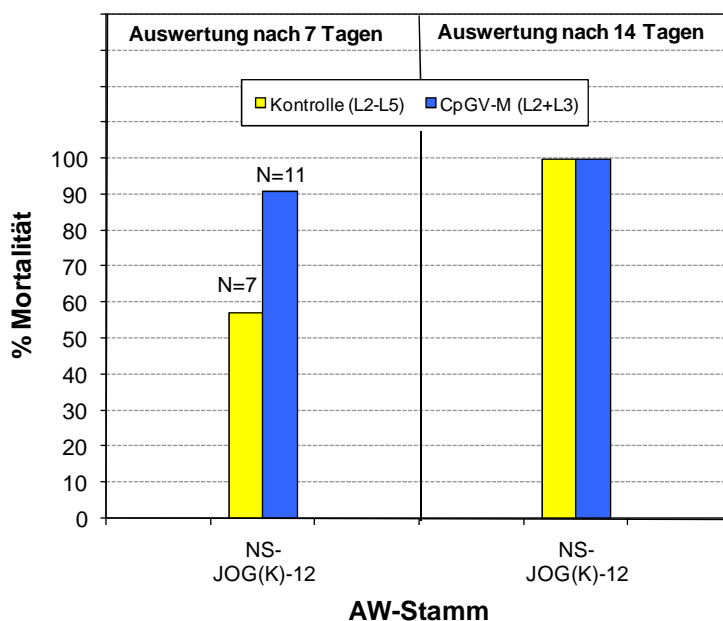


Abb. 1.6: Ergebnis des Resistenz-Schnelltests mit Larven der F1-Generation, die im Sommer 2012 in einer unbehandelten Kontrollparzelle (K) der Anlage NS-JOG-12 gesammelt worden waren. Angegeben sind die Mortalitäten der Larven, die 7 und 14 Tage nach Versuchsansatz auf Kontrollmedium und CpGV-M-haltigem Medium (2×10^5 OB/ml) ermittelt wurden. Für die Kontrolle wurden L2- bis L5-Larven eingesetzt und für den Infektionsversuch L2- und L3-Stadien.

Ergebnisse 2013

Im Sommer 2013 wurde in der Anlage BW-DE, in der bereits 2004 CpGV-M Resistenz nachgewiesen wurde erneut für die Durchführung von Schnelltests gesammelt. Der Einsatz des resistenzbrechenden Präparates Madex Max war in der Anlage in den letzten Jahren nie völlig zufriedenstellend und bereits 2011 wurden in den Schnelltests Tiere beobachtet, die die Virusbehandlung überlebten (Abb. 1.3). Auch im Schnelltest 2013 zeigte sich bei den Kontrolltiere nach 7 Tagen eine Mortalität von nur 62,5 % und bei den auf CpGV-S exponierten Larven von 65,5 % (Abb. 1.7). Nach 14 Tagen stieg die Mortalität der Kontrolltiere auf 84,4 % an, wobei die Überlebenden später noch abstarben (Tab. 1.3). Für die auf CpGV-S exponierten Apfelwicklerlarven lag die Sterblichkeit nach 14 Tagen bei 93,1 %, wobei zwei Diapauselarven überlebten. Die Ergebnisse zeigten, dass in der Anlage möglicherweise bereits einzelne Individuen vorkommen, die gegenüber dem neuen Präparat Madex Max resistent sind und dies die Ursache für die unzureichende Befallsminderung ist. In der untersuchten Norddeutschen Anlage NS-BS-13, in der ebenfalls Madex Max eingesetzt worden war, zeigten sich im Schnelltest sowohl in der Kontrolle als auch in der CpGV-S-Variante nach 7 und auch 14 Tagen Mortalitäten von unter 20 %. Die überlebenden Larven gingen fast alle in das Diapausestadium über. Die Ergebnisse bestätigten den Verdacht, dass in dieser Anlage eine Resistenz gegenüber dem Präparat Madex Max vorlag und zukünftig ein anderes resistenzbrechendes CpGV-Isolat (z.B. CpGV-V15) zur Regulierung des Apfelwicklers eingesetzt werden sollte.

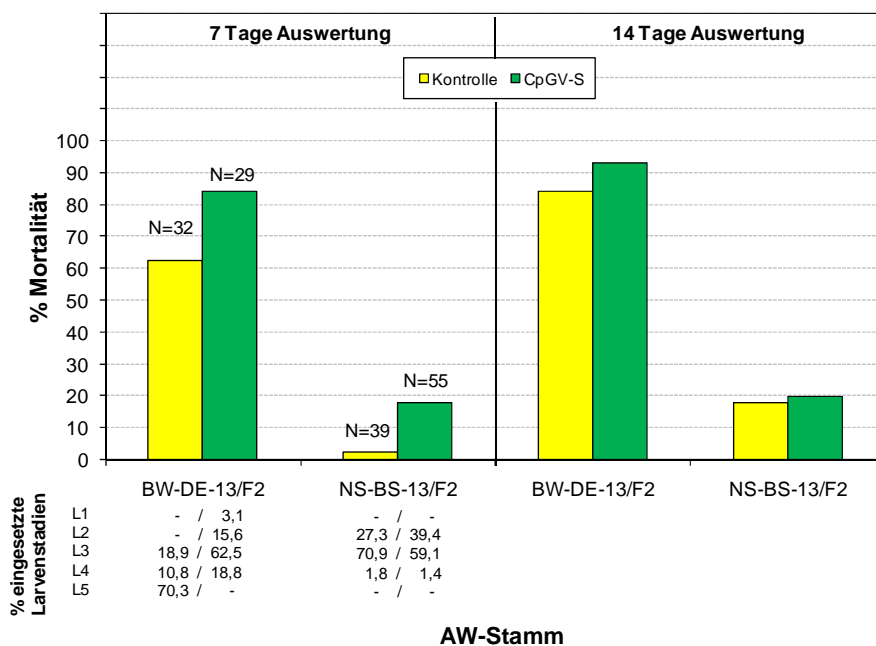


Abb. 1.7: Ergebnisse der Resistenz-Schnelltests mit Larven der F2-Generation gesammelt im Spätsommer 2012 in den mit Madex Max behandelten Anlagen BW-DE-13 und NS-BO-13. Angegeben sind die Mortalitäten der Larven, die 7 und 14 Tage nach Versuchsansatz auf

unbehandeltem Kontrollmedium und CpGV-S behandeltem Futter (2×10^5 OB/ml) ermittelt wurden. Für die Kontrolle wurden L2- bis L5-Larven eingesetzt und für die Virusvariante L1- bis L4-Stadien.

In einigen ausgewählten Betrieben der kooperierenden Partner (BW-LF-10, BW-SM-10, RP-NS-10 und BW-ST-10) wurde das zugelassene, resistenzbrechende CpGV-Präparat Madex Max erfolgreich zur Regulierung des Apfelwicklers eingesetzt. In anderen Anlagen brachte der Einsatz von Madex Max jedoch nicht den gewünschten Bekämpfungserfolg. Auch die anschließenden Laboruntersuchungen zur Wirksamkeit des applizierten Präparates, die im Rahmen des Resistenzmonitorings anhand von Schnelltests durchgeführt wurden, bestätigten die Minderwirkung von Madex Max in den jeweiligen Apfelwicklerpopulationen. Die Erprobung eines weiteren, neu selektierten CpGV-Präparats (CpGV-V15) in fünf verschiedenen Problemanlagen (NRW-WE-11, SL-SA-11, HH-CR-11, NS-JO-12 und NS-JOG-12) erwies sich in der Saison 2011 und 2012 als erfolgreich. Auch Empfindlichkeitstests mit Eilarven des seit 2009 im Labor gezüchteten resistenten AW-Stammes NRW-WE zeigten gegenüber dem neuen Isolat CpGV-V15 in full-range Biotests nach 14 Tagen annähernd gleich hohe LC_{50} -Werte wie L1-Larven des hoch sensiblen Laborstammes CpS.

Mit dem neuen Präparat CpGV-V15 steht somit auch für kritische Populationen ein effizientes Mittel zur Verfügung. Es könnte im Sinne eines Virulenzmanagements in den nächsten 4-6 Jahren die bisher verwendeten Isolate in den Regionen ablösen, welche ursprünglich von der Resistenz betroffen waren (Zingg & Kraaz, 2011).

1.3.3 Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation des Apfelwicklers

Freilanduntersuchungen

In der Praxis wurde in Apfelanlagen bei der Anwendung von Viruspräparaten immer wieder beobachtet, dass die Wirkung des CpGV gegenüber der zweiten Generation des Apfelwicklers geringer war, was in einem größeren Fruchtschaden zum Ausdruck kam. Erste Resistenz-Schnelltests im Labor mit Individuen der ersten (F1) und der zweiten (F2) Generation verschiedener AW-Populationen zeigten, dass Individuen der zweiten Generation weniger anfällig für CpGV-M waren (Schulze-Bopp & Jehle, 2013, Kienzle, pers. Mitteilung). Aufgrund des Ausschlusses sämtlicher Umweltfaktoren im Labor, kommt als Ursache für diese Beobachtung nur ein physiologischer Unterschied der Tiere der F1- und F2-Generation in Betracht. Physiologische Veränderungen könnten bei Larven der zweiten Generation mit der Induktion der Diapause einhergehen und somit eine Rolle bei der Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV spielen. Um dies zu untersuchen, wurden in den Jahren 2011 bis 2013 in der unbehandelten Streuobstanlage SA-MU in Sachsen Apfelwickler der ersten und zweiten Generation gesammelt und ihre Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV-M im Labor mittels Biotests untersucht. Bei der gewählten CpGV-M-Konzentration von 4000 OB/ml Medium zeigten die Larven der F1-Generationen (L1-L3 Larven) in den Jahren 2010 bis 2013 nach 14 Tagen Inkubation annähernd gleiche Mortalitäten, die zwischen 81,4 % bis 89,1 %

variierten (Abb. 1.8). Für die F1-Generation waren die Ergebnisse der Empfindlichkeitstests in den drei aufeinander folgenden Jahren nahezu reproduzierbar.

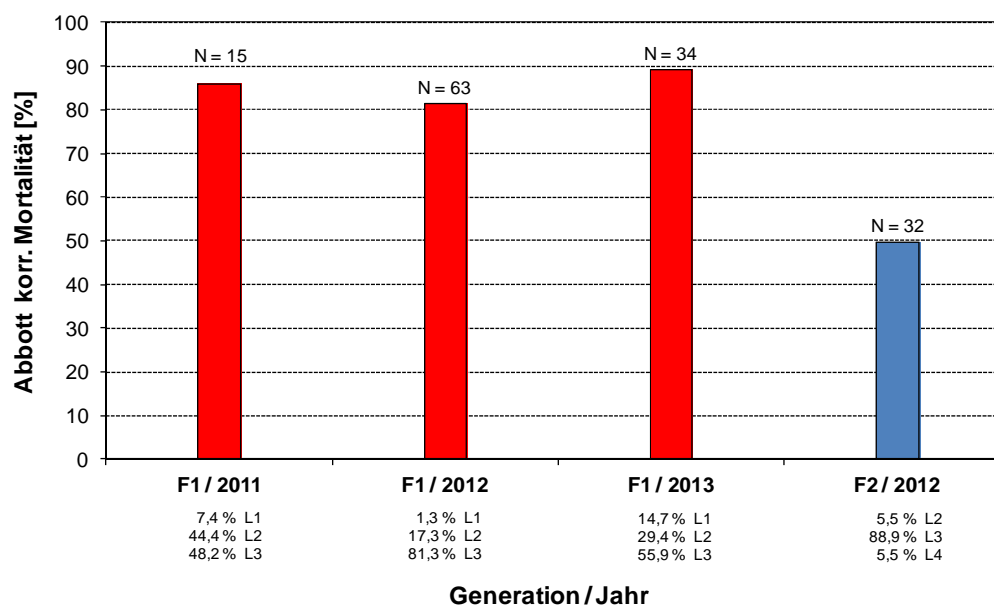


Abb. 1.8: Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation eines gegenüber CpGV-M empfindlichen AW-Freilandstammes aus der unbehandelten Streuobstanlage SA-MU, untersucht im Schnelltest mit CpGV-M (4000 OB/ml Medium) in den Jahren 2011 bis 2013. Dargestellt sind die nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitäten (%) für die verschiedenen Versuchsjahre, ermittelt 14 Tage nach Versuchsansatz. N bezeichnet die jeweilige Anzahl der Tiere im Versuch, zusätzlich angegeben sind die prozentualen Anteile der eingesetzten Larvenstadien.

Aufgrund schlechter Witterungsbedingungen konnten in der Anlage SA-MU nur im Jahr 2012 ausreichend Tiere der zweiten Generation für Versuche gesammelt werden. Im Gegensatz zur F1-Generation zeigten diese Larven (L2-L4) im Biotest mit CpGV-M nach 14 Tagen eine deutlich geringere Mortalität von nur 49,7 %, was eine verminderte Empfindlichkeit vermuten ließ.

Zur Absicherung dieses Ergebnisses wurden im Jahr 2013 in drei unterschiedlichen Parzellen einer Streuobstanlage der DLR/Rheinpfalz in Neustadt/Wstr. (RP) sowie in einer unbehandelten Anlage in Sachsen (SA) erneut Apfelwickler der ersten (F1) und zweiten (F2) Generation gesammelt und untersucht. Die im Schnelltest mit CpGV-M nach 14 Tagen ermittelten Mortalitäten der F1-Generation variierten in allen Anlagen nur geringfügig und lagen zwischen 55,7 und 65,7 % (Abb. 1.9). Für die F2-Generation wurden Mortalitäten zwischen 51,6 und 62,5 % ermittelt. Die Mortalität des als Referenz ebenfalls getesteten sensiblen Laborstammes CpS lag mit 95 %, wie zu erwarten höher, da ausschließlich L1-Larven eingesetzt wurden. Ein statistischer Vergleich zwischen allen Mortalitäten der F1 und der F2 ergab keinen signifikanten Unterschied in der Empfindlichkeit beider Generationen (ANOVA, $P=0,709$). Die 2013 durchgeführten Untersuchungen lieferten somit kein

hinreichendes Ergebnis für eine verminderte Anfälligkeit der zweiten Generation des Apfelwicklers gegenüber dem CpGV.

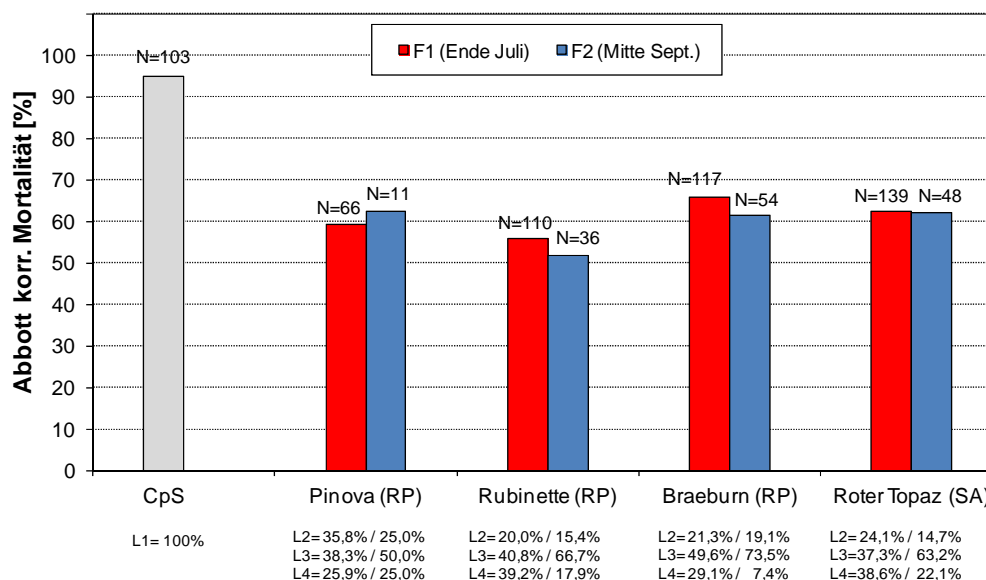


Abb. 1.9: Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation CpGV-M empfindlicher AW-Freilandstämme aus drei Parzellen einer Streuobstanlage in Rheinlandpfalz (RP) und einer unbehandelten Anlage in Sachsen (SA), untersucht im Schnelltest mit CpGV-M (4000 OB/ml Medium). Als Referenz diente ein empfindlicher Laborstammes CpS. Dargestellt sind die nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitäten (%), ermittelt 14 Tage nach Versuchsansatz. N bezeichnet die jeweilige Anzahl der Tiere im Versuch, zusätzlich angegeben sind die prozentualen Anteile der eingesetzten Larvenstadien.

Laboruntersuchungen

Neben physiologischen Veränderungen, die während der Induktion der Diapause auftreten und möglicherweise die CpGV-Empfindlichkeit der Larven der zweiten Generation verändern, könnte ebenso das Ruhestadium der Diapausetiere Einfluss nehmen auf die Larven der ersten Generation. Hierbei könnten epigenetische Mechanismen beteiligt sein, die auf die nachfolgende Generation übertragen werden und phänotypische Veränderungen zur Folge haben, die jedoch in späteren Generationen auch wieder verloren gehen können (Freitag et al., 2009). Um dies im Hinblick auf eine veränderte CpGV-Empfindlichkeit der ersten Generation und der zweiten Generation näher zu untersuchen, wurden unter standardisierten Laborbedingungen Apfelwicklerlarven eines resistenten Laborstammes künstlich in Diapause gebracht und nach der Ruhephase die Nachkommen (F1 und F2) im Biotest getestet. Da es

sich hierbei um einen resistenten AW-Stamm handelte, wurde neben dem CpGV-M und -S auch das resistenzbrechende Isolat CpGV-V15 verwendet.

Aufgrund der Resistenz des Stammes NRW-WE gegenüber CpGV-M und -S lag die Mortalität nach 14 Tagen nur bei etwa 20 %. Der Vergleich der Mortalitäten der F1- und F2-Generation zeigte für beide Virusisolate, CpGV-M (ANOVA, $P=0,986$) und CpGV-S (ANOVA, $P=0,618$) keinen signifikanten Unterschied. Erwartungsgemäß war die Wirkung des resistenzbrechenden Isolates CpGV-V15 deutlich höher und erreichte Werte zwischen 90 % (F2) und 100 % (F1), die ebenfalls nicht signifikant verschieden waren (ANOVA, $P=0,400$) (Abb. 1.10).

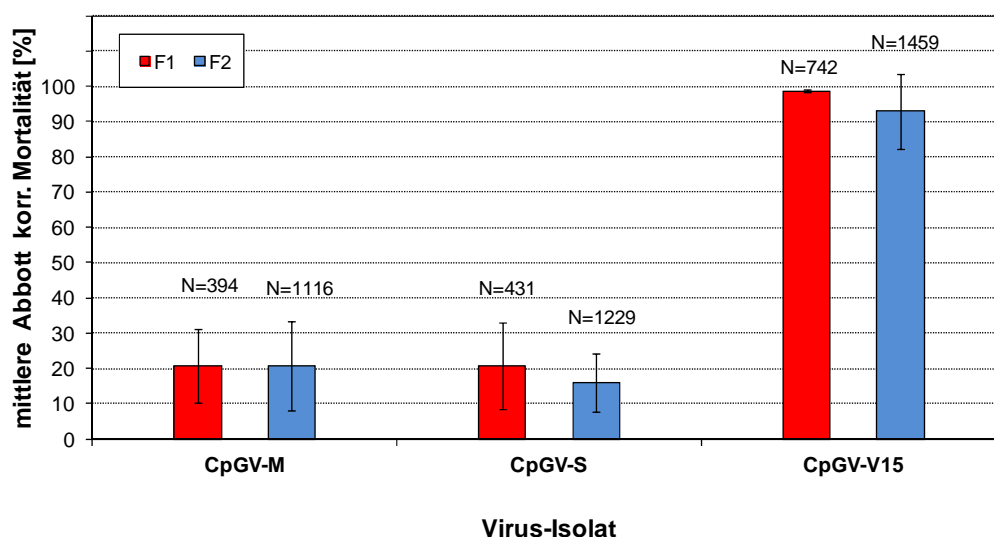


Abb. 1.10: Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation eines resistenten Labortammes (NRW-WE) nach induzierter Diapause, untersucht im Biotest mit einer diskriminierenden Viruskonzentration von $(2 \times 10^5 \text{ OB/ml Medium})$ gegenüber CpGV-M, CpGV-S und CpGV-V15. Dargestellt sind die nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitäten (%), ermittelt 14 Tage nach Versuchsansatz. Die senkrechten Balken kennzeichnen die Standardabweichung. N bezeichnet die jeweilige Anzahl der Tiere im Versuch.

Unter den gegebenen Versuchsparametern ließen sich im Labor anhand der resultierenden Ergebnisse bei dem resistenten Laborstamm NRW-WE keine signifikanten Unterschiede in der CpGV-Empfindlichkeit zwischen Tieren der F1- und F2-Generation feststellen. Das Diapausestadium, das bei der Elterngeneration induziert worden war, hatte somit keinen Einfluss auf die Anfälligkeit der nachfolgenden F1- und F2-Generation gegenüber dem CpGV.

Im Freiland zeigten sich bei den untersuchten empfindlichen AW-Stämmen, die aus unbehandelten Streuobstanlagen stammten, ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der

Empfindlichkeit zwischen F1- und F2-Generation. In der Praxis wird im Freiland immer wieder beobachtet, dass es einen Unterschied in der Wirksamkeit des CpGV gegenüber der ersten und zweiten Apfelwickler-Generation gibt, dennoch ist dieser unter den gewählten Versuchsbedingungen für die untersuchten AW-Stämme nicht nachweisbar. Es ist aber nicht auszuschließen, dass möglicherweise bei einzelnen AW-Populationen Empfindlichkeitsunterschiede auftreten können, wie sie z. B. im Jahr 2012 in der Anlage SA-MU beobachtet wurden. Allerdings konnte dieses Ergebnis aufgrund der geringen Zahl der Testtiere, insbesondere der F2-Generation nicht statistisch abgesichert werden.

1.3.4 Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz gegenüber neuen CpGV-Isolaten

Homogenität der selektierten AW-Linien des Stammes NRW-WE

Die Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz des AW-Stammes NRW-WE anhand von Kreuzungsexperimenten erforderte zunächst die Etablierung einer homogen resistenten Linie dieses Stammes gegenüber CpGV-M und CpGV-S. Zunächst wurde versucht, über Einzelpaarkreuzungen sensible Tiere zu eliminieren, was jedoch wenig erfolgreich war, und immer wieder zum Verlust selektierter Linien führte. Daher wurden zur genetischen Homogenisierung von NRW-WE Massenkreuzungen unter Selektionsdruck angewandt (Berling, 2009a; Zichovà et al., 2013). angewandt. Hierzu wurden Massenkreuzungen über mehrere Generationen mit Individuen durchgeführt, die im Selektionsprozess unter Virusdruck mit CpGV-M oder CpGV-S bei einer Konzentration von 2×10^5 OB/ml Nährmedium überlebten. Zur Überprüfung des Homogenisierungsgrads jeder Generation unter Virusdruck, wurde jeweils die Larvenmortalität nach 14 Tagen bestimmt (Abb. 1.11). Für das Isolat CpGV-M zeigte sich bereits bei der zweiten Generation (F2) eine deutliche Abnahme der Mortalität von 51 % auf 29 %. Nach der fünften Viruspassage (F5) lag die Mortalität der Larven nur noch bei 7 %. Auch bei der Verabreichung von CpGV-S haltigem Futter zeigte sich im Verlauf der fünf aufeinanderfolgenden Generationen (F1-F5) eine nahezu kontinuierliche Abnahme der Sterblichkeit von 32 % auf 11 %. Nach der letzten Passage (F5) auf beiden Virusisolaten wurde die Mortalität der Nachkommen im Direkt-Biotest mit einer diskriminierenden CpGV-M bzw. CpGV-S Konzentration von $5,8 \times 10^4$ OB/ml bestimmt, um die Homogenität bzw. die Resistenz der selektierten Linie zu überprüfen. Im Vergleich zum ursprünglichen Laborstamm war die Mortalität der beiden selektierten Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S deutlich niedriger und unterschied sich signifikant von dem für NRW-WE ermittelten Wert (Tab. 1.4). Der Selektionsprozess über fünf Generationen unter Virusdruck lieferte somit zwei homogen resistente Linien, NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S, des Stammes NRW-WE, die in den weiteren Kreuzungsexperimenten zur Anwendung kamen.

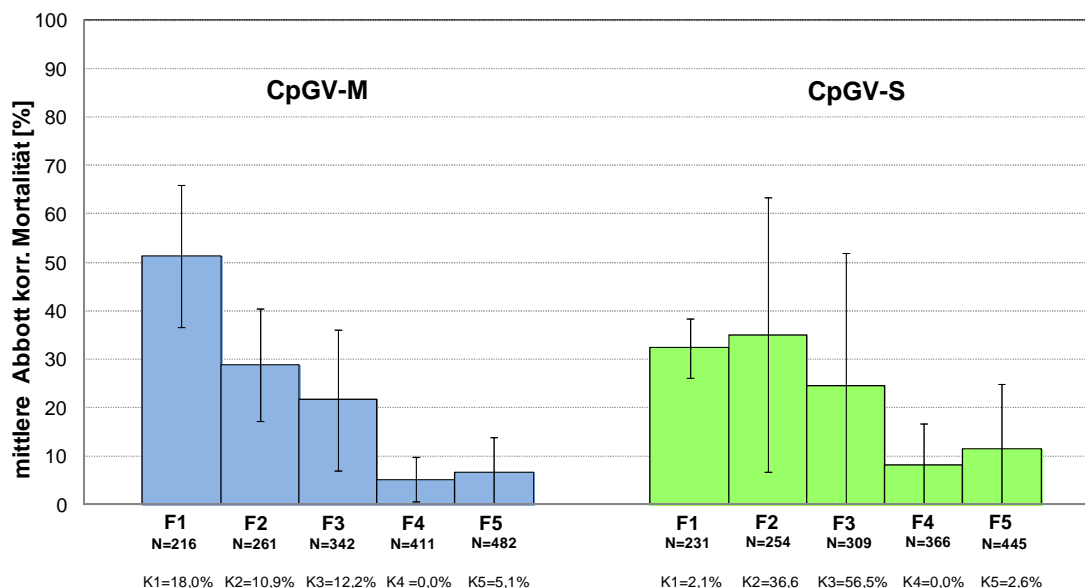


Abb. 1.11: Verlauf der Selektion der homogen resistenten Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S durch Massenkreuzungen des resistenten Laborstammes NRW-WE und Zucht der Nachkommen unter Virusdruck von CpGV-M bzw. CpGV-S. Dargestellt sind die nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitäten der fünf Generationen (F1-F5) unter Virusdruck (2×10^5 OB/ml Medium), ermittelt für L1-Larven nach 14 Tagen. Die senkrechten Linien markieren die Standardabweichungen. N bezeichnet die jeweilige Anzahl der aufgesetzten Tiere, und mit K1-K5 sind die Mortalitäten der Larven in den jeweiligen Kontrollen mit virusfreiem Medium angegeben.

Tab. 1.4: Überprüfung der Empfindlichkeit der selektierten Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S gegenüber CpGV-M bzw. CpGV-S im Vergleich zum Ausgangsstamm NRW-WE. Die nach Abbott (1925) korrigierten Mortalitäten (%) wurden im Direkt-Biotest mit L1-Larven nach 14 Tagen ermittelt. N bezeichnet die Anzahl der Versuchstiere. Die statistische Auswertung erfolgte mittels SAS-Programm 9.3 (Proc. GLM; Duncan's multiple range test; $P=0,05$).

Virus-Isolat	NRW-WE-5-M		NRW-WE-5-S		NRW-WE		Statistischer Vergleich (p-Wert)
	N	Mittlere Abbott Mortalität	N	Mittlere Abbott Mortalität	N	Mittlere Abbott Mortalität	
CpGV-M	111	4,7	-	-	171	45,6	< 0,0001
CpGV-S	-	-	180	1,0	120	26,8	< 0,0001

Vererbungsmodus der Resistenz der AW-Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S

Die Mortalität der Nachkommen aus den reziproken Massenkreuzungen (Kr: CpR ♂/♀ x CpS ♂/♀) der auf CpGV-M bzw. CpGV-S selektierten NRW-WE-Linien mit dem sensiblen Stamm CpS wurden im Direkt-Biotest jeweils gegenüber beiden Virusisolaten bestimmt und mit den entsprechenden Erwartungswerten bei einer Z-gebundenen bzw. autosomalen Vererbung verglichen. Anhand der aus jeder Kreuzung hervorgehenden möglichen Genotypen wurden die zu erwartenden Mortalitäten abgeleitet, unter der Annahme, dass die Resistenz monogametisch dominant vererbt wird (Tab. 1.5). Ein weiteres Kriterium zur Bestimmung des Vererbungsmodus war das Geschlechterverhältnis innerhalb der überlebenden Tiere.

Für die selektierte Linie NRW-WE-5-M wurden für die Nachkommen aus Kreuzungen der Weibchen mit CpS ♂ nach 7 Tagen gegenüber den Virusisolaten CpGV-M bzw. -S sehr geringe mittlere Mortalitäten von 1,3 % bzw. 0,8 % ermittelt. Die reziproken Kreuzungen der Männchen mit CpS ♀ lieferten vergleichbare Ergebnisse mit 1,9 % für CpGV-M bzw. 0 % für CpGV-S.

Für die selektierte Linie NRW-WE-5-S lagen die ermittelten mittleren Sterblichkeiten etwas höher, blieben aber unterhalb eines Wertes von 6 % nach Kreuzung der Weibchen mit CpS ♂. Bei reziproker Kreuzung mit CpS ♀ wurden mit 3,6 % gegenüber CpGV-S und 1,2 % gegenüber CpGV-M ähnliche Mortalitäten wie bei der homogenen Linie NRW-WE-5-M bestimmt.

Der statistische Vergleich der Mortalitätsdaten aus allen Biotests mit CpGV-M und CpGV-S zeigte bei beiden selektierten NRW-WE-Linien keinen signifikanten Unterschied in der F1-Mortalität sowohl zwischen den reziproken Kreuzungen als auch zwischen den beiden Virusisolaten gemäß Duncans multiple range-Test (ANOVA, $F_{7,24}=0,61$, $P=0,738 > \alpha=0,05$).

Im Falle einer dominanten geschlechtsgebundenen Vererbung wäre bei der F1-Generation nach der Kreuzung von resistenten Weibchen ($Z^R W$) mit sensiblen Männchen ($Z^S Z^S$) aufgrund der entstehenden Genotypen $Z^R Z^S$ und $Z^S W$ nach 7 Tagen eine Mortalität von 50 % zu erwarten gewesen. Alle überlebenden Tiere wären männlich, da nur die Männchen, die das Resistenzgen tragen, die Virusinfektion überleben. Im Gegensatz dazu würden unter der Hypothese einer autosomalen Vererbung der Resistenz alle Nachkommen ($A^R A^S$) aus den Kreuzungen die 7-tägige Virusexposition überleben.

Aufgrund der beobachteten Mortalitäten für beide selektierten Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S erschien eine autosomale Vererbung der Resistenz als sehr wahrscheinlich, da sich unabhängig vom Geschlecht der Kreuzungspartner in der F1-Generation etwa gleiche Mortalitäten zeigten und diese auch nahezu der im Idealfall zu erwartenden Mortalität von 0 % entsprachen. Als weiteres Indiz für eine autosomale Vererbung sprach das annähernd gleiche Geschlechterverhältnis innerhalb der überlebenden Tiere. So wurden für NRW-WE-5-M bei den überlebenden Tieren 55,0 % Weibchen und 45,0 % Männchen bestimmt und auch bei NRW-WE-5-S überlebten sowohl Weibchen (47,2 %) und Männchen (53,8 %) gleichermaßen.

Tab. 1.5a: Schemata der reziproke Kreuzungen (CpR ♂♀ x CpS ♂♀) der selektierten resistenten AW-Linie NRW-WE-5-M mit dem sensible Laborstamm CpS und Rückkreuzungen der Männchen der F1-Generationen (F1 ♂) mit Weibchen der Elterngeneration (CpR♀ bzw. CpS♀). Die zu erwartenden Genotypen und entsprechenden Mortalitäten der F1-Generationen sind für eine dominante Z-gebundene bzw. autosomale Vererbung des Resistenzgens angegeben. Die beobachteten mittleren Mortalitäten (nach Abbott (1925) korrigiert) der Nachkommen aus jeder Kreuzung (F1 Kr) und Rückkreuzung (F1 RKr A und B) wurden im Direkt-Biotest gegenüber CpGV-M und CpGV-S (diskriminierenden Viruskonzentration von $5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium) nach 7 Tagen ermittelt. N gibt die Anzahl der Versuchstiere im Biotest an.

a) NRW-WE-5-M	Erwartet				Beobachtet	
	Genotypen Z-linked	Mortalität %	Genotypen Autosomal	Mortalität %	CpGV-M Mortalität %	CpGV-S Mortalität %
Kr: CpR♀ x CpS♂	$Z^R W \times Z^S Z^S$	0, 100	$A^R A^R \times A^S A^S$	0, 100		
F1(Kr)	$Z^R Z^S, Z^R Z^S$ $Z^S W, Z^S W$	50	$A^R A^S, A^R A^S$ $A^R A^S, A^R A^S$	0	1,3 (N=234)	0,8 (N=168)
RKr A: F1♂ x CpS♀	$Z^R Z^S \times Z^S W$		$A^R A^S \times A^S A^S$			
F1 (RKr A)	$Z^R Z^S, Z^S Z^S$ $Z^R W, Z^S W$	50	$A^R A^S, A^R A^S$ $A^S A^S, A^S A^S$	50	48,9 (N=289)	39,3 (N=259)
RKr B: F1♂ x CpR♀	$Z^R Z^S \times Z^R W$		$A^R A^S \times A^R A^R$			
F1 (RKr B)	$Z^R Z^R, Z^R Z^S$ $Z^R W, Z^S W$	25	$A^R A^R, A^R A^R$ $A^S A^R, A^S A^R$	0	1,4 (N=201)	0 (N=155)
<i>Reziproke Kreuzung</i>						
Kr: CpR♂ x CpS♀	$Z^R Z^R \times Z^S W$	0, 100	$A^R A^R \times A^S A^S$	0, 100		
F1(Kr)	$Z^R Z^S, Z^R Z^S$ $Z^R W, Z^R W$	0	$A^R A^S, A^R A^S$ $A^R A^S, A^R A^S$	0	1,9 (N=425)	0 (N=430)
RKr A: F1♂ x CpS♀	$Z^R Z^S, Z^S W$		$A^R A^S \times A^S A^S$			
F1 (RKr A)	$Z^R Z^S, Z^S Z^S$ $Z^R W, Z^S W$	50	$A^R A^S, A^R A^S$ $A^S A^S, A^S A^S$	50	41,1 (N=233)	44,2 (N=169)
RKr B: F1♂ x CpR♀	$Z^R Z^S \times Z^R W$		$A^R A^S \times A^R A^R$			
F1 (RKr B)	$Z^R Z^R, Z^R Z^S$ $Z^R W, Z^S W$	25	$A^R A^R, A^R A^R$ $A^S A^R, A^S A^R$	0	0,4 (N=343)	0 (N=261)

Tab. 1.5b: Schemata der reziproke Kreuzungen (CpR ♂♀ x CpS ♂♀) der selektierten resistenten AW-Linie NRW-WE-5-S mit dem sensible Laborstamm CpS und Rückkreuzungen der Männchen der F1-Generationen (F1 ♂) mit Weibchen der Elterngeneration (CpR♀ bzw. CpS♀). Die zu erwartenden Genotypen und entsprechenden Mortalitäten der F1-Generationen sind für eine dominante Z-gebundene bzw. autosomale Vererbung des Resistenzgens angegeben. Die beobachteten mittleren Mortalitäten (nach Abbott (1925) korrigiert) der Nachkommen aus jeder Kreuzung (F1 Kr) und Rückkreuzung (F1 RKr A und B) wurden im Direkt-Biotest gegenüber CpGV-M und CpGV-S (diskriminierenden Viruskonzentration von $5,8 \times 10^4$ OB/ml Medium) nach 7 Tagen ermittelt. N gibt die Anzahl der Versuchstiere im Biotest an.

a) NRW-WE-5-S	Erwartet				Beobachtet	
	Genotypen Z-linked	Mortalität %	Genotypen Autosomal	Mortalität %	CpGV-M Mortalität %	CpGV-S Mortalität %
Kr: CpR♀ x CpS♂	Z ^R W x Z ^S Z ^S	0, 100	A ^R A ^R x A ^S A ^S	0, 100		
F1(Kr)	Z ^R Z ^S , Z ^R Z ^S Z ^S W, Z ^S W	50	A ^R A ^S , A ^R A ^S A ^R A ^S , A ^R A ^S	0	4,1 (N=294)	5,4 (N=327)
RKCr A: F1♂ x CpS♀	Z ^R Z ^S x Z ^S W		A ^R A ^S x A ^S A ^S			
F1 (RKCr A)	Z ^R Z ^S , Z ^S Z ^S Z ^R W, Z ^S W	50	A ^R A ^S , A ^R A ^S A ^S A ^S , A ^S A ^S	50	39,9 (N=223)	43,0 (N=239)
RKCr B: F1♂ x CpR♀	Z ^R Z ^S x Z ^R W		A ^R A ^S x A ^R A ^R			
F1 (RKCr B)	Z ^R Z ^R , Z ^R Z ^S Z ^R W, Z ^S W	25	A ^R A ^R , A ^R A ^R A ^S A ^R , A ^S A ^R	0	0 (N=221)	0 (N=241)
<i>Reziproke Kreuzung</i>						
Kr: CpR♂ x CpS♀	Z ^R Z ^R x Z ^S W	0, 100	A ^R A ^R x A ^S A ^S	0, 100		
F1(Kr)	Z ^R Z ^S , Z ^R Z ^S Z ^R W, Z ^R W	0	A ^R A ^S , A ^R A ^S A ^R A ^S , A ^R A ^S	0	1,2 (N=298)	3,6 (N=413)
RKCr A: F1♂ x CpS♀	Z ^R Z ^S , Z ^S W		A ^R A ^S x A ^S A ^S			
F1 (RKCr A)	Z ^R Z ^S , Z ^S Z ^S Z ^R W, Z ^S W	50	A ^R A ^S , A ^R A ^S A ^S A ^S , A ^S A ^S	50	48,0 (N=181)	49,6 (N=202)
RKCr B: F1♂ x CpR♀	Z ^R Z ^S x Z ^R W		A ^R A ^S x A ^R A ^R			
F1 (RKCr B)	Z ^R Z ^R , Z ^R Z ^S Z ^R W, Z ^S W	25	A ^R A ^R , A ^R A ^R A ^S A ^R , A ^S A ^R	0	0 (N=267)	5,6 (N=233)

Zur Absicherung der Ergebnisse aus den voran beschriebenen Kreuzungsexperimenten wurden die überlebenden Männchen der F1-Generation (F1 ♂) aus den unbehandelten Kontrollen jeweils mit Weibchen der Elterngeneration - mit CpS ♀ (RKCr A) und mit CpR ♀ (RKCr B) - zurückgekreuzt. Bei einer potentiellen autosomalen Vererbung der Resistenz würden sich bei beiden Kreuzungstypen deutliche Unterschiede in der Mortalität der Nachkommen im Biotest nach 7 Tagen zeigen. Bei Rückkreuzungen mit CpS ♀ (RKCr A) wäre eine Mortalität von 50 % und mit CpR ♀ (RKCr B) von 0 % zu erwarten. Im Fall einer Z-gebundenen Vererbung wäre der Mortalitätsunterschied in der F1-Generation weniger deutlich, mit 50 % bei RKCr A und 25 % bei RKCr B.

Die Ergebnisse zeigten, dass bei allen Rückkreuzungen der Linien NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S mit CpS ♀ (RKr A) die Mortalitäten gegenüber den beiden Isolaten CpGV-M und-S im Bereich von 39,3 % und 49,6 % variierten. Bei den Rückkreuzungen (RKr B) mit den resistenten Weibchen (CpR ♀) überlebten dagegen in den Direkt-Biotests nach 7 Tagen mit CpGV-M mehr als 98 % und mit CpGV-S mehr als 94 % der Nachkommen. Die geringen Mortalitäten unterschieden sich sowohl für CpGV-M (ANOVA; $F_{7, 14}=30,19$; $p<0,0001$) als auch für CpGV-S (ANOVA; $F_{7, 13}=37,91$; $p<0,0001$) signifikant von den in RKr A mit CpS ♀ ermittelten Werten.

Auch die bei den Rückkreuzungen der Männchen der F1-Generation sowohl mit sensiblen als auch mit resistenten Weibchen beobachteten Mortalitäten der Nachkommen zeigten eine sehr gute Übereinstimmung mit der Hypothese eines autosomalen Vererbungsmodus der Resistenz für beide selektierten Linien des Laborstammes NRW-WE.

Die Ergebnisse der Massenkreuzungen, die mit den beiden selektierten homogenen Linien (NRW-WE-5-M und NRW-WE-5-S) des resistenten Stammes NRW-WE durchgeführt wurden, bestätigten die Beobachtungen von Schulze-Bopp & Jehle (unveröffentlicht) aus Einzelpaarkreuzungen zwischen resistenten Freilandtieren mit dem sensiblen Laborstamm (CpS). Bereits diese ersten Versuche deuteten darauf hin, dass die CpGV-Resistenz, die sowohl gegenüber CpGV-M als auch neuen Virusisolaten auftrat, in dieser Population nicht dem von Asser-Kaiser et al. (2007) beschriebenen Muster einer mit dem Geschlechtschromosom Z verknüpften Vererbung folgt. Die Methode der Massenkreuzungen und anschließende Selektion der Nachkommen unter Virusdruck erwies sich als erfolgreich und ermöglichte es, zwei homogene, resistente Linien des ursprünglich heterogenen Stammes NRW-WE für weiterführende Untersuchungen zu etablieren. Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen einer autosomalen Vererbung konnten Zichova et al. (2013) in ihren Untersuchungen für einen ebenfalls aus Massenkreuzungen und sukzessivem Virusdruck hervorgegangenen homogen resistenten, tschechischen AW-Stamm eine Z-gebundene Vererbung der Resistenz nachweisen. Im Unterschied zum Stamm NRW-WE, den ein außergewöhnlich hohes Resistenzniveau von Faktor 1.000.000 im Vergleich zu einem CpGV-M empfindlichen AW-Stamm auszeichnet, erwies sich der tschechische, CpGV-M-resistente Stamm auch empfindlich gegenüber dem resistenzbrechenden Isolat CpGV-S. Der tschechische AW-Stamm folgte damit dem CpRR1-Resistenztyp.

Dieser phänotypische Unterschied der resistenten Populationen lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass bei NRW-WE mit der nachgewiesenen autosomalen Übertragung der Resistenz auf die Nachkommen ein zweiter Mechanismus an der Resistenzvererbung beteiligt ist. Es ist nicht auszuschließen, dass bei NRW-WE das Resistenzgen sowohl an das Geschlechtschromosom Z als auch an Autosomen gebunden sein kann und im Labor der Selektionsprozess unter Virusdruck sowie die Weiterzucht der Virus exponierten Tiere eine autosomale Vererbung begünstigten. Untersuchungen eines weiteren über Einzelpaarkreuzungen selektierten AW-Stammes (SA-GO), der sich ebenfalls durch seine Unempfindlichkeit gegenüber CpGV-S auszeichnet, deuten darauf hin, dass beide Vererbungsmodi, gonosomal und autosomal, bei diesen hoch resistenten AW-Populationen vorkommen können (Sauer & Jehle, unveröffentlicht). Auch in Frankreich wurde eine CpGV-M-resistente AW-Population identifiziert, bei der die Übertragung der Resistenz auf die

Nachkommen nicht alleine durch das Vorkommen eines an das Geschlechtschromosom Z gebundenes Resistenzgens erklärt werden kann (Berling et al., 2013). Die vorliegenden Beobachtungen geben Hinweise darauf, dass der Vererbung der Resistenz des Apfelwicklers komplexere Mechanismen als bisher vermutet zu Grunde liegen.

1.3.5 Tests zur Mischbarkeit von CpGV mit anderen kommerziellen Präparaten

Bei der Regulierung des Apfelwicklers ist es in der Praxis üblich das CpGV mit anderen Präparaten zur Mehltau- und Schorfbekämpfung bzw. mit Pflanzenstärkungsmitteln in Tankmischungen zu kombinieren, um Kosten zusätzlicher Spritzungen zu sparen. In den letzten Jahren hat sich die Palette von Fungiziden und Pflanzenstärkungsmitteln deutlich vergrößert. Bei einigen dieser Präparate wurde vor allem aufgrund eines pH-Werts der Spritzbrühe im stark alkalischen Bereich von einer Kombination mit dem CpGV in Tankmischungen abgeraten, um eine Inaktivierung des Virus auszuschließen (Fritsch et al, 2008). Da zusätzliche Behandlungen für die Praxis stets einen erheblichen Mehraufwand bedeuten, stellt sich immer wieder die Frage, welche Produkte mit CpGV tatsächlich kompatibel sind. Im Rahmen des Projektes wurde daher die Wirkung verschiedener z. T. neuer Präparate auf die Aktivität des CpGV unter standardisierten Laborbedingungen bei Expositionszeiten von 4 und 12 Stunden untersucht.

4-stündige Exposition

Die Biotestergebnisse zeigten, dass nur bei Mischungen mit den Präparaten Omniprotect und Ventex eine deutliche Abnahme der Wirkung des CpGV zu beobachten war. Bei der Auswertung des Bioassays nach 7-Tagen wurden bei beiden Präparaten keine toten Larven verzeichnet (Abb. 1.12). Nach 14 Tagen lag die Mortalität bei 20-35 % (Abb. 1.13). Für alle anderen getesteten Präparate waren die ermittelten Mortalitätswerte im Bereich der Sterblichkeit der Kontrolltiere („GV direkt“), die nach 7 Tagen ca. 70 % und nach 14 Tagen ungefähr 98 % erreichte. Die Lösungen von Omniprotect und Ventex reagierten stark alkalisch mit einem gemessenen pH-Wert von 11,5. Unter diesen basischen Bedingungen wird das Einschlusskörperprotein des OB gelöst und die Virusproteine denaturiert, d. h. die Viren verlieren ihre schützende Proteinhülle und damit ihre Infektiösität. Aus der Literatur ist bekannt, dass sich Verschiebungen der pH-Bedingungen, sowohl in den stark alkalischen (pH>11) als auch in den stark sauren Bereich (pH<3) negativ auf die Stabilität von Baculoviren, wie dem CpGV, auswirken. Ein abgepuffertes Milieu von pH 7-8 wirkt dagegen stabilisierend (Krieg, 1973).

Die Mischbarkeitstests zeigten, dass in Kombination mit Omniprotect und Ventex die Aktivität des CpGV signifikant herabgesetzt wird. Für die Praxis bedeutet dies, dass das CpGV nicht zusammen mit diesen Präparaten in Tankmischungen ausgebracht werden darf, da eine Inaktivierung des Virus zu befürchten ist. Bei den anderen Präparaten, die in Lösung pH-Werte im neutralen Bereich zeigen, kann in der geprüften Aufwandmenge und der Einwirkzeit von 4 Stunden davon ausgegangen werden, dass kein Risiko einer Inaktivierung besteht. Die Testmethode kann allerdings nur direkte Aktivitätsminderungen der Viren durch die Präparate prüfen.

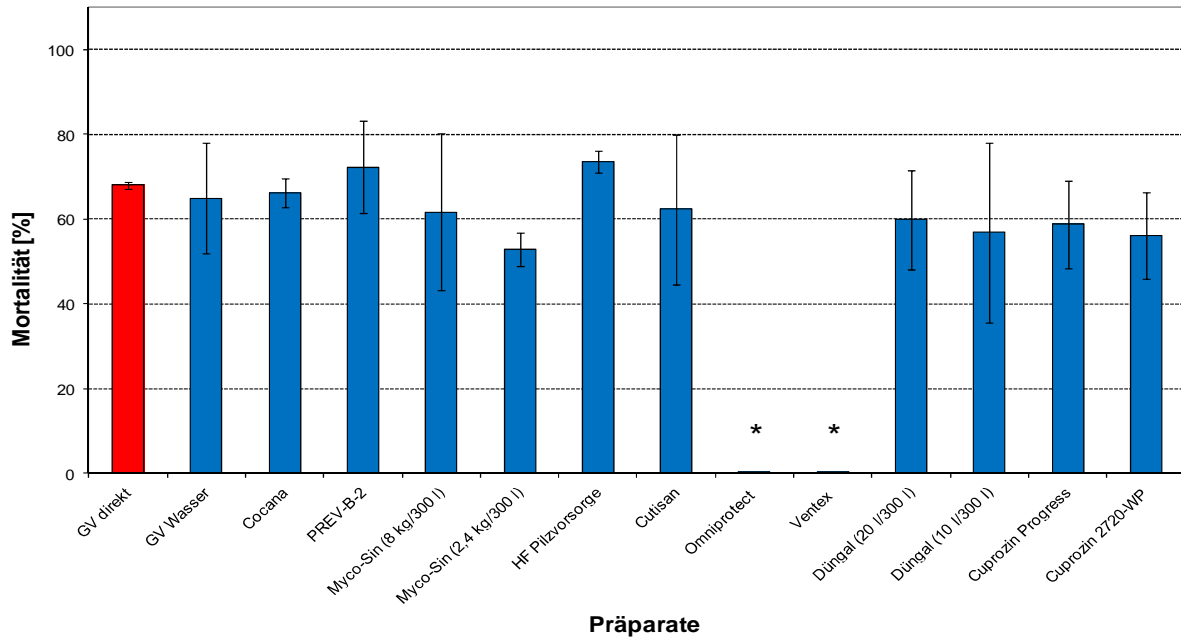


Abb. 1.12: Aktivität von CpGV in verschiedenen Präparate-Mischungen nach 4 h Einwirkzeit bei Raumtemperatur. Dargestellt sind die mittleren Mortalitäten der Apfelwicklerlarven ermittelt nach 7 Tagen aus 3 unabhängigen Biotest-Wiederholungen. Die senkrechten Linien markieren die Standardabweichungen. Als Kontrolle („GV direkt“) wurde das CpGV direkt ins Medium gegeben. *Diese Präparate unterscheiden sich in ihrer Wirkung signifikant von der Kontrolle und allen übrigen Präparaten (SAS 9.2; ANOVA (Proc GLM), Scheffes Test, $P = 0,05$).

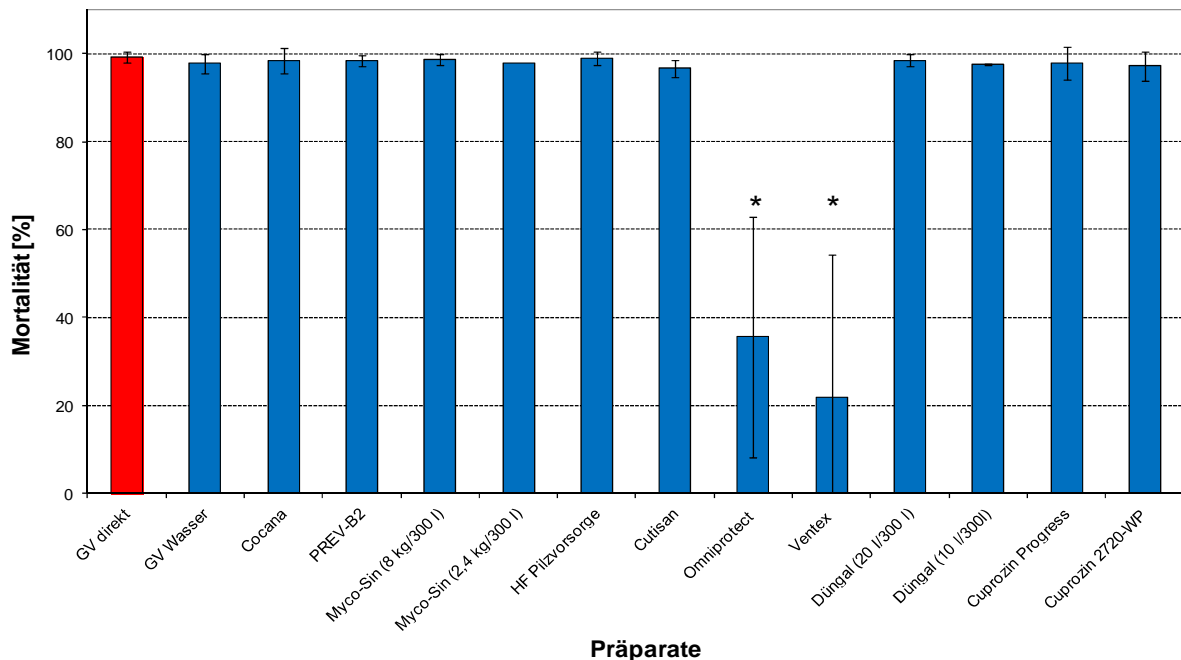


Abb. 1.13: Aktivität von CpGV in verschiedenen Präparate-Mischungen nach 4 h Einwirkzeit bei Raumtemperatur. Dargestellt sind die mittleren Mortalitäten der Apfelwicklerlarven ermittelt nach 14 Tagen aus 3 unabhängigen Biotest-Wiederholungen. Die senkrechten Linien markieren die Standardabweichungen. Als Kontrolle („GV direkt“) wurde das CpGV direkt ins Medium gegeben.

*Diese Präparate unterscheiden sich in ihrer Wirkung signifikant von der Kontrolle und allen übrigen Präparaten (SAS 9.2; ANOVA (Proc GLM), Scheffes Test, $P=0,05$).

12-stündige Exposition

Bei Myco-Sin, mit einem pH-Wert im sauren Bereich (pH 3,5), war bei 4 h Exposition kein direkter Einfluss auf die Aktivität des CpGV festzustellen. Frühere Untersuchungen mit anderen Baculoviren haben gezeigt, dass nach 30-minütiger Einwirkzeit bei pH 2 die Infektiosität der Viren deutlich verringert wird (Gudauskas & Canerday, 1968). Allerdings bei einer längeren Exposition von 24 Stunden wurden leichte Aktivitätsverluste auch bei pH 4 beobachtet (Ignoffo & Garcia, 1966). Um sicherzugehen, ob bei längerer Exposition nicht möglicherweise doch eine Inaktivierung der Viren bei Myco-Sin eintritt, wurde in einem weiteren Versuch die Einwirkdauer der Präparate mit niedrigem pH-Wert auf 12 Stunden erhöht und die Aktivität des CpGV nochmals überprüft. Hierbei wurden weitere kommerzielle Präparate, u. a. ein neu zugelassenes Pflanzenstärkungsmittel (Ulmasud B), das ebenfalls in Lösung relativ sauer reagiert (pH 3,3), getestet.

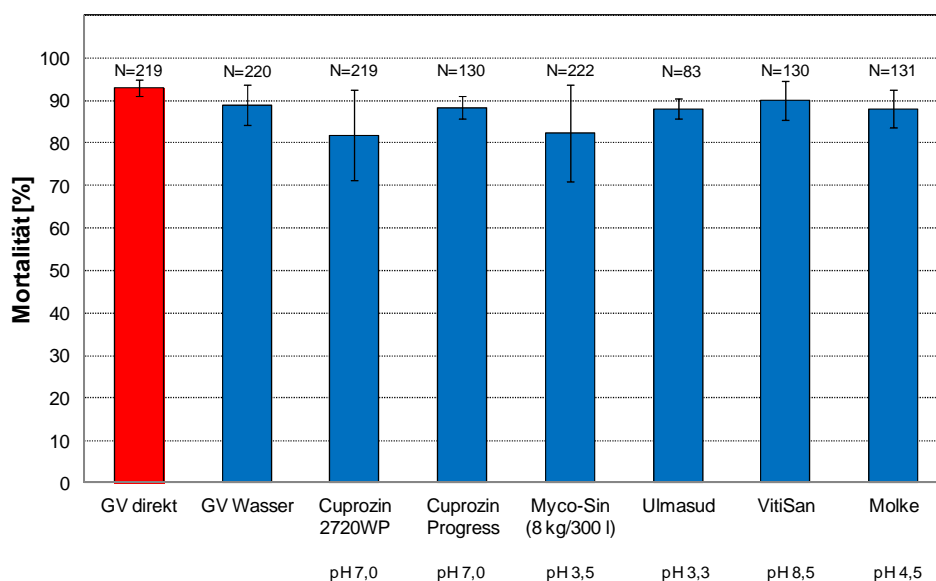


Abb. 1.14: Aktivität des CpGV in verschiedenen Präparate-Mischungen nach 12 h Einwirkzeit bei Raumtemperatur. Dargestellt sind die mittleren Mortalitäten der Apfelwicklerlarven nach 14 Tagen aus 3 unabhängigen Biotest-Wiederholungen. Die senkrechten Linien markieren die Standardabweichungen. Bei der Kontrolle „GV direkt“ wurde das CpGV direkt ins Medium gegeben. N gibt jeweils die Anzahl Tiere im Versuch an. Alle Präparate unterscheiden sich in ihrer Wirkung nicht signifikant von der Kontrolle und allen übrigen Präparaten (SAS 9.2; ANOVA (Proc GLM), Scheffes Test, $P=0,05$).

Die Biotestergebnisse (Abb. 1.14) zeigten bei keinem der eingesetzten Präparate einen deutlich nachteiligen Einfluss auf die Aktivität des CpGV. Die im 14-Tage Bioassay ermittelten Mortalitätswerte lagen für die Präparate Ulmasud B, VitiSan, Cuprozin Progress

und Molke zwischen 88 % und 90 % und waren vergleichbar mit der Sterblichkeit der Tiere aus der Referenzprobe mit Wasser „GV Wasser“ (89 %) und der Kontrolle „GV direkt“ (93 %). Bei Myco-Sin und Cuproxin 2720 WP war die Mortalität etwas geringer und erreichte im Biotest nach 14 Tagen etwa 82 %. Der statistische Vergleich aller Mortalitätswerte untereinander mit SAS (9.2); ANOVA (Proc Glim), Scheffes Test, $P=0,05$) zeigte bei allen Präparaten keinen signifikanten Unterschied in den Mortalitäten, weder im Vergleich zu der Kontrolle „GV direkt“ und der Referenzprobe „GV Wasser“ noch untereinander.

Für die Praxis bedeutet dies, dass CpGV mit diesen Präparaten in Tankmischungen auch über einen längeren Zeitraum von bis zu 12 Stunden gehandhabt werden kann, ohne dass signifikante Aktivitätsverluste zu erwarten sind.

1.4 Zusammenfassung

Seit der im Jahr 2004 erstmals in einzelnen Anlagen in Deutschland beobachteten Resistenz des Apfelwicklers gegenüber dem Granulovirus (CpGV-M) wurden bis heute europaweit 38 Apfelwicklerpopulationen mit CpGV-M-Resistenz nachgewiesen, in Deutschland (22), Frankreich (3), Italien (6), Österreich (2), Schweiz (2), Niederlande (2) und Tschechien (1). Erste Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz zeigten bei einer AW-Population aus einer Problemanlage in Süddeutschland, dass die Resistenz einfaktoriell, geschlechtschromosomal und mit einer konzentrationsabhängigen Dominanz sehr effizient auf die Nachkommen übertragen wird. Durch die Selektion neuer CpGV-Isolate konnte die Resistenz gegen CpGV-M weitgehend gebrochen werden.

Monitoring der Resistenz nach Einsatz neuer CpGV-Isolate

Im Rahmen des Resistenzmanagements des CpGV wurden in einigen ausgewählten Betrieben der kooperierenden Partner (BW-LF-10, BW-SM-10, RP-NS-10 und BW-ST-10) das von der Firma Andermatt Biocontrol AG (Schweiz) entwickelte und zugelassene, resistenzbrechende CpGV-Präparat Madex Max erfolgreich zur Regulierung des Apfelwicklers eingesetzt. In anderen Anlagen brachte der Einsatz von Madex Max jedoch nicht den gewünschten Bekämpfungserfolg. Auch die Wirksamkeitsuntersuchungen, die im Rahmen des Resistenzmonitorings in Schnelltests im Labor durchgeführt wurden, bestätigten die Minderwirkung des applizierten Präparates Madex Max in den jeweiligen Apfelwicklerpopulationen. Die Erprobung des neu selektierten Präparats CpGV-V15 in fünf verschiedenen Problemanlagen (NRW-WE-11, SL-SA-11, HH-CR-11, NS-JO-12 und NS-JOG-12) erwies sich in der Saison 2011 und 2012 als erfolgreich und führte zur deutlichen Reduktion der Apfelwicklerschäden.

Durch die Weiterführung des Resistenzmonitorings konnten zusätzlich zu den bereits bekannten Anlagen, in denen resistenzbrechende Isolate nicht die erhoffte Wirkung erzielten, weitere vier Anlagen mit Bekämpfungsproblemen identifiziert werden. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit des Resistenzmonitorings und dessen Fortführung, um auch in Zukunft einen erfolgreichen Einsatz von CpGV-Präparaten gewährleisten zu können. Auf diese Weise lassen sich Wirkungsdefizite des CpGV frühzeitig erkennen und Gegenmaßnahmen einleiten. Es

zeigte sich, dass mit dem neuen Versuchspräparat CpGV-V15 auch für kritische AW-Populationen ein effizientes Mittel zur Verfügung steht.

Wirksamkeit verschiedener CpGV-Isolate

In Laboruntersuchungen wurde die Wirkung resistenzbrechender CpGV-Isolate (CpGV-S, -V15 und -E2) gegenüber den seit 2009 im Labor gezüchteten resistenten AW-Stämmen NRW-WE und SA-GO mittels Biotests überprüft. Diese beiden Stämme zeichnete ein außergewöhnlich hohes Resistenzniveau von Faktor 1.000.000 aus im Vergleich zu einem CpGV-M empfindlichen AW-Stamm CpS. Während die Isolate CpGV-V15 und -E2 eine deutlich resistenzbrechende Wirkung zeigten, erwies sich das Isolat CpGV-S bei diesen Stämmen als nicht wirksam.

Vererbung der Resistenz

Die Untersuchungen zum Vererbungsmodus bei dem hoch resistenten AW-Stamm NRW-WE, der sich auch gegenüber neuen resistenzbrechenden Isolaten (u. a. CpGV-S) unempfindlich erwies, zeigten, dass bei diesem Stamm eine autosomale Übertragung der Resistenz auf die Nachkommen stattfinden kann. Dieser Vererbungstyp wurde bei Verwendung der homogen resistenten Linien von NRW-WE-5-M/S, die anhand von Massenkreuzungen aufeinanderfolgender Generationen unter Virusdruck selektiert wurden. Neben der bereits beschriebenen Z-chromosomalen Vererbung der Resistenz kommt somit ein zweiter Vererbungsmodus in Betracht.

Die Entdeckung des zweiten Resistenztyps macht eine weitere Beobachtung der Empfindlichkeit von AW-Populationen und die Fortführung eines den Viruseinsatz begleitenden Resistenzmonitorings notwendig. Hierdurch können solche Entwicklungen in Problemanlagen identifiziert und frühzeitig Gegenmaßnahmen wie die Verwendung anderer resistenzbrechender Isolate eingeleitet werden.

Vergleich der Empfindlichkeit der F1 und F2-Generation des Apfelwicklers

Beobachtungen in der Praxis aber auch bei den Resistenzschnelltests im Labor deuteten vielfach darauf hin, dass Individuen der zweiten Generation (F2) des Apfelwicklers weniger anfällig für CpGV waren als Tiere der ersten Generation (F1). Aufgrund des Ausschlusses sämtlicher Umweltfaktoren im Labor, wurde als mögliche Ursache hierfür ein physiologischer Unterschied der Tiere der F1- und F2-Generation vermutet, der eventuell durch Umwelteinflüsse (z. B. Induktion der Diapause) gesteuert sein könnte.

Zur Überprüfung dieser Hypothese sollten in den Jahren 2011 bis 2013 in einer unbehandelten Streuobstanlage in Sachsen (SA-MU) Apfelwicklerlarven der ersten und zweiten Generation gesammelt werden, um deren Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV-M im Labor-Biotest zu untersuchen. Für die F1-Generation, von der in den Jahren 2011 bis 2013 jeweils ausreichend Larven gesammelt werden konnten, waren die Ergebnisse der Empfindlichkeitstests in allen Jahren nahezu reproduzierbar. Aufgrund ungünstiger Witterungsbedingungen und einem sehr geringen Aufkommen der F2-Generation standen nur im Jahr 2012 auch Tiere der F2-Generation für die Untersuchungen zur Verfügung. Im Gegensatz zur F1-Generation zeigte

sich eine deutlich geringere Mortalität, was eine verminderte Empfindlichkeit der F2-Generation vermuten ließ. Zur Absicherung dieses Ergebnisses wurden im Jahr 2013 in drei unterschiedlichen Parzellen einer Streuobstanlage der DLR Rheinpfalz in Neustadt/Wstr. (RP) sowie in einer weiteren unbehandelten Anlage in Sachsen (SA) erneut Apfelwicklerlarven der F1- und F2-Generation gesammelt und im Schnelltest untersucht. Hier zeigte sich zwischen den Tieren beider Generationen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber dem CpGV.

Zusätzlich wurden in Laboruntersuchungen unter standardisierten Bedingungen Tiere des resistenten Laborstamm NRW-WE künstlich in Diapause gebracht. Nach der Ruhephase wurde die Empfindlichkeit der Nachkommen (F1- und F2-Generation) im Labor-Biotest bestimmt. Bei diesen Untersuchungen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Empfindlichkeit zwischen den beiden Generationen festgestellt werden, weder gegenüber CpGV-M und CpGV-S noch gegenüber dem resistenzbrechenden Isolat CpGV-V15. Das Diapausestadium, das bei der Elterngeneration induziert wurde, hatte somit keinen Einfluss auf die Anfälligkeit der beiden Folgegenerationen F1 und F2.

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen konnten keine eindeutigen Hinweise, die die Annahme einer verminderten Anfälligkeit der zweiten Generation des Apfelwicklers gegenüber CpGV unter Laborbedingungen unterstützen, gefunden werden.

Mischbarkeit von kommerziellen Präparaten mit CpGV

Bei der Anwendung von Viruspräparaten ist es in der Praxis üblich, kommerzielle Präparate zur Mehltau- und Schorfbekämpfung in Tankmischungen mit CpGV zu kombinieren. Im Hinblick auf den pH-Wert dieser Spritzbrühen kann es zu einer Inaktivierung der Viren kommen. Untersuchungen zur Mischbarkeit solcher Präparate mit CpGV haben gezeigt, dass in Kombination mit Präparaten, die in wässriger Lösung stark basisch reagieren (Omniprotect pH 11,5 und Ventex pH 11,5), die Aktivität des CpGV nach einer vierstündigen Einwirkzeit deutlich herabgesetzt wird. Untersuchungen mit einer verlängerten Expositionszeit von 12 Stunden, bei denen Fungizide (Cuprozin 2720 WP pH 7 und Cuprozin Progress pH 7) und Pflanzenstärkungsmittel (Mycosin pH 3,5, Ulmasud B pH 3,3 und VitiSan pH 8,5) sowie Molke (pH 4,5) eingesetzt wurden, führten zu keinen signifikanten Aktivitätsverlusten des CpGV in den Mischungen.

1.5 Literaturverzeichnis

Abbott, W. S. (1925). A method of computing effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18, 265-267.

Asser-Kaiser, S.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Eberle, K. E.; Gund, N. A.; Reineke, A.; Zebitz, C. P. W.; Heckel, D. G.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2007). Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. Science 317, 1916-1918.

Asser-Kaiser, S.; Heckel, D. G.; Jehle, J. A. (2010). Sex linkage of CpGV resistance in a heterogenous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.). J. Invertebr. Pathol. 103, 59-64.

- Bathon, H. (1981). Zur Zucht des Apfelwicklers, *Laspeyresia pomonella* (L.) (Lep., Tortricidae), auf einem künstlichen Nährmedium. Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Entomol. 2, 136-140.
- Berling, M.; Blachere-Lopez, C.; Soubabère, O.; Lery, X.; Bonhomme, A.; Sauphanor, B.; Lopez-Ferber, M. (2009a). *Cydia pomonella* granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. Appl. Environ. Microbiol. 75, 925-930.
- Berling, M.; Rey, J.-B.; Ondet, S.-J.; Tallot, Y.; Soubabère, O.; Lery, X.; Bonhomme, A.; Sauphanor, B.; Lopez-Ferber, M. (2009b). Field trials of CpGV virus isolates overcoming resistance to CpGV-M. Virologica Sinica 24, 470-477.
- Berling, M.; Sauphanor, B.; Bonhomme, A.; Siegwart, M.; Lopez-Ferber, M. (2013). A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus. Pest Manag. Sci. 69, 1261-1266.
- Crook, N. E.; Spencer, R. A.; Payne, C. C.; Leisy, D. J. (1985). Variation in *Cydia pomonella* granulosis virus isolates and physical maps of the DNA from three variants. J. Gen. Virol. 66, 2423-2430.
- Eberle, K. E.; Asser-Kaiser, S.; Sayed, S. M.; Nguyen, H. T.; Jehle, J. A. (2008). Overcoming the resistance of codling moth against conventional *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) by a new isolate CpGV-I12. J. Invertebr. Pathol. 98, 293-298.
- Freitag, D.; Heckel, D. G.; Vogel, H. (2009). Dietary-dependent trans-generational immune priming in an insect herbivore. Proc. R. Soc. B doi: 10.1098/rspb.2009.0323.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Huber, J. (2005). Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzschutzdienst 57, 29-34.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Huber, J. (2006). Codling moth granulovirus: variations in the susceptibility of local codling moth populations. In: Boos, M. (Ed.), Proceedings 12th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing, Weinsberg, Germany, 31st January to 2nd February, 2006, Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO), Weinsberg, 7-13.
- Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Huber, J.; Kienzle, J. (2008). Impact of different agents on the efficacy of codling moth granulovirus in tank mixtures. In: Proceedings 13th International Conference on Cultivation Technique and Pytopathological Problems in Organic Fruit-Growing (Ecofruit), Weinsberg (Germany), February 18 - 20, 2008, Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.), Weinsberg, 252-255.
- Gudauskas, R. T.; Canerday, D. (1968). The effect of heat, buffer, salt and H-ion concentration, and ultraviolet light on the infectivity of *Heliothis* and *Trichoplusia* nuclear polyhedrosis viruses. J. Invertebr. Pathol. 12, 405-411.
- Ignoffo, C. M.; Garcia, C. (1966). The relation of pH to the activity of inclusion bodies of a *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebr. Pathol. 8, 426-427.

- Ivaldi-Sender, C. (1974). Techniques simples pour élevage permanent de la tordeuse orientale, *Grapholita molesta* (Lep., Tortricidae), sur milieu artificiel. Ann. Zool. Ecol. Anim. 6, 337-343.
- Jehle, J. A.; Backhaus, H.; Fritsch, E.; Huber, J. (1992). Physical map of the *Cryptophlebia leucotreta* granulosis virus genome and its relationship to the genome of *Cydia pomonella* granulosis virus. J. Gen. Virol. 73, 1621-1626.
- Jehle, J. A.; Sayed, S. M.; Wahl-Ermel, B.; Eberle, K. E. (2006). Neues Granulovirus-Isolat. Bekämpfung von resistenten Apfelwicklerpopulationen möglich? Obstbau 31(6), 320-322.
- Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Zimmer, J.; Volk, F. (2007). First field tests with Madex plus against CpGV-resistant codling moth populations in organic orchards. 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. <http://orgprints.org/9893>.
- Krieg, A. (1973). In: Arthropodenviren. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 328. S.
- Rezapanah, M.; Shojai-Estabragh, S.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2008). Molecular and biological characterization of new isolates of *Cydia pomonella* granulovirus from Iran. J. Pest. Sci. 81, 187-191.
- Schmitt, A.; Bisutti, I. L.; Ladurner, E.; Benuzzi, M.; Sauphanor, B.; Kienzle, J.; Zingg, D.; Undorf-Spahn, K.; Fritsch, E.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2013). The occurrence and distribution of resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus in Europe. J. Appl. Entomol., 137, 641-649.
- Schulze-Bopp, S.; Jehle, J. A. (2013). Development of a direct test of baculovirus resistance in wild codling moth populations. J. Appl. Entomol. 137, 153-160.
- Tanada, Y. (1964). A granulosis virus of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (*Olethreutidae*, *Lepidoptera*). J. Insect Pathol. 6, 378-380.
- Undorf-Spahn, K.; Fritsch, E.; Huber, J.; Kienzle, J.; Zebitz, C. P. W.; Jehle, J. A. (2012). High stability and no fitness costs of the resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M). J. Invertebr. Pathol. 111, 136-142.
- Vincent, C.; Andermatt, M.; Valéro, J. (2007). Madex and Virosoft Cp4, viral biopesticides for codling moth control. pp. 336-343. In: Vincent, C.; Goettel, M.; Lazarovits G. (eds.), 2007 Biological Control: A global perspective. Case Histories from around the world. CABI Publishing, Walingford, UK, 440 pp.
- Zichová, T.; Stará, J.; Kundu, J. K.; Eberle, K. E.; Jehle, J. A. (2013). Resistance to *Cydia pomonella* granulovirus follows a geographically widely distributed inheritance type within Europe. BioControl 58, 525-534.
- Zingg, D. (2008). Madex Plus and Madex I12 overcome virus resistance of codling moth. In: Proceedings 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing (Ecofruit), Weinsberg (Germany), February 18 - 20, 2008, Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.), Weinsberg, 56-260.
- Zingg, D., Kraaz, i. (2011). Apfelwicklervirus: Die nächste Generation Resistenz brechender Isolate steht bereit. Andermatt Gruppe Journal, Aug. 2011, 18.

1.6 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen (Teilprojekt 1)

Im Projektzeitraum wurden alle vorgesehenen Arbeitsziele bis auf einen Untersuchungspunkt, nämlich die Bestimmung der Wirkgeschwindigkeit verschiedener CpGV-Isolate gegenüber resistenten Apfelwickler-Stämmen, erreicht. Bei diesen Untersuchungen sollte die Wirkgeschwindigkeit von verschiedenen CpGV-Isolaten (CpGV-M, -S, -E2 und -V15) in unterschiedlichen AW-Stämmen bestimmt werden, wobei der empfindliche AW-Stamm (CpS), der homogen resistente AW-Stamm CpRR1 und der resistente Freilandstamm NRW-WE vorgesehen waren. Diese Versuche konnten nicht abgeschlossen werden, da die Untersuchungen zur Vererbung der Resistenz in NRW-WE und SA-GO erheblich mehr Zeit in Anspruch nahmen als ursprünglich geplant. Um die Vererbung der Resistenz zu untersuchen, wurde zunächst versucht, über Einzelparkkreuzungen, sensible Tiere im heterogenen resistenten Stamm NRW-WE zu eliminieren, um eine homogene Linie dieses Stammes für weiterführende genetische Untersuchungen zu erzeugen. Diese Versuche waren jedoch aufgrund der schlechten Entwicklung der Nachkommen wenig erfolgreich, so dass die Methode von Massenkreuzungen aufeinanderfolgender Generationen unter Selektionsdruck Anwendung fand. Diese Arbeiten waren extrem zeit- und arbeitsaufwändig, in ihrem Ergebnis aber wichtiger als die Bestimmung der Wirkgeschwindigkeiten der einzelnen Isolate, denn sie führten zur Entdeckung eines neuen Vererbungsmodus der CpGV-Resistenz.

Verzögerungen, die sich aus den oben beschriebenen Gründen bei einigen Fragestellungen ergeben haben, konnten im Zeitraum der Projektverlängerung aufgefangen werden. Daher entsprach der Stand der übrigen Arbeiten größtenteils dem Zeitplan. Die 2011 begonnenen Untersuchungen zum Vergleich der Empfindlichkeit der F1- und F2-Generation eines AW-Freilandstammes gegenüber dem CpGV konnten 2012 weitergeführt werden, da in diesem Jahr genügend Tiere verfügbar waren. Im Rahmen des Teilprojektes 2 wurden 2012 in der unbehandelten Anlage in Sachsen (SA-MU-12) erneut befallene Äpfel gesammelt und die Apfelwickler der ersten und zweiten Generation am JKI/Darmstadt den Schnelltests unterzogen, die erste Ergebnisse lieferten. Zur Absicherung dieser Ergebnisse wurden im Jahr 2013 in drei unterschiedlichen Parzellen einer Streuobstanlage der DLR/Rheinpfalz in Neustadt/Wstr. (RP) sowie in einer weiteren unbehandelten Anlage in Sachsen (SA) erneut Apfelwickler der F1- und F2- Generation gesammelt und mittels Schnelltests untersucht. Zusätzlich zu den Untersuchungen an Freilandtieren wurden unter standardisierten Laborbedingungen Apfelwicklerlarven eines resistenten Laborstammes (NRW-WE) künstlich in Diapause gebracht und nach der Ruhephase die Empfindlichkeit der Nachkommen (F1 und F2) im Biotest bestimmt.

2 Teilprojekt 2

2.1 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Fragestellungen für Monitoring ecc. der neuen CpGV-Isolate wurden bereits unter Teilprojekt 1 dargestellt. Im Teilprojekt 2 sollte unter anderem die Frage beantwortet werden, wie diese Isolate möglichst effizient und wirksam in der Praxis eingesetzt werden können.

Empfohlen wurde 2009 ein Schwerpunkt der Behandlungen in der ersten Generation (Kienzle & Jehle, 2009). Mangels Alternativen erfolgt der Einsatz jedoch über die gesamte Saison. Nach Beobachtungen im Feld war die Wirkung gegen die zweite Generation, besonders was den Fruchtschaden betrifft, geringer. Dies schien besonders ausgeprägt bei CpGV-M-resistenten Populationen zu sein, war aber nicht so gut mit Daten abgesichert, dass die Ergebnisse eine sichere Empfehlungsgrundlage darstellen könnten.

Im Rahmen der Diskussionen im EU-Projekt SustainCpGV über die Resistenzbildung gegenüber CpGV-M beim Apfelwickler wurde immer wieder gefordert, für ein effizientes Resistenzmanagement die Behandlungen für eine Generation komplett auszusetzen, um den Selektionsprozess zumindest zu verlangsamen (Reyes et al., 2007; Sauphanor, 2008). Daher ist es grundsätzlich wichtig, abzuklären, inwiefern dies in einer Strategie machbar und mit Kosten für den Anbauer verbunden wäre (Fruchtschaden vs. Pflanzenschutzmaßnahme).

Im Fall von CpGV muss aber auch berücksichtigt werden, dass kleine Mengen an CpGV sehr lange in der Anlage vorhanden sind und immer noch wirksam sein können (Kienzle et al., 2003; Steineke et al., 2002). Daher könnte sich der Selektionsprozess in diesem Fall auch anders entwickeln, als man das von synthetischen Präparaten her kennt, da dann die zweite Generation nicht ohne CpGV, sondern unter dem Einfluß sehr niedriger Konzentrationen persistierender CpGVs selektiert wird. Daher sollte zuerst die Machbarkeit, dann aber auch ggf. die tatsächlichen Effekte auf den Selektionsprozess einer solchen Maßnahme, geprüft werden um Strategieempfehlungen auszusprechen.

Im ökologischen Obstbau wird derzeit der Einsatz hoher Aufwandmengen von CpGV bei stärkerem Schlupf und niedrigerer Aufwandmengen bei schwachem Schlupf empfohlen. Der Schlupf wird aufgrund der Abendtemperaturen, d.h. der günstigen Eiablagebedingungen sowie ggf. des Flugverlaufs berechnet. In den letzten Jahren hat sich das Klima so verändert, dass im Gegensatz zu früheren Jahren fast keine Perioden mit geringerem Schlupf mehr berechnet werden konnten. Demzufolge werden in vielen Jahren hohe CpGV-Aufwandmengen von Ende Mai bis Ende August durchgehend empfohlen und auch eingesetzt. Dies ist ein hoher Materialaufwand, der eigentlich nicht dem ökologischen Gedanken entspricht, und zudem hohe Kosten verursacht. Die Frage ist auch, inwiefern dies die Resistenzbildung wieder fördert. Es sollte daher geklärt werden, wo Spritzungen eingespart oder durch andere Maßnahmen ersetzt werden können.

Im ökologischen Obstbau wird derzeit der Einsatz hoher Aufwandmengen von CpGV bei stärkerem Schlupf und niedrigerer Aufwandmengen bei schwachem Schlupf empfohlen. Der Schlupf wird aufgrund der Abendtemperaturen, d.h. der günstigen Eiablagebedingungen sowie ggf. des Flugverlaufs berechnet. In den letzten Jahren hat sich das Klima so verändert, dass im Gegensatz zu früheren Jahren fast keine Perioden mit geringerem Schlupf mehr

berechnet werden konnten. Demzufolge werden in vielen Jahren hohe Aufwandsmengen von Ende Mai bis Ende August durchgehend empfohlen und auch eingesetzt. Dies ist ein hoher Materialaufwand, der eigentlich nicht dem ökologischen Gedanken entspricht, und zudem hohe Kosten verursacht. Die Frage ist auch, inwiefern dies die Resistenzbildung wieder fördert. Es sollte daher geklärt werden, wo Spritzungen eingespart oder durch andere Maßnahmen ersetzt werden können.

Andere für den ökologischen Obstbau geeignete Verfahren zur Regulierung des Apfelwicklers befanden sich in der Entwicklung. Im Rahmen eines von der DBU geförderten Projekts (Az 23940) wurde an verschiedenen Verfahren gearbeitet, u.a. an entomopathogenen Nematoden sowie an NeemAzal-T/S zur Reduktion der Population. In einem anderen Projekt im Rahmen des Innovationsprogramms der BLE (FKZ 2814202106) wurde an der Optimierung des Einsatzes von *Trichogramma* sp. gearbeitet, so dass auf diese Ergebnisse aufgebaut werden konnte.

Trichogramma-Arten waren früher für den ökologischen Obstbau nicht interessant, da sie durch Schwefelbehandlungen geschädigt werden und Schwefel als Fungizid praktisch den ganzen Sommer über zum Einsatz kommt. Im Rahmen der Strategieentwicklung zum Fungizideinsatz kommen gegen Saisonende zunehmend auch andere Produkte zum Einsatz wie z.B. Kaliumhydrogenkarbonat und Mycosin, so dass der Einsatz von Trichogrammen attraktiv werden könnte.

Im Rahmen dieses Projekts sollte das Potential dieser verschiedenen Bausteine für die Gesamtstrategie getestet werden.

2.2 Monitoring zum Auftreten erneuter Resistenzbildung mit den neuen Virusisolaten und Untersuchungen zum Virulenzmanagement mit Schwerpunkt auf dem Test der langfristigen Wirkung des Präparates CpGV-V 15 in den kritischen Betrieben

In allen Projektjahren wurden in Betrieben, die etwas höheren Befall aufwiesen, befallene Früchte gesammelt und an das JKI verbracht. Die Ergebnisse sind im Teilprojekt 1 dargestellt.

Im Betrieb NRW-WE waren 2009 Resistenzen auch gegenüber den neuen Isolaten aufgetreten (siehe TP 1). Im März 2010 war es der Firma Andermatt Biocontrol (Schweiz) gelungen, aus der Population aus dieser Anlage, die in Zucht genommen worden war, ein neues Präparat zu selektieren (CpGV-V15). Dieses wurde in der Saison 2010 in dem Betrieb mit Erfolg geprüft. In den folgenden Jahren wurde in diesem Betrieb ebenfalls geprüft, ob bei Langzeitanwendung wieder Probleme auftreten. Ausserdem wurde in den wenigen Betrieben, bei denen während der Projektlaufzeit eine Minderwirkung der neuen Isolate festgestellt worden war, die Langzeitanwendung von CpGV V15 geprüft. Auf diesem Betrieb gesammelte Larven wurden auf Empfindlichkeit gegenüber diesem Isolat getestet (siehe Teilprojekt 1). In allen Versuchen, die im Folgenden dargestellt werden, wurde gleichzeitig

Pheromone für die Verwirrungsmethode ausgebracht, um die Gefahr einer erneuten Resistenzbildung möglichst niedrig zu halten.

2.2.1 Versuche im Jahr 2011

An den Populationen SL-SW, NRW-WE und SA-GO wurden Versuche mit dem neuen Präparat CpGV-V 15 durchgeführt. Neu hinzu kam ein der Betrieb HH-CR aus dem Anbaugebiet Niederelbe, bei dem im Jahr 2010 eine Minderwirkung des CpGV-Isolats aus MADEX MAX festgestellt worden war. Der Versuch auf diesem Betrieb wurde mit den Versuchen zum Potential von NeemAzal-T/S kombiniert. Der Versuch ist daher unter 2.3 beschrieben. An den Standorten SA-SW und SA-GO war die Kontrolle in der Versuchsparzelle kaum befallen, so dass keine Auswertung möglich war. Auch in den Wellpapperingen wurden keine Larven gefunden. Die Versuche werden daher nicht dargestellt.

Am Standort NRW-WE wurde ca. im Wochenabstand vom 12. Mai bis Saisonende 100 ml CpGV-V15 pro ha ausgebracht.

Die unbehandelte Kontrolle befand sich am hinteren rechten Rand einer großen Anlage mit der Sorte Santana. Dort wurden in 8 Reihen jeweils 26 Bäume unbehandelt gelassen. Ausgewertet wurden nur die ersten 15 Bäume der mittleren vier Reihen. In zwei Reihen wurden Wellpapperinge angebracht, in zwei anderen Reihen erfolgte die Fruchtbonitur.

In denselben Reihen erfolgte im behandelten Teil die Auswertung auf Wirksamkeit der Maßnahmen.

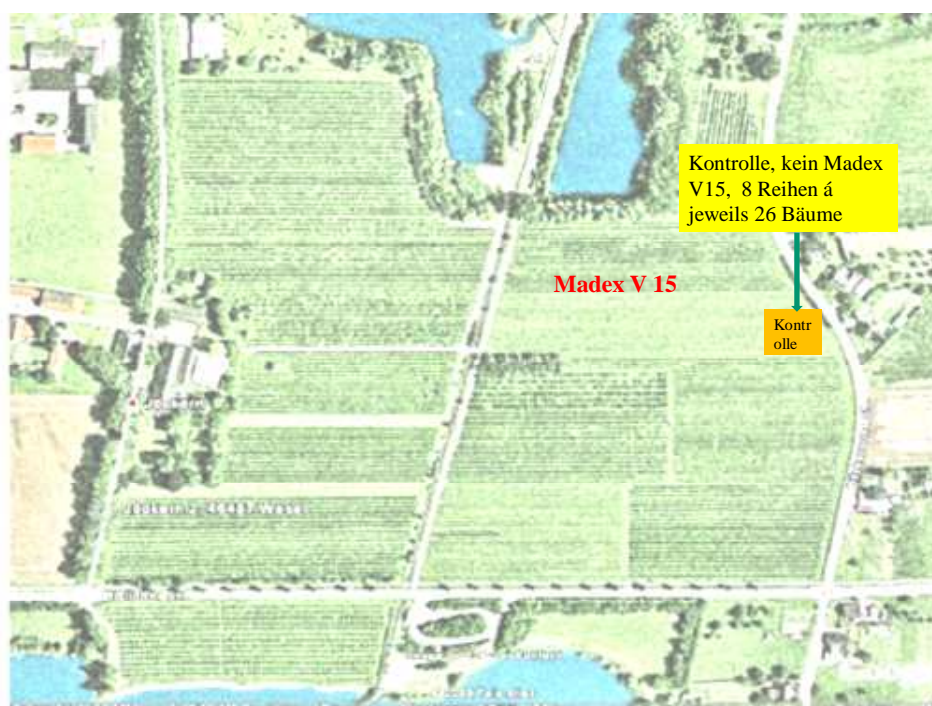


Abb. 2.1: Versuchsplan im Betrieb NRW-WE für den Praxisversuch mit CpGV-V 15

Der Fruchtbefall wurde am 27.6.2011 und am 9.8.2011 ausgewertet. Kontrolliert wurden jeweils 1000 zufällig ausgewählte Früchte pro Variante. In der Region gab es witterungsbedingt nur eine partielle sehr schwache zweite Generation. Am 9.8. werden nur für frische Befallsstellen dargestellt, die der zweiten Generation zuzuordnen waren.

In der Kontrolle wurden am 28.6.2011 20 Wellpapperinge angelegt, in der behandelten Variante 40 Wellpapperinge. Diese wurden am 9.8.2011 ausgewertet. Dabei wurden die Früchte aufgeschnitten und in aktiven Befall (lebende Larve oder Larve bereits ausgebohrt) und in abgestoppten Befall (keine lebende Larve zu finden) unterschieden.

Ergebnisse und Diskussion

In der ersten Generation zeigte sich auf dem Betrieb NRW-WE ein Wirkungsgrad nach ABBOTT von 80 % auf den aktiven Befall. Der Befall in der zweiten Generation war aufgrund des verfrühten Erntetermins und der verregneten Saison sehr gering. Die Wirkung auf die Folgepopulation lag bei 90 % (Abb. 2.2).

Das Präparat CpGV-V 15 hat also auf die Population NRW-WE auch im Jahr 2011 eine sehr gute Wirkung gezeigt. Dieser absolut problematische Betrieb, der durch Ausfälle durch Apfelwickler in ernsthafte Existenzprobleme geriet, hatte im Jahr 2011 auf der behandelten Fläche eine sehr gute Ernte mit nur geringen Fruchtschäden. Die Entwicklung der Virulenz dieses Viruspräparats, das an dieser Population selektiert wurde, muss aber weiter überwacht werden. Auch in der Anlage HH-CR zeigte sich eine gute Wirkung von CpGV-V15 (siehe 2.4).

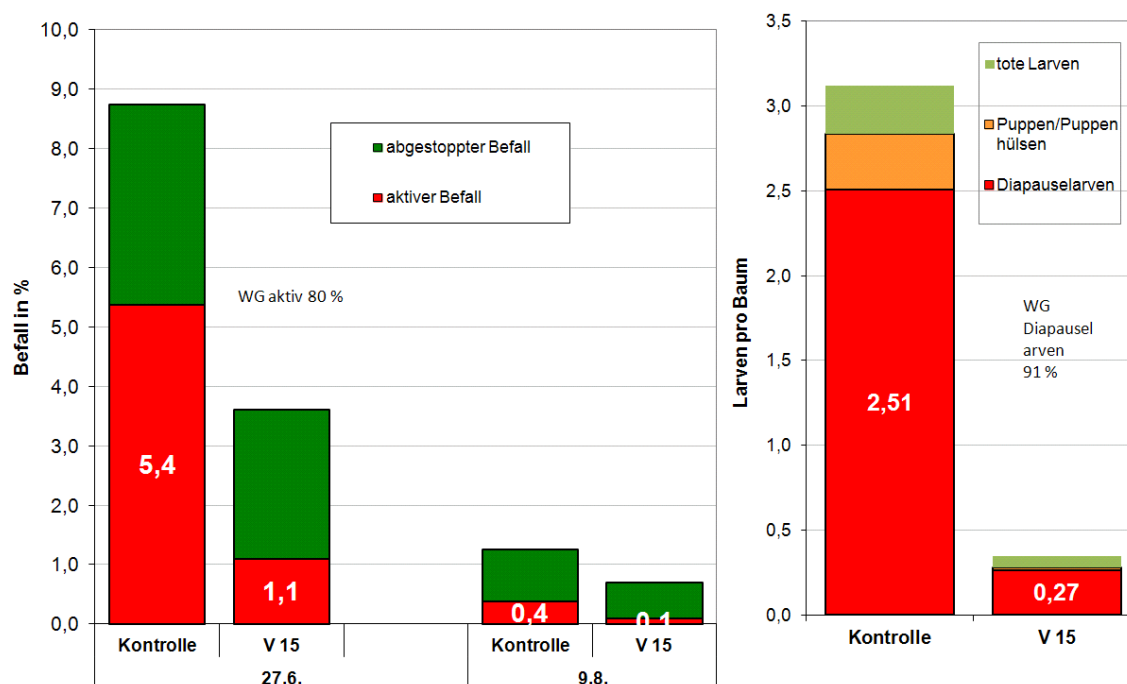


Abb. 2.2: Ergebnisse der Fruchtbonituren am 27.6. und 9.8.2011 (links) und der Auswertung der Wellpapperinge (rechts) am Standort NRW-WE

2.2.2 Versuche im Jahr 2012

Im Jahr 2011 wurden in zwei weiteren norddeutschen Anlagen (NS-JO-12 und NS-JOG-12) Minderwirkungen der akutell verwendeten neuen Isolate festgestellt. Daraufhin wurde auch in diesen Anlagen das Isolat CpGV-V15 eingesetzt. In diesen Anlagen wurden im Juli 2012 Früchte mit Apfelwicklerbefall gesammelt und an das JKI weitergegeben. In den anderen Regionen gab es keine Anlagen mehr, in denen Früchte gesammelt werden konnten: In Rheinland-Pfalz verzeichneten beide kritischen Betriebe starke Frostschäden und nur sehr geringen Befall. Auch am Standort NRW-WE war nur noch sehr wenig aktiver Befall zu finden.

Die Ergebnisse der Tests sind im Teilprojekt 1 dargestellt.

An den Populationen NRW-WE, SL-SW und HH-CR wurden Versuche mit dem neuen Präparat CpGV-V 15 fortgeführt. In der Anlage SA-GO wurden die Versuche eingestellt, da der Befallsdruck sehr gering war.

Standort Rheinland-Pfalz

Der Großparzellenversuch zum Einsatz von CpGV-V15 wurde in diesem Jahr an der Population SL-SA weitergeführt. Hierfür stand eine Parzelle mit verschiedenen Sorten zur Verfügung (Abb. 2.3). Die CpGV-V15 Standardbehandlung (Var. 2) wurde mit einer unbehandelten Kontrolle (Var. 1) verglichen (Tabelle 2.1). Die Wasseraufwandmenge betrug 500 l/ha und mKh (1000 l/ha).



Abb. 2. 3: Versuchsparzelle für CpGV-V15, Standort SL-SA

Die Auswertung des Befalls durch die 1. Generation des Apfelwicklers erfolgte am 27.06.2012. Pro Variante wurden 1000 zufällig ausgewählte Früchte bonitiert. Befallene Äpfel wurden anschließend aufgeschnitten und auf Vorhandensein der Larven kontrolliert.

Als aktiver Befall gewertet wurde, wenn eine lebende Larve gefunden wurde oder wenn die Larven bereits ausgebohrt waren. Die einzelnen Larvenstadien wurden visuell auf Basis der Larven und des Fraßgangs geschätzt. Der abgestoppte Befall (keine lebende Larve zu finden) wurde in tief und sehr tief abgestoppten Befall (Bohrgang tiefer als 1 cm) unterschieden.

Tab. 2. 1 Behandlungstermine Granulovirus CpGV-V15, Standort SL-SA

Behandlungstermin CpGV-V15	Aufwandmenge
14.05.	50 ml
21.05.	50 ml
29.05.	100 ml
06.06.	100 ml
15.06.	100 ml
25.06.	100 ml
03.07.	100 ml
12.07.	100 ml
20.07.	100 ml
30.07.	100 ml
08.08.	50 ml
20.08.	50 ml

Bei der Fruchtbonitur am 27.06.2012 lag der Befall in der Kontrolle bei 0,8 % und in der CpGV-V15 Variante bei 1,1 % (Abb. 2.2). Die Anzahl abgestopppter Fraßstellen an den Früchten war in der behandelten Variante höher als in der unbehandelten Kontrolle (Abb. 2.4 und 2.5). Insgesamt war der Befall in der Kontrolle für eine Aussage über die Wirkung des Präparates zu gering.

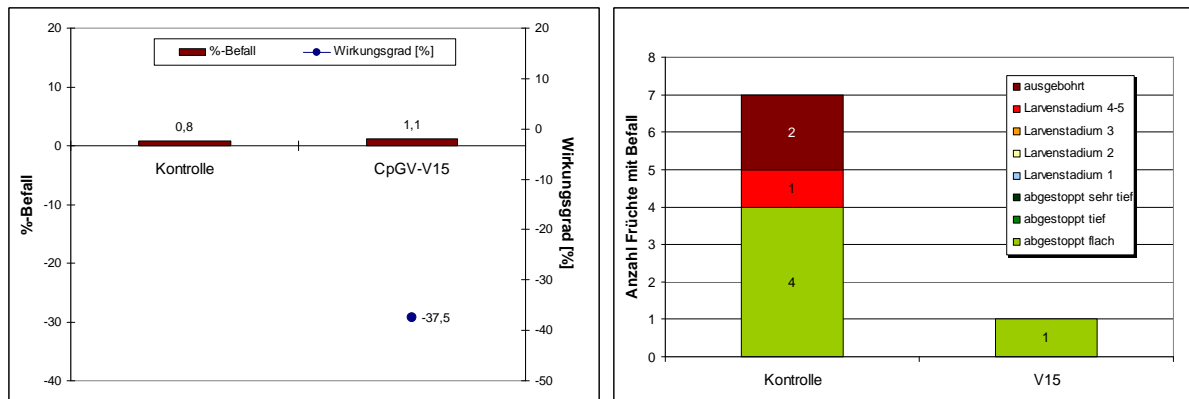


Abb. 2.4 und 2.5: Prozentualer Befall und Wirkungsgrad bzw. Ergebnisse der Fruchtbonitur, Großparzellenversuch zum Einsatz von CpGV-V15, Anlage SA-SW 2012

Standort Niederelbe

Im Versuchsjahr 2012 wurden auf drei ökologisch wirtschaftenden Obstbaubetrieben im Alten Land, Niederelbe, Praxisversuche mit dem Granulovirus CpGV-V 15 durchgeführt. Die Versuche fanden an den Populationen NS-JOG, NS-JO und HH-CR statt. In den Versuchsanlagen ist jeweils eine unbehandelte Parzelle als Kontrolle eingerichtet worden. Die Bonitur entsprach der Auswertung am vorigen Standort.

Situation Falterflug Altes Land / Esteburg 2012

Im Jahr 2012 zeigte sich an der Esteburg (Jork) ein schwacher Befallsdruck des Apfelwicklers. Zur Überwachung des Falterfluges und zur Bestimmung der Populationsgröße wurden die Fänge der Pheromonfallen regelmäßig kontrolliert und dokumentiert. Die Apfelwicklerpopulation der 1. Generation hielt sich, bedingt unter anderem durch eine hohe natürliche Mortalitätsrate, auf einem sehr niedrigen Niveau im Vergleich zu den Vorjahren. Das deutliche Auftreten einer 2. Generation konnte an der Niederelbe nicht beobachtet werden. Der Falterflug (Anzahl der Falter) und die Witterung am Standort Esteburg sind in Abb. 2.6 dargestellt.

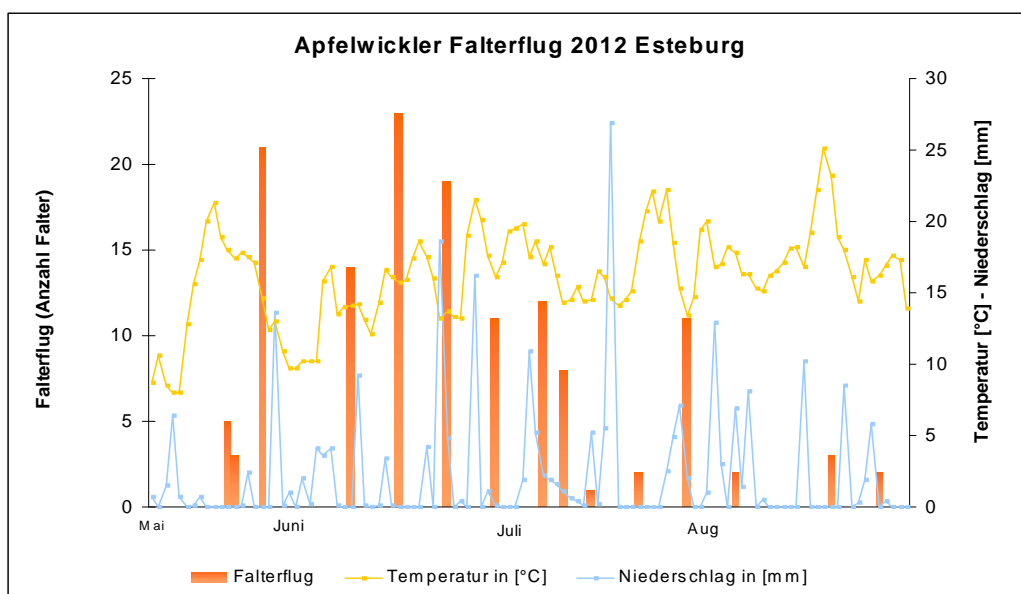


Abb. 2.6: Falterflug des Apfelwicklers an der Esteburg im Jahr 2012 (Standort Niederelbe)

Betrieb NS-JO

Die ökologisch bewirtschaftete Elstar-Anlage auf diesem Betrieb wurde vor Versuchsbeginn in zwei Großparzellenblöcke unterteilt, einer unbehandelten Kontrollparzelle und einer Parzelle, in der das Präparat CpGV-V 15 appliziert wurde .

An insgesamt fünf Behandlungstagen wurde das Apfelwickler-Granulovirus CpGV-V 15 mit einem praxisüblichen Spritzgerät mit Axialgebläse ausgebracht (Tab. 2.2). Bei einer Mittelaufwandmenge von 100ml/ha betrug die Wassermenge jeweils 500l/ha/mKh (1.000 l/ha). Auf dem Betrieb wurden im Jahr 2012 von dem Präparat CpGV-V 15 insgesamt 500ml/ha ausgebracht.

Tab. 2.2: Aufwandmengen und Applikationstermine am Standort NS-JO, Niederelbe, 2012

	Datum	Aufwandmenge ml/ ha	Anzahl der Behandlungen
Juni	11.6	100 ml	1
	21.6	100 ml	2
	30.6	100 ml	3
Juli	13.7	100 ml	4
	23.7	100 ml	5

Betrieb NS-JOG

In dem Betrieb NS-JOG wurde die Kontrollparzelle in der Sorte `Gala` angelegt, das Granulovirus CpGV-V 15 wurde in einer `Elstar`-Anlage appliziert. Die Applikation des Granulovirus erfolgte mit den im Betrieb vorhandenen Spritzgeräten, wobei die Behandlungszeitpunkte von den jeweiligen Witterungsbedingungen abhängig waren (Tab. 2.3:).

Zur Erhebung des Befallsdrucks wurden in der behandelten und der unbehandelten Parzelle am 20. Juli und am 06. September die Äpfel auf Apfelwicklerbefall bonitiert und ausgewertet. Am 09. September wurden in der Gala-Anlage an 32 Bäumen in 2 Reihen Wellpapperinge angebracht und nach 1,5 Monaten, am 23. Oktober 2012, wieder abgenommen.

Tab. 2.3: Aufwandmengen und Applikationstermine am Standort NS-JOG, Niederelbe, 2012

	Datum	Aufwandmenge ml/ ha	Anzahl der Behandlungen
Juni	11.6	100 ml	1
	22.6	100 ml	2
Juli	4.7	100 ml	3
	13.7	100 ml	4
	23.7	100 ml	5

Betrieb HH-CR

Zur Durchführung des Versuches stand die nach ökologischen Richtlinien bewirtschaftete Jonagold-Anlage des Betriebes zur Verfügung. Auch hier wurden die Blöcke so eingerichtet, dass eine Kontrollparzelle unbehandelt blieb. Die Anzahl der Behandlungen ist in Abb. 2.7 dargestellt.

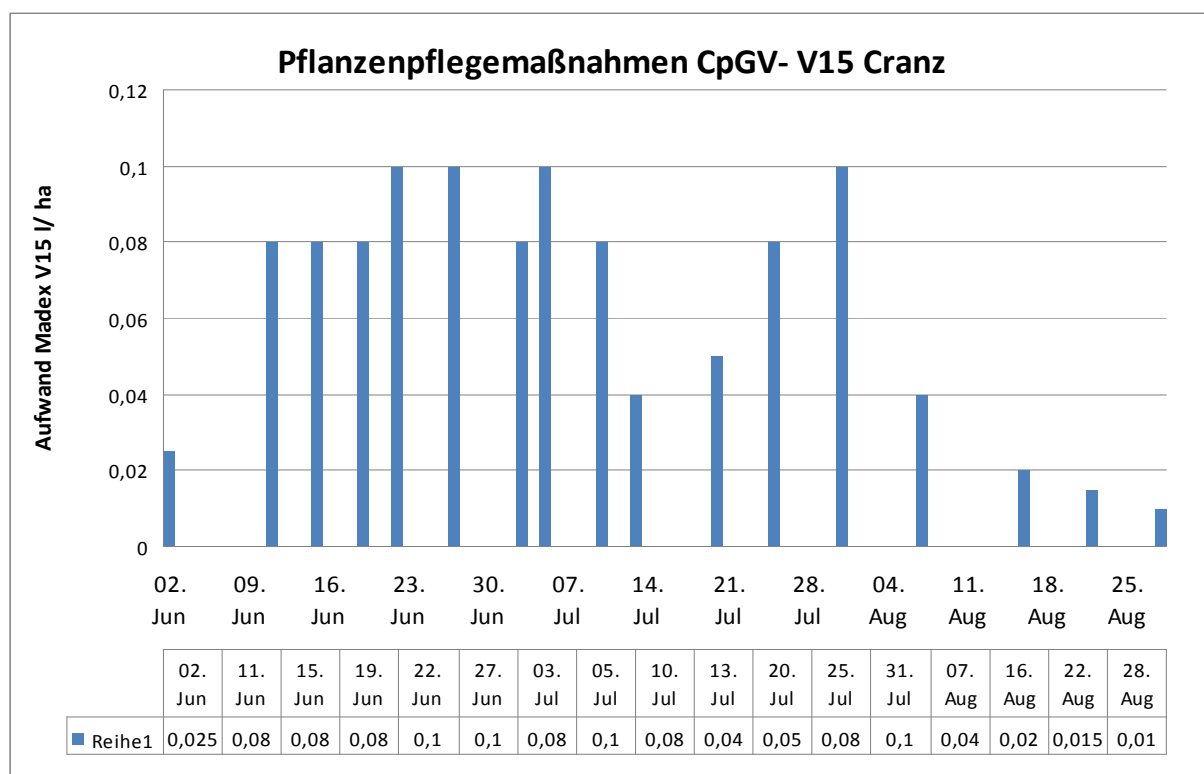


Abb. 2.7: Aufwandmenge CpGV-V15 am Standort HH-CR im Jahr 2012

Der Versuch wurde am 31. August auf Befall durch den Apfelwickler bonitiert. Am 16. Juli wurden in der Versuchsanlage Wellpapperinge in der unbehandelten und der behandelten Parzelle an je 32 Bäumen angebracht, Mitte Oktober (23.10.) wurden die Pappringe von den Bäumen entfernt und ausgewertet.

Ergebnisse

Bei einer Bonitur am 20.7. 2012 auf den Betrieben NS-JOG und NS-JO wurden fast nur L2-Larven gefunden. Es zeigte sich insgesamt ein im Verhältnis zum Vorjahr sehr niedriger Befall (Abb. 2.8). Lediglich am Standort NS-JO war der Befall etwas höher.

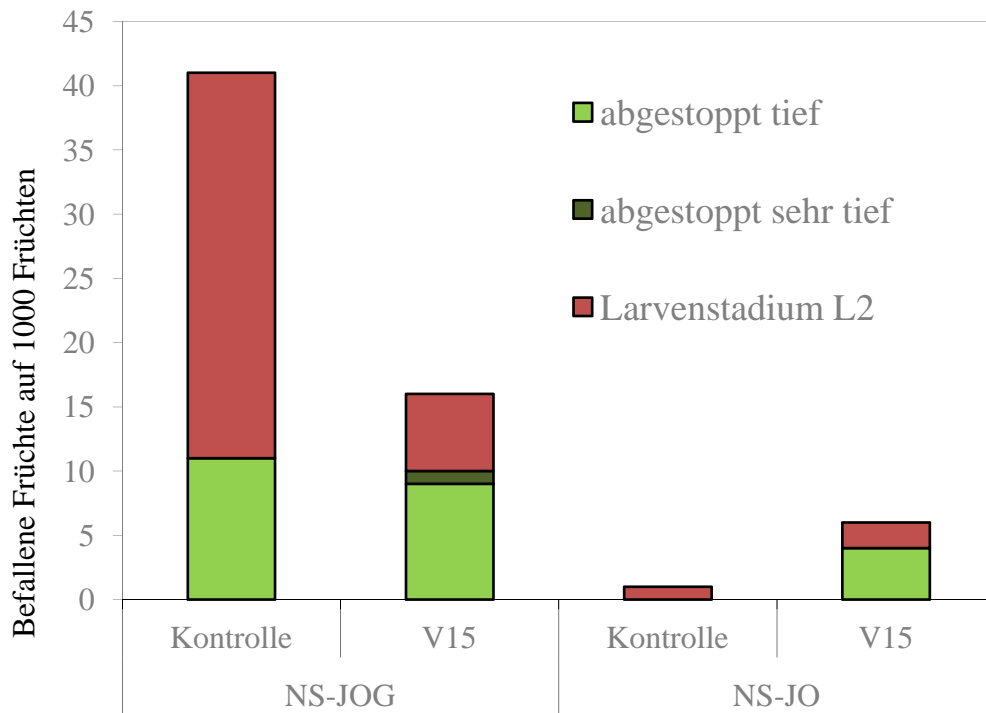


Abb. 2.8: Fruchtbefall in den Versuchen zu CpGV-V15 an den Populationen NS-JOG und NS-JO bei einer Bonitur am 20.7.2012 am Standort Niederelbe

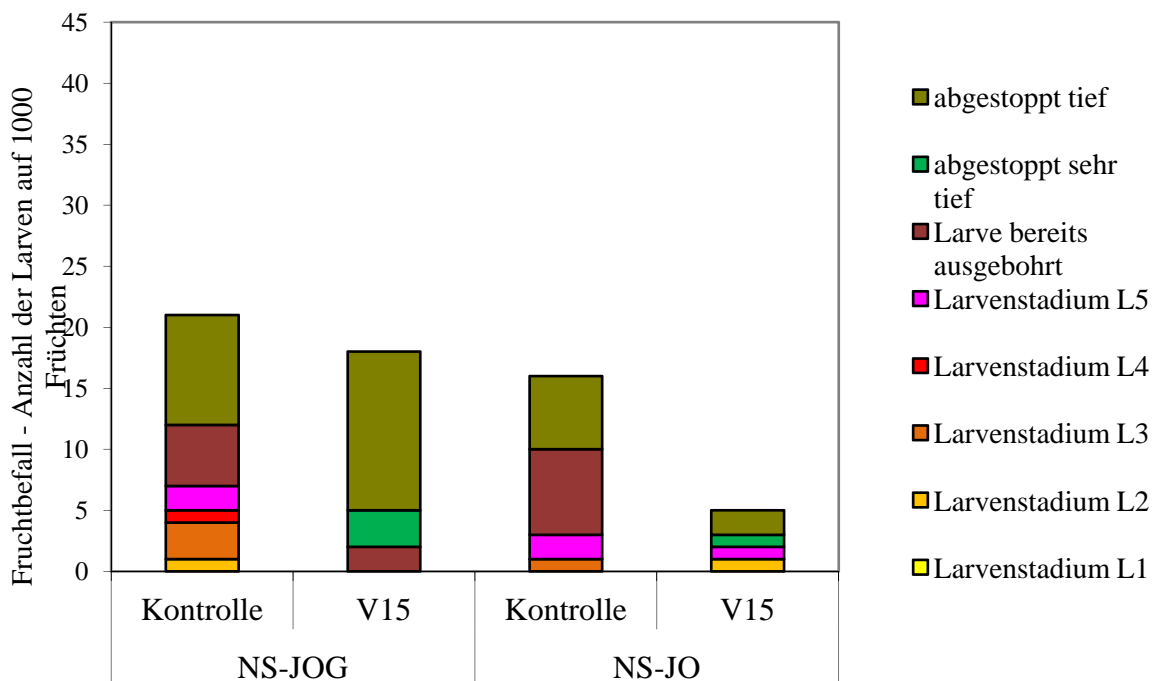


Abb. 2.7 : Fruchtbefall in den Versuchen zu CpGV-V15 an den Populationen NS-JOG und NS-JO bei einer Bonitur am 5.9.2012 am Standort Niederelbe

Sowohl bei dieser Bonitur als auch bei der Auswertung im September (Abb. 2.7) zeigte sich dort, wo höherer Befall auftrat, ein deutlicher Unterschied im aktiven Befall zwischen Kontrolle und behandelter Variante.

Am Standort NS-JOG wurden am 16.7. in der Kontrolle Wellpapperinge angebracht, um ggf. auf diese Weise noch Teile der Population abzusammeln. Gefunden wurden nur 18 Diapauselarven in 32 Wellpapperingen, allerdings auch leere 8 Puppenhülsen, die jedoch nicht eindeutig dem Apfelwickler zugeordnet werden konnten. Dies zeigt, dass sich in diesen Anlagen durchaus eine gewisse zweite Generation entwickelt hat, die aber aufgrund der ungünstigen Witterung wohl nur wenig Schaden anrichten konnte und den Zyklus nicht

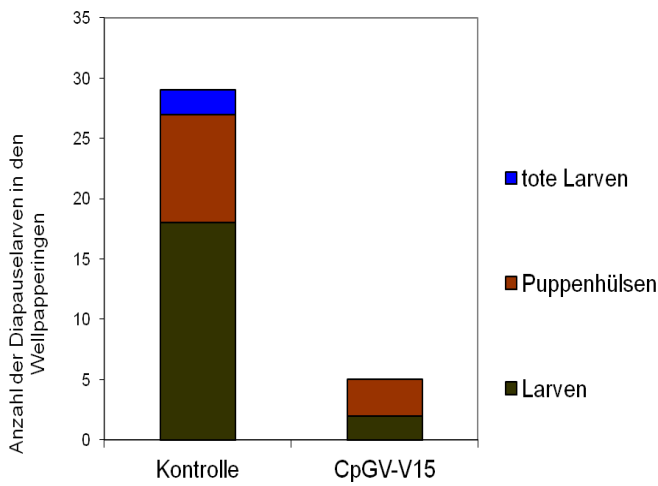


Abb. 2.9: Fänge in 32 Wellpapperingen auf dem Betrieb HH-CR.

beendet hat, d.h. aus den von den Faltern der 2. Generation gelegten Eiern konnten sich nur wenige oder keine Diapauselarven mehr entwickeln. Für eine Nutzung im Rahmen der Auswertungen des JKI war die Anzahl der Diapauselarven jedoch zu gering.

Auf dem Betrieb HH-CR wurden in den am 20.7. ausgebrachten Wellpapperingen sowohl in der behandelten als auch in der unbehandelten Parzelle Puppenhülsen gefunden, die allerdings nicht sicher dem Apfelwickler zuzuordnen waren (Abb. 2.9).

Standort Niederrhein

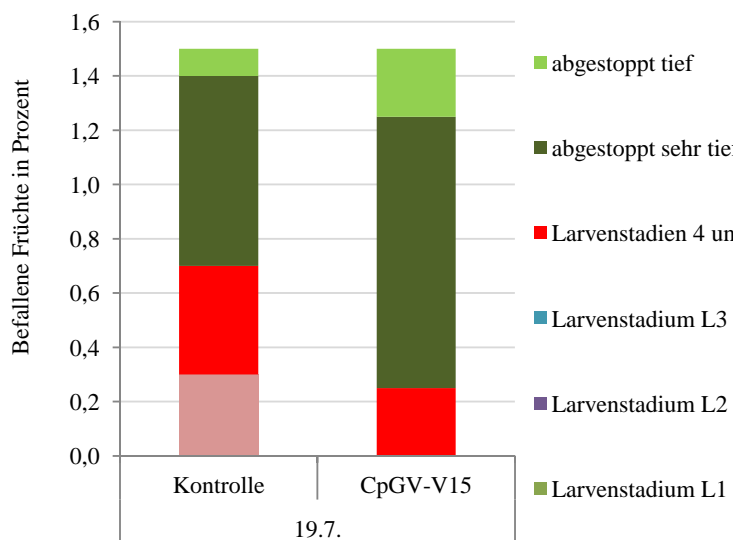


Abb. 2.10: Ergebnisse der Fruchtbontur am 19.7. auf dem Betrieb NRW-WE

Der Versuch an der Population NW-WE wurde analog zum letzten Jahr fortgeführt, um die weitere Entwicklung zu beobachten. Da der Befallsdruck wesentlich zurückgegangen war, erfolgte nur eine Bonitur der Früchte am 19.7.2012 (1.000 zufällig ausgewählte Früchte pro Variante, Abb. 2.10).

Der Befall war insgesamt sehr niedrig. In der behandelten Variante war deutlich mehr abgestoppter Befall zu finden.

Diskussion

Über alle Versuche hinweg zeigte sich auch im Jahr 2012 die gute Wirkung des CpGV-V15-Präparates an allen Populationen. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die ungünstigen klimatischen Bedingungen für die zweite Generation des Apfelwicklers wesentlich zur Reduktion der Populationen beigetragen haben, so dass der Befallsdruck insgesamt geringer war.

2.2.3 Versuche im Jahr 2013

An den Populationen NRW-WE, SL-SW, HH-CR, NS-JO-12 und NS-JOG-12 wurden die Versuche mit dem neuen Präparat CpGV-V15 fortgeführt. Ein weiterer Versuch mit diesem Präparat wurde in der Anlage RP-NS durchgeführt. Hier wurde zwar keine Resistenz beobachtet, es wurde aber visuell eine unbefriedigende Wirkung von Madex Max festgestellt, so dass das Isolat CpGV-V15 versuchsweise zum Einsatz kam.

Standort Rheinland-Pfalz

Der Großparzellenversuch zum Einsatz von dem Granulovirus CpGV-V15 wurde auch in diesem Jahr in der Anlage SA-SW durchgeführt. Hierfür stand eine Parzelle mit verschiedenen Sorten zur Verfügung (Abb. 2.11). Die CpGV-V15 Standardbehandlung (Var. 2) wurde mit einer unbehandelten Kontrolle (Var. 1) verglichen (Tab. 2.4), wobei für den Versuch nur die ersten 6 Behandlungen relevant sind. Die Wasseraufwandmenge betrug 500 l/ha und mKh (1.000 l/ha).

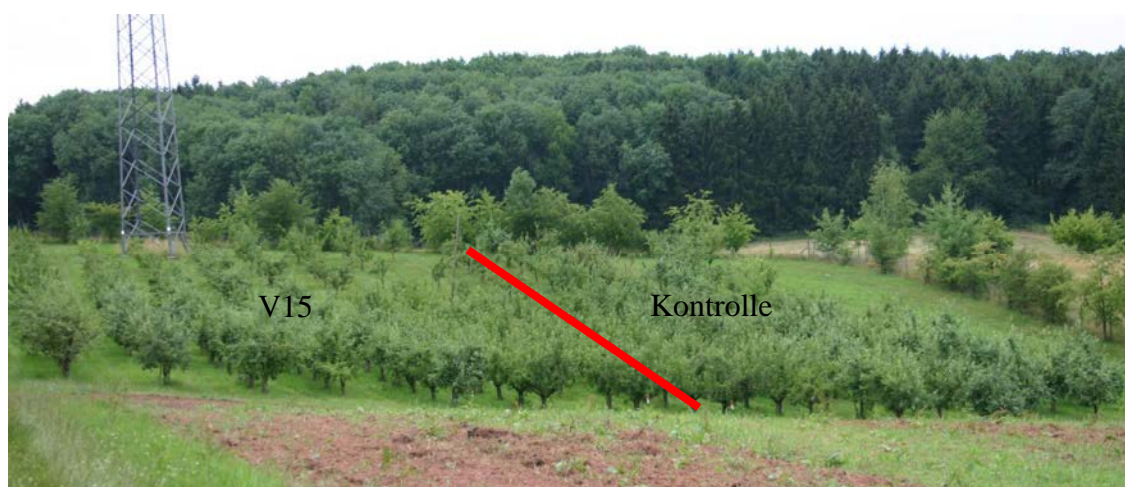


Abb. 2.11: Versuchsparzelle Apfelwickler CpGV-V15, Anlage SA-SW in 2013

Tab. 2.4: Behandlungstermine Granulovirus CpGV-V15, Anlage SA-SW 2013

Behandlungstermin CpGV-V15	Aufwandmenge pro m Kh
13.06.2013	50 ml
21.06.2013	50 ml
04.07.2013	50 ml
11.07.2013	50 ml
18.07.2013	50 ml
25.07.2013	50 ml
02.08.2013	25 ml
09.08.2013	25 ml

Die Befallsbonitur der 1. Generation erfolgte an ca. 2.000 Früchten nach dem bereits in den Vorjahren beschriebenen Verfahren am 31.07.2013.

Ein zweiter Versuche wurde in der Anlage RP-NS durchgeführt. Hierfür stand eine Parzelle mit verschiedenen Sorten zur Verfügung. Die CpGV-V15 Standardbehandlung (Var. 2) wurde mit einer unbehandelten Kontrolle (Var. 1) verglichen (Tab. 2.5).

Tab. 2.5: Behandlungstermine Granulovirus CpGV-V15, Anlage RP-NS 2013

Behandlungstermin CpGV-V15	Aufwandmenge
15.06.2013	100 ml
22.06.2013	100 ml
02.07.2013	100 ml
12.07.2013	100 ml
05.08.2013	100 ml
15.08.2013	100 ml
26.08.2013	100 ml
04.09.2013	100 ml

Die Befallsbonitur der 1. Generation erfolgte ebenfalls am 31.07.2013. Pro Variante wurden 2000 Früchte bonitiert. Befallene Äpfel wurden anschließend aufgeschnitten und auf Vorhandensein der Larven kontrolliert. Aufgrund des niedrigen Befalls in der ersten Generation erfolgte keine Auswertung der zweiten Generation.

Ergebnisse

Auf dem Betrieb SA-SW lag der Befall bei der Fruchtbonitur am 31.07.2013 in der Kontrolle bei 0,35 % und in der CpGV-V15 Variante bei 0,05 %. In der behandelten Variante wurde lediglich ein befallener Apfel gefunden.

Am Standort RP-NS wurde bei der Fruchtbonitur am 31.07.2013 sowohl in der Kontrolle wie auch in der Behandlung ein Befall von 0,89 % ermittelt. Allerdings war die Anzahl abgestoppter Fraßstellen an den Früchten in der behandelten Variante höher als in der unbehandelten Kontrolle (Abb. 2.12). Insgesamt war der Befall in der Kontrolle für eine Aussage über die Wirkung des Präparates genauso wie am Standort RP-NS in diesem Jahr zu gering.

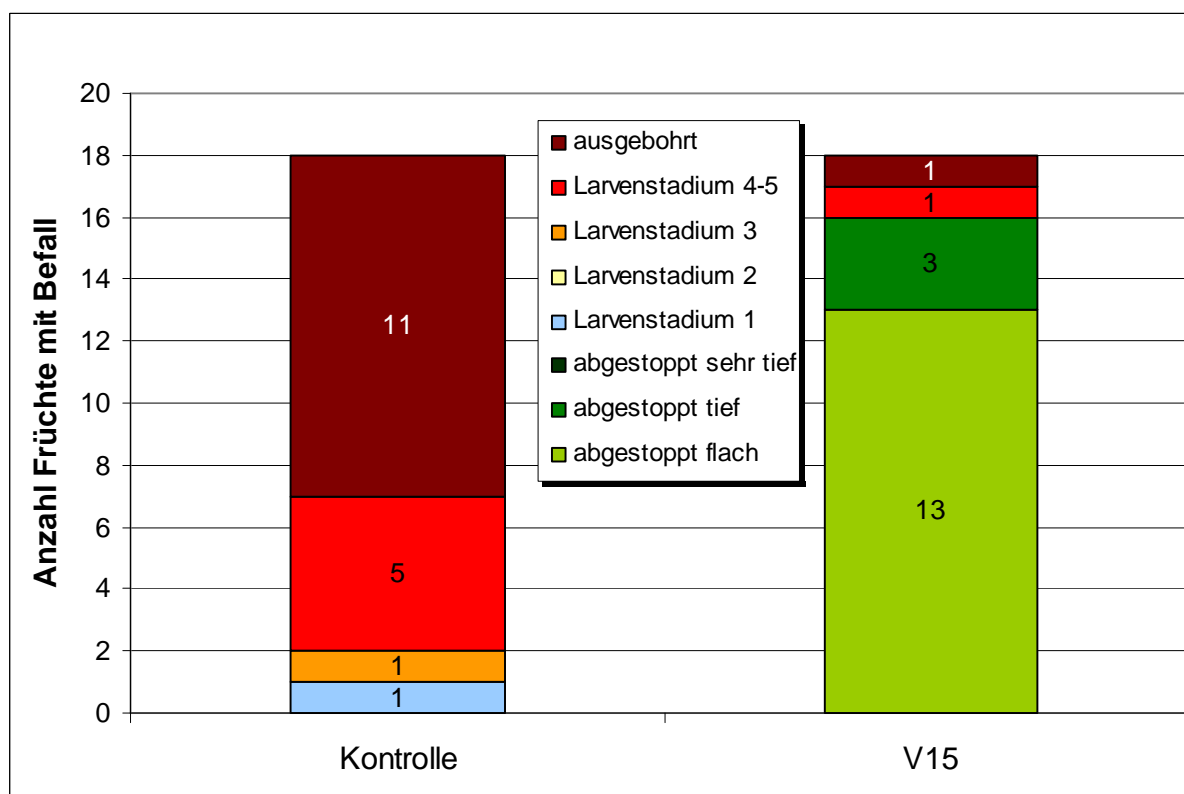


Abb. 2.12: Ergebnisse der Fruchtbonitur an 2000 Früchten am 31.7.2013 am Standort RP-NS

Standort Niederelbe

Im Versuchsjahr 2013 wurden die Praxisversuche auf drei Betrieben am Standort Niederelbe (HH-CR, NS-JO und NS-JOG) fortgeführt. In den Versuchsanlagen ist jeweils eine unbehandelte Kontrollparzelle eingerichtet worden. Die Auswertungsmethodik wurde bereits in den vorangegangenen Versuchen beschrieben.

Situation Falterflug Altes Land / Esteburg 2013

Im Jahr 2013 zeigte sich am Standort Jork ein schwacher Befallsdruck des Apfelwicklers. Zur Überwachung des Falterfluges und zur Bestimmung der Populationsgröße wurden die Fänge der Pheromonfallen regelmäßig kontrolliert und dokumentiert. Der Falterflug des Apfelwicklers begann im Jahr 2013 Anfang Juni. Der erste Flughöhepunkt der 1. Generation konnte Mitte Juni beobachtet werden, der zweite Höhepunkt zeigte sich ab Anfang Juli. Das deutliche Auftreten einer 2. Generation konnte an der Niederelbe nicht beobachtet werden. Der Falterflug (Anzahl der Falter) und die Witterung am Standort Jork in den Monaten Juni-September 2013 sind in **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden. 2.13** dargestellt.

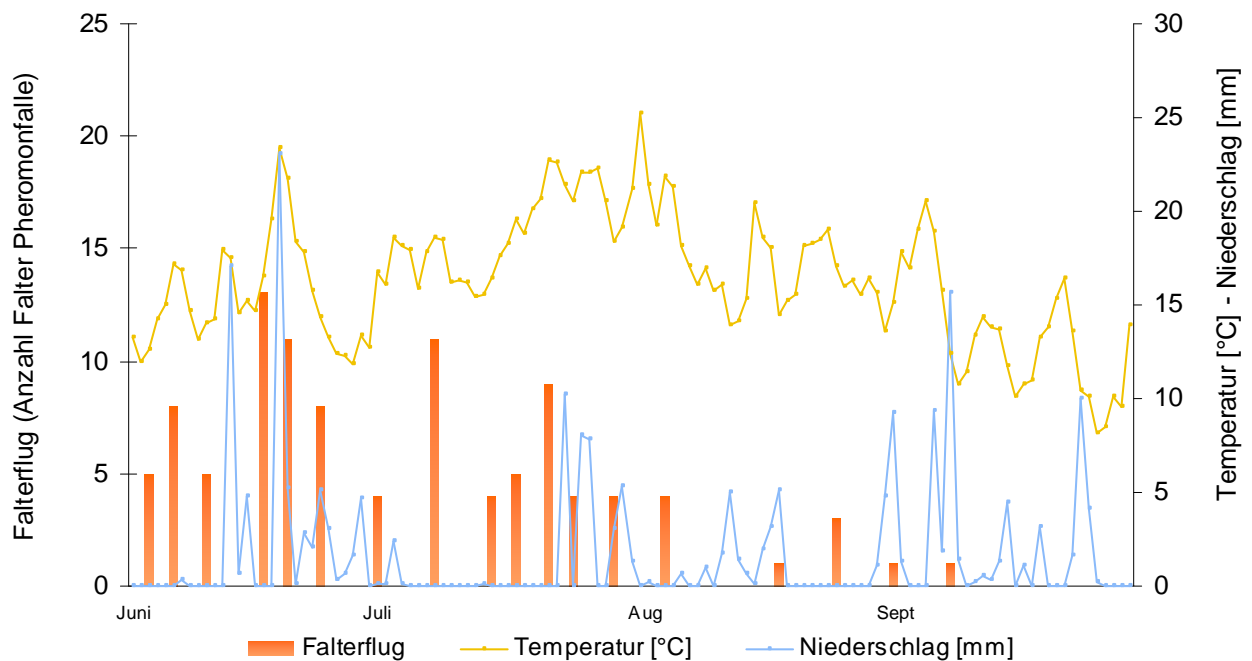


Abb. 2.13: Situation des Apfelwickler Falterfluges am Standort Jork 2013

Betrieb NS-JO

Die ökologisch bewirtschaftete Elstar-Anlage wurde vor Versuchsbeginn in zwei Großparzellenblöcke unterteilt, einer unbehandelten Kontrollparzelle und einer Parzelle in der das CpGV-Isolat V15 appliziert wurde (Tab.2.6).

Tab. 2.6: Aufwandmengen und Applikationstermine 2013, Betrieb NS-JO

Datum	Aufwandmenge [ml/ha]
29.06.	100 ml
10.07.	100 ml
17.07.	100 ml
24.07.	100 ml

Die Fruchtbonituren zum Apfelwicklerbefall wurden am 24.07., 02.08. und 11.09.2013 in den einzelnen Varianten (1000 Früchte pro Variante) durchgeführt. Insgesamt 30 Wellpappinge pro Variante wurden am 17.07. an den Bäumen befestigt, am 16.10.2013 wieder entfernt und ausgewertet.

Betrieb NS-JOG

Im Jahr 2013 wurde der Versuch in diesem Betrieb an der Sorte Boskoop durchgeführt. Die Applikation des Granulovirus erfolgte mit einem zweireihigen Tunnelsprühgerät an insgesamt fünf Terminen (Tab. 2.3: 2.7).

Zur Erhebung des Apfelwicklerbefalls wurden in der behandelten und der unbehandelten Parzelle am 24.07., 02.08. und 11.09.2013 je 1000 Früchte pro Variante bonitiert und ausgewertet. Am 17.07. wurden in der Boskoop-Anlage an 30 Bäumen Wellpappinge angebracht und zur Auswertung am 16.10.2013 wieder abgenommen.

Tab. 2.7: Aufwandmengen und Applikationstermine 2013, Betrieb NS-JOG

Datum	Aufwandmenge [ml/ha]
01.07.	100 ml
11.07.	100 ml
18.07.	100 ml
25.07.	100 ml
30.07.	100 ml

Betrieb HH-CR

Der Versuch wurde an der Sorte Jonagold ausgewertet. Die einzelnen Applikationstermine und Aufwandmengen des Jahres 2013 sind in Tab. 2.8 dargestellt.

Die Apfelwickler-Fruchtbonituren wurden am 24.07., 02.08. und 11.09.2013 in der Versuchsanlage durchgeführt. Das Anbringen der Wellpappringe (30 Ringe/Variante) erfolgte im Betrieb HH-CR ebenfalls am 17.07.2013, die Bonitur zur Erfassung der Diapauselarven wurde am 16.10.2013 durchgeführt.

Tab. 2.8: Aufwandmengen und Applikationstermine 2013, Betrieb HH-CR

Datum	Aufwandmenge [ml/ha]
02.06.	30 ml
11.06.	80 ml
15.06.	80 ml
19.06.	80 ml
22.06.	100 ml
27.06.	100 ml
03.07.	80 ml
05.07.	100 ml
10.07.	80 ml
13.07.	40 ml
20.07.	50 ml
25.07.	80 ml
31.07.	100 ml
07.08.	40 ml
16.08.	20 ml
22.08.	20 ml
28.08.	10 ml

Ergebnisse

Der Befall war insgesamt sehr gering, nur in der Kontrolle im Betrieb NS-JO wurden zu Saisonende etwas mehr befallene Früchte gefunden, die Larven waren jedoch grösstenteils bereits ausgebohrt. Der Effekt in der V15-Variante auf den aktiven Befall war hier deutlich sichtbar (Abb. 2.14).

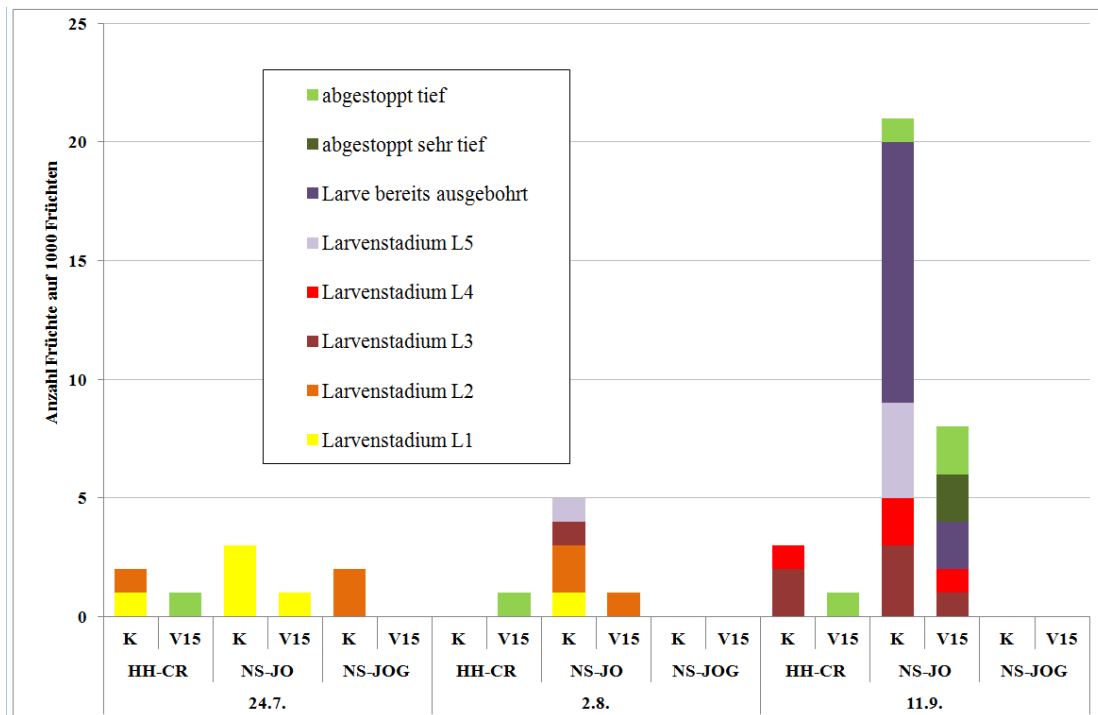


Abb. 2.14: Ergebnisse der Fruchtbonturen im Jahr 2013 in der Region Niederelbe

An diesem Standort zeigte sich ein gewisser Unterschied bei den Diapauselarven, die in den Wellpapperungen gefunden wurden (Tab. 2.9), die Zahlen waren insgesamt aber relativ gering.

Tab. 2.9: Anzahl der gefundenen Diapauselarven in jeweils 30 Wellpapperungen am Standort Niederelbe im Jahr 2013

Betrieb	HH-CR		NS-JO		NS-JOG	
Variante	Kontrolle	V15	Kontrolle	V15	Kontrolle	V15
Anzahl Diapauselarven	15	8	18	2	2	5

Standort Niederrhein

Der Versuch wurde mit demselben Versuchsdesign wie bereits 2011 und 2012 in derselben Anlage an der Sorte Santana fortgeführt. Die Termine und Aufwandmengen der CpGV-Applikationen sind in Tab. 2.10 dargestellt.

Tab. 2.10: Aufwandmengen und Applikationstermine 2013, Betrieb NRW-WE

Datum	Aufwandmenge pro ha
11.6.	100 ml
17.6.	100 ml
24.6.	100 ml
1.7.	100 ml
8.7.	100 ml
15.7.	50 ml
22.7.	50 ml
29.7.	50 ml

Aufgrund des regenreichen Sommers und des niedrigen Befallsdruck erfolgte nur kurz vor der Ernte am 30.8.2013 eine Auswertung des Fruchtbefalls.

Dabei zeigte sich auch hier ein deutlicher Effekt von CpGV-V15 auf den aktiven Befall (Abb. 2.15).

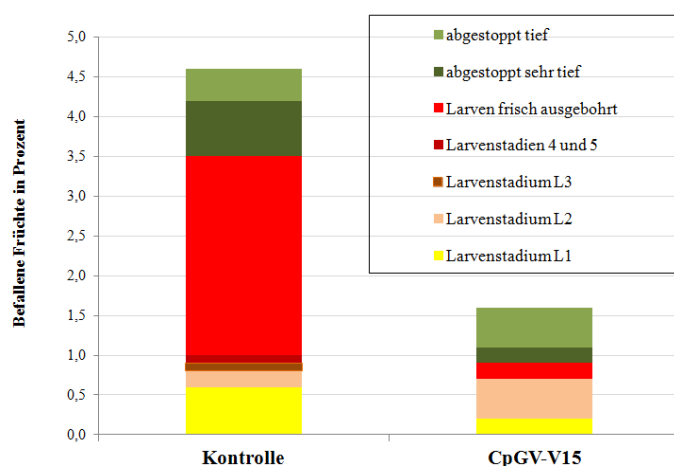


Abb. 2.15: Ergebnisse der Erntebonitur im Betrieb NRW-WE am 30.8.2013

2.2.4 Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Betriebe, bei denen eine geringere Wirkung von Madex Max im Labor nachgewiesen werden konnte, befanden sich alle in der nördlichen Hälfte von Deutschland (Niederelbe, Niederrhein). In diesen Betrieben und auf zwei Betrieben in Rheinland-Pfalz kam von 2011 bis 2013 an das CpGV-Isolat CpGV-V15 der Firma Andermatt zum Einsatz. In den Versuchsanlagen wurde gleichzeitig die Pheromon-Verwirrungsmethode ausgebracht. Ausserdem wurden in den Anlage an der Niederelbe ausserhalb der im Versuch

ausgewerteten Parzellen auch befallene Früchte abgesammelt, um den Befallsdruck zusätzlich zu reduzieren. In allen Betrieben zeigte das Isolat über den gesamten Versuchszeitraum eine gute Wirksamkeit so dass der Befall in allen Betrieben wieder auf ein niedriges Niveau zurückgeführt werden konnte, bei dem die Wirkung der Verwirrungsmethode wieder besser genutzt werden kann. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass die Witterungsbedingungen in den Jahren 2011 bis 2013 für den Aufbau der Apfelwicklerpopulationen recht ungünstig waren. Dies hat mit Sicherheit dazu beigetragen, dass die Populationen durch den Einsatz von CpGV-V15 so schnell reduziert werden konnten.

Im Betrieb NRW-WE, wo die Versuche mit sehr hohem Befall (30 – 40 % und mehr) begonnen wurden, wird das Isolat CpGV-V15 jetzt seit 4 Jahren mit Erfolg eingesetzt ohne dass es Hinweise auf erneute Probleme gibt. Die vorher eingesetzten neuen Isolate zeigten dagegen nie eine wirklich ausreichende Wirksamkeit und wurden innerhalb von 1-2 Jahren mehr oder weniger komplett unwirksam. Im Betrieb HH-CR wird das CpGV-V15 jetzt seit 3 Jahren ebenfalls mit Erfolg eingesetzt.

Dies gibt Anlass zur Hoffnung, dass dieses Isolat bei entsprechend sorgsamem Einsatz eine längerfristige Lösung für diese Betriebe darstellt. Es ist aber sehr wichtig, diesen Langzeitversuch fortzuführen und die Entwicklung weiterhin zu beobachten. Zu Projektende erfolgte ein Arbeitstreffen mit den betroffenen Betrieben an der Niederelbe, bei dem der sorgsame Einsatz des Isolats im Rahmen einer Bausteinstrategie und die Fortführung der Versuche über den ÖON e.V. diskutiert wurde.

2.3 Wirkung verschiedener neuer CpGV-Isolate auf die zweite Generation von CpGV-M resistenten und nicht resistenten Populationen des Apfelwicklers

Ziel dieser Versuche war es, den Nutzen des Einsatzes verschiedener neuer CpGV-Isolate (Madex Max, CpGV-V15) gegen die zweite Generation des Apfelwicklers in verschiedenen Anlagen mit nachgewiesener CpGV-M-Resistenz zu untersuchen. Die Versuche wurden im Jahr 2010 in Südwestdeutschland und Rheinland-Pfalz jeweils an zwei Standorten durchgeführt. Im Jahr 2011 wurden die Versuche zu diesem Thema mit den Versuchen zum Potential von *Trichogramma* kombiniert. Die Ergebnisse sind daher unter 2.5.1 dargestellt, fließen aber in die Schlussfolgerungen mit ein.

2.3.1 Versuche im Jahr 2010

Region Rheinland-Pfalz

BetriebRP-NS

Für den Versuch wurde eine Anlage mit der Sorte Arlet auf M9 quer zu den Reihen in zwei große Parzellen aufgeteilt. Während der ersten Generation erfolgten die Behandlungen gegen

den Apfelwickler einheitlich über beide Parzellen. Versehentlich kam während der ersten drei Termine am 5.6./12.6. und 18.6.2010 Madex3 anstelle von MadexMax zum Einsatz. An den folgenden Terminen 23.6., 30.6. und 7.7. 2010 wurde MadexMax eingesetzt.

Während des Schlupfs der zweiten Generation wurde nur noch in einer Parzelle am 28.7., 6.8., 13.8. und 20.8. 2010 MadexMax eingesetzt. Die andere Parzelle blieb unbehandelt. Die Aufwandmenge von MadexMax betrug bei allen Behandlungen 50 ml pro ha und m Kronenhöhe (Kh).

Am 14.7. erfolgte eine Vorbonitur des Befalls der ersten Generation an jeweils ungefähr 1.000 zufällig ausgewählten Früchten in beiden Parzellen. Zu diesem Zeitpunkt wurden auch pro Parzelle 30 Wellpapperinge angelegt, die zum Schutz vor Beschädigung durch Vögel noch mit Paketklebeband umwickelt wurden.

Die Auswertung des Fruchtbefalls erfolgte am 31.8.2010 kurz vor Erntebeginn. Dafür wurden pro Parzelle mindestens 1.000 zufällig ausgewählte Früchte ausgewertet. Befallene Früchte wurden aufgeschnitten und auf das Vorhandensein von lebenden Larven untersucht („aktiver“ Befall). Waren keine lebenden Larven zu finden und die Einbohrstelle auch offensichtlich verlassen, wurde der Befall als „abgestoppt“ und bei einer Einbohrtiefe von mehr als 1 cm als „sehr tief abgestoppt“ klassifiziert. Die einzelnen Larvenstadien wurden visuell geschätzt und vermerkt. Früchte, in denen die Kerne Fraßspuren aufwiesen aber keine Larven mehr zu finden waren, wurden als Befall mit bereits ausgebohrter Larve, d.h. ebenfalls als aktiver Befall klassifiziert. In den beiden Standorten in Rheinland-Pfalz wurden in diesem Versuchsjahr viele Früchte gefunden, bei denen die Kerne zwar leicht angefressen waren aber weder eine Larve noch das Ausbohrloch einer Larve gefunden wurde. Es kann nicht mit letzter Sicherheit ausgesagt werden, ob diese Larven überlebten oder ob sie aufgrund einer Virusinfektion sehr spät abstarben. Daher ist dieses Schadbild in einer eigenen Kategorie aufgeführt: „abgestoppt sehr spät“.

Die Wellpapperinge wurden nach der Ernte abgenommen und ausgewertet.

Betrieb SL-SA

Für diesen Versuch wurde eine Parzelle mit der Sorte Vanda auf M9 ausgewählt und quer zu den Reihen in zwei grosse Parzellen unterteilt. Am 10.6., 17.6., 25.6., 3.7., 12.7. und 20.7.2010 wurde in beiden Parzellen gegen die ersten Generation des Apfelwicklers MadexMax mit jeweils 50 ml/ha und m Kh ausgebracht. Gegen die zweite Generation wurde am 29.7., 9.8., 18.8., 27.8. und 4.9. in einer Parzelle behandelt, die andere blieb als Kontrolle unbehandelt. Die Vorbonitur des Befalls in der ersten Generation erfolgte am 15.7.2010. Zu diesem Termin wurden auch pro Parzelle 40 Wellpapperinge angelegt. Der Fruchtbefall wurde am 15.9.2010 kurz vor Erntebeginn nach demselben Verfahren wie am ersten Standort an mindestens 1.200 Früchten ausgewertet. Die Wellpapperinge wurden nach der Erntebonitur wieder abgenommen.

Region Südwestdeutschland

Betrieb BW-DE

Der Versuch wurde in einer Anlage mit der Sorte Elstar auf M9 durchgeführt. Die Anlage wurde quer zu den Reihen in vier Parzellen à mindestens 40 Bäumen eingeteilt, nur die mittleren Bäume wurden ausgewertet. Während der Schlupfperiode der ersten Generation des Apfelwicklers erfolgte eine einheitliche Behandlung mit MadexMax. Am 15.5., 19.5. und 26.5.2010 wurden jeweils 5ml pro ha und m Kh ausgebracht. Am 1.6.2010 wurden 25 ml pro ha und m Kh und am 1.6., 11.6., 17.6., 23.6., 7.7. und 16.7.2010 jeweils 50 ml pro ha und m Kh appliziert. Gegen die zweite Generation des Apfelwicklers wurden am 16.7., 22.7., 29.7., 5.8. und 13.8.2010 jeweils 50 ml pro ha und m Kh in zwei der vier Parzellen eingesetzt. Die beiden anderen Parzellen blieben unbehandelt.

Am 15.7.2010 erfolgte eine Vorbonitur an jeweils 500 Früchten pro Parzelle. Die Wellpapperinge (jeweils 10 pro Parzelle) wurden am 8.8.2010 angelegt und am 27.10.2010 abgenommen. Sie wurden bis zum 8.9.2010 nicht beerntet, so dass vorhandene Apfelwicklerlarven aus den Früchten bis zu diesem Zeitpunkt noch einwandern konnten. Vor der Ernte wurden außerdem pro Parzelle drei Bäume markiert, die nicht durchgepflückt wurden. Diese Bäume wurden am 8.9.2010 komplett abgeerntet. Bei einer anschließenden Sortierung der Früchte wurde der Apfelwicklerbefall erfasst und wie bei den vorhergehenden Versuchen beschrieben, ausgewertet.

Betrieb BW-LF

Der Versuch wurde in einer Anlage mit verschiedenen Sorten durchgeführt. Ausgewertet wurde eine Reihe mit der Sorte Idared auf M9. Die Anlage wurde quer zu den Reihen in vier Parzellen mit mindestens 30 Bäumen eingeteilt. Nur die mittleren Bäume wurden ausgewertet. Während der Schlupfperiode der ersten Generation wurden alle Parzellen einheitlich mit MadexMax behandelt. Eingesetzt wurden am 31.5. 65 ml, am 4.6. 152 ml, am 9.6. 87 ml, am 15.6. 73 ml, am 18.6. 65 ml, am 25.6. 49 ml, am 1.7. 65 ml, am 5.7. 13 ml, am 8.7. 71 ml, am 13.7. 83 ml und am 19.7. 77 ml pro ha und m Kh. Die zweite Generation wurde nur in zwei Parzellen bekämpft. Dazu wurden am 27.7., 4.8., 12.8. und 21.8. jeweils 40 ml MadexMax pro ha und m Kh ausgebracht (2,5 m Kh in dieser Anlage).

Eine Vorbonitur des Befalls der ersten Generation wurde am 15.7.2010 durchgeführt. Jeweils 12 Wellpapperinge pro Parzelle wurden am 8.8.2010 angebracht und am 27.10.2010 wieder abgenommen.

Für die Auswertung des Fruchtbefalls wurden am 8.8.2010 pro Parzelle drei ganze Bäume markiert, die nicht beerntet werden durften. Sie wurden am 13.10.2010 komplett abgeerntet und anschliessend wie im vorherigen Versuch sortiert und ausgewertet. Am 8.8.2010 erfolgte an der Sorte Elstar, die ebenfalls in den Versuch einbezogen war, eine Bonitur von ca. 500 zufällig ausgewählten Früchten pro Parzelle. Aufgrund des schlechten und ungleichmäßigen Behangs an dieser Sorte kann sie nur orientierenden Charakter haben, wird aber in den Ergebnissen trotzdem dargestellt, um die Befallssituation zu diesem Termin zu veranschaulichen. Für die Darstellung und Berechnung des Befalls werden die unvalidierten Daten aus dem Prognosemodell RimProCydia verwendet. Für die Rückrechnung des möglichen letzten Schlupfzeitpunkts der bei den Bonituren bereits abgewanderten Larven

wurde für die Larvenstadien L1-L4 der momentan in RimPro verwendete Temperatursummenwert verwendet (vom Schlupf bis Ende L4 165 Gradtage über 10°C). Für das fünfte Larvenstadium, das für seine Gesamtentwicklung 110 Gradtage (GT) benötigt, wurden nur maximal 80 GT angenommen, da die Larven ja nach dem Abwandern auch noch ihre Verstecke aufsuchen müssen, d.h., sie können schon vor Beendigung des fünften Larvenstadiums die Frucht verlassen. Dies ergibt die Summe von 245 GT von Schlupf bis Abwanderung der Larven

Ergebnisse und Diskussion

Region Rheinland-Pfalz

Der Befall der Früchte in der zweiten Generation war in dieser Anlage aufgrund eines Behandlungsfehlers mit Madex3 zu Beginn der ersten Generation recht hoch. Hier zeigten sich auch Unterschiede beim Fruchtbefall (Abb. 2.16). Rechnerisch ergab sich hier ein Wirkungsgrad nach ABBOTT der MadexMax-Behandlungen von 40,3%. Zu berücksichtigen ist hierbei, dass es sich um 4 Behandlungen mit jeweils 100 ml/ha handelte, d.h. um 400 ml insgesamt. Dies entspricht ca. Kosten von 150 bis 160 € zzgl. der Kosten für die Ausbringung.

Berücksichtigt werden muss allerdings, dass bereits bei der Bonitur der ersten Generation am 15.7.2010 Unterschiede zwischen den beiden Parzellen beobachtet wurden (Kontrolle 6,8%, behandelte Variante 5,2%) obwohl bis dahin einheitlich behandelt wurde. Insofern ist der

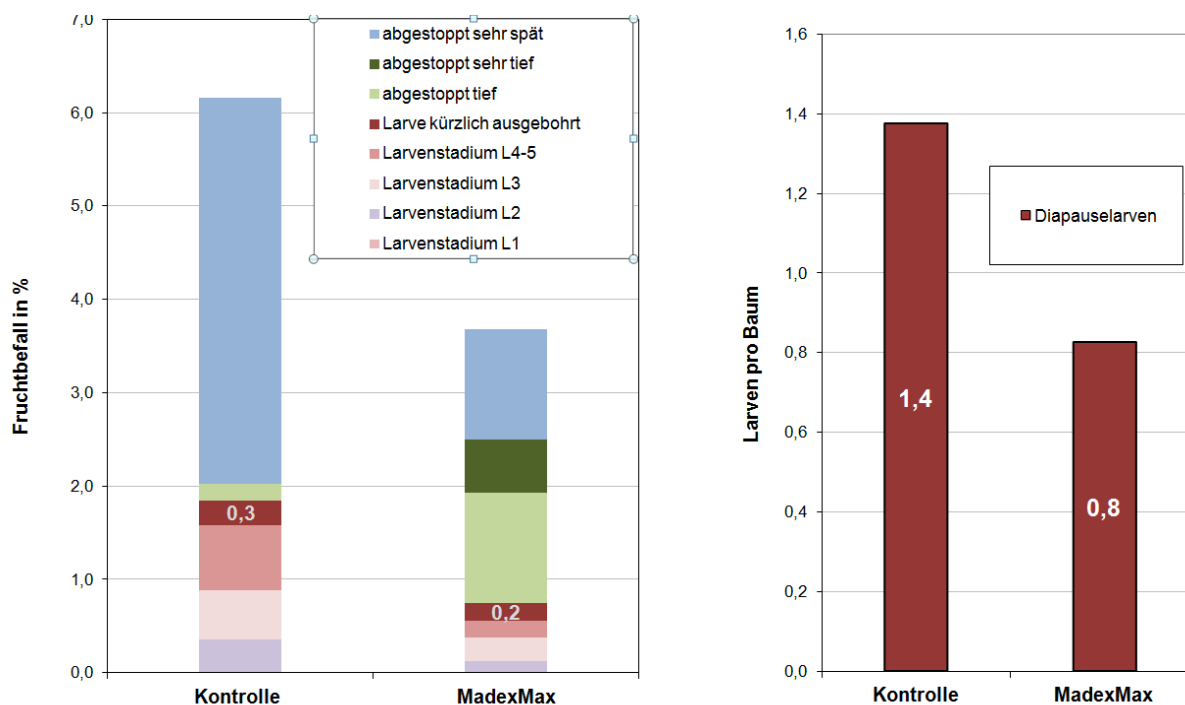


Abb. 2.16: Anzahl befallener Früchte (in Prozent) bei der Fruchtbonitur am 31.8.2010 und Anzahl der Diapauselarven pro Baum in den Wellpapperingen im Betrieb RP-NS.

Einfluss der natürlichen Schwankung, ebenfalls nach ABBOTT, mit 23,5% zu berücksichtigen, was das Ergebnis stark relativiert. Bei der Auswertung der Wirkung der Behandlung auf die Folgepopulation ist auch zu beachten, dass die Wellpapperinge bereits am 15.7.2010 angelegt wurden, obwohl noch Larven der ersten Generation in den Früchten waren. Die in den Ringen gefundenen Larven stammen also zum Teil auch noch von der ersten Generation. Der aktive Befall der Früchte wies jedoch ebenfalls Unterschiede auf (0,7% in der behandelten, 1,4% in der unbehandelten Parzelle, Wirkungsgrad 61%), so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Behandlungen mit MadexMax in der zweiten Generation sowohl auf den Fruchtbefall als auch auf die Folgepopulation einen gewissen Effekt hatten (Wirkungsgrad insgesamt 42%). Dieser ist allerdings aufgrund der vorhandenen Varianz des Vorbefalls nicht eindeutig quantifizierbar.

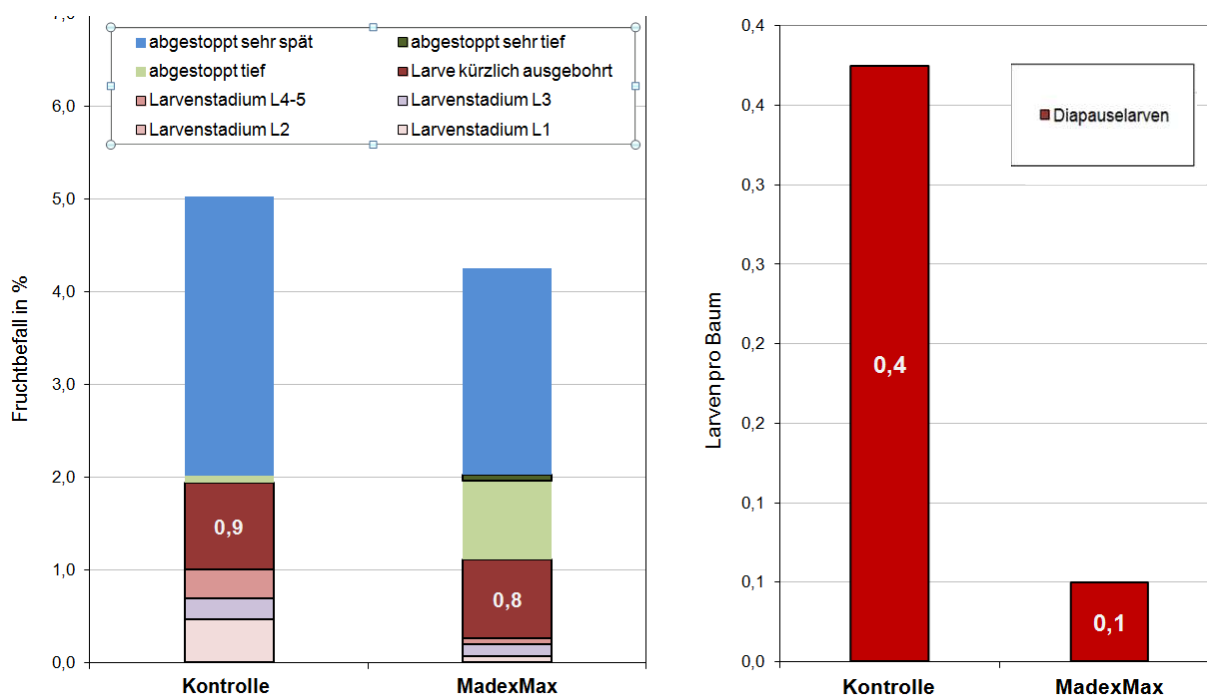


Abb. 2.17: Anzahl befallener Früchte (in Prozent) bei der Fruchtbonitur am 15.9.2010 und Anzahl der Diapauselarven pro Baum in den Wellpapperingen im Betrieb SL-SA.

Im Betrieb SL-SA war nur ein geringer Unterschied zwischen den Varianten beim Fruchtschaden festzustellen (Abb. 2.17). Auch die Anzahl der bereits ausgebohrten Larven wies nur geringe Unterschiede auf, wogegen die jüngeren Larvenstadien in der Kontrolle deutlich häufiger waren, während bei der behandelten Variante mehr abgestoppter Befall zu verzeichnen war. Überraschend deutlich war dagegen das Ergebnis der Bonitur der Wellpapperinge. Hier zeigte sich ein großer Einfluss der MadexMax Behandlungen. Da bei der Vorbonitur nur geringe Unterschiede zwischen den Parzellen festgestellt wurden, kann dies nicht nur auf bereits vorhandene Varianzen zwischen den Parzellen zurückzuführen sein, auch wenn in diesem Versuch die Wellpapperinge bereits vor dem endgültigen Abwandern der Larven der ersten Generation angelegt wurden. MadexMax hat hier also eine hohe Auswirkung auf die Folgepopulation, während der Effekt auf den Fruchtschaden zu vernachlässigen ist.

Region Südwestdeutschland

Die Bonitur des Befalls der ersten Generation im Betrieb BW-DE ergab 0,4% tief abgestoppten und 0,1% sehr tief abgestoppten Befall. Auf 1.000 Früchten wurde nur eine frisch eingebaute lebende Larve gefunden. Im Umfeld der Anlage befinden sich aber unehandelte Streuobstbäume. Die Verwirrungsmethode wird nicht eingesetzt. Bei diesem Versuch sollte daher getestet werden, inwiefern in einer solchen Situation auf die Behandlung der zweiten Generation verzichtet werden kann.

Im Jahr 2010 war die zweite Generation in dieser Region relativ spät. Erst Anfang August kam es nach dem Prognosemodell RIMProCydia zu starker Eiablage, diese Larven schlüpften erst Mitte August, der Schlupfhöhepunkt lag in der zweiten August- und der ersten Septemberhälfte (Abb. 2.18). Aus diesem Grund wurden die Bäume für die Erntebonitur bis zum 8.9. 2010 aus der Durchpflücke ausgenommen, um späteren Befall noch auswerten zu können. Bei dieser Bonitur zeigten die jeweils am Ende der Anlage gelegenen Parzellen, sowohl in der behandelten Variante als auch in der Kontrolle, einen etwas höheren Befall (Abb. 2.19). In beiden Varianten waren wenige ausgebohrte Larven zu finden. Die Rückrechnung ergab, dass Larven, die bis zum 3.8.2010 geschlüpft waren und die Frucht zur Erntebonitur auf jeden Fall bereits verlassen haben können. Zu diesem Termin war das Behandlungsregime der beiden Parzellen aber auf jeden Fall unterschiedlich. Bei einer Vorbonitur am 8.8.2010 wurden Larven aller Stadien gefunden, besonders aber solche im ersten und zweiten Larvenstadium.

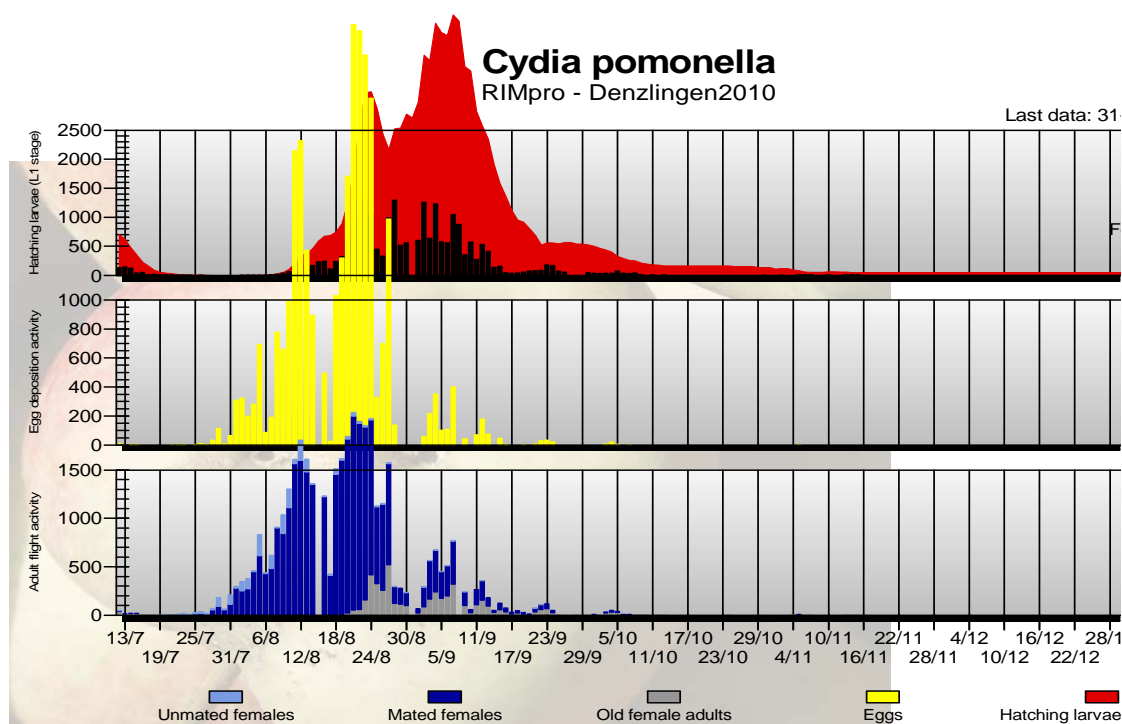


Abb. 2.18: Entwicklung der Eiablage und des Schlupfs der Apfelwicklerlarven der zweiten Generation in Denzlingen im Jahr 2011 nach dem Modell RIMProCydia.

Der Fruchtbefall und die Anzahl der Diapauselarven in den Wellpapperingen waren generell relativ gering. Nur in der am Rand der Anlage gelegenen Kontrollparzelle war die Anzahl der

Diapauselarven leicht erhöht, sonst zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede. Der restliche aktive Befall war in der Kontrolle leicht erhöht. Da diese Larven aber bei der Ernte abgesammelt wurden, spielten sie keine Rolle. Es lässt aber vermuten, dass ein gewisser Effekt von MadexMax auf den aktiven Befall noch gegeben war. Für den Fruchtschaden konnten keine Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt werden. Dabei ist aber der geringe Befallsdruck zu berücksichtigen

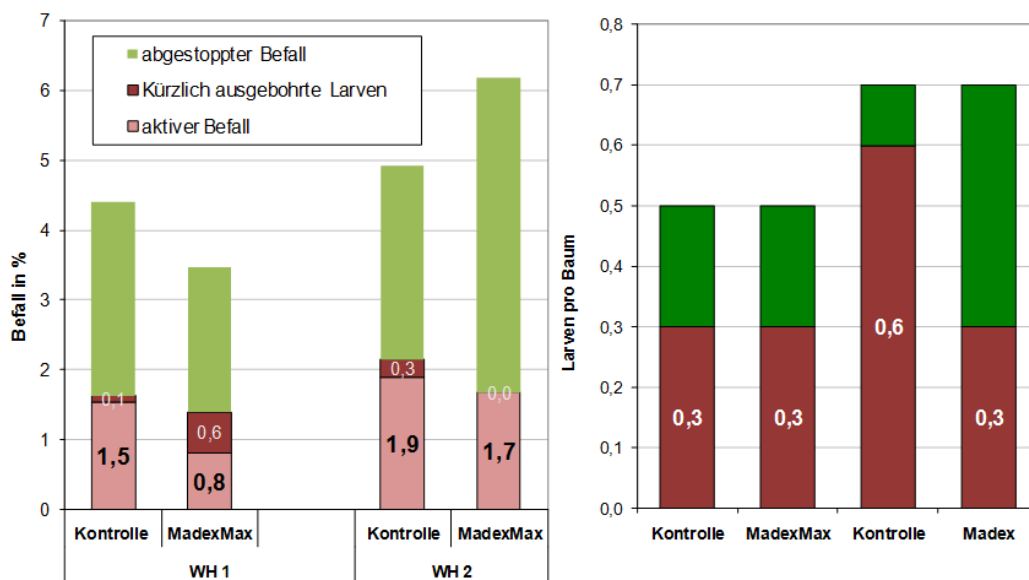


Abb. 2.19: Anzahl befallener Früchte (in Prozent) bei der Fruchtbonitur am 8.9.2010 und Anzahl der Diapauselarven pro Baum (lebende Diapauselarven dunkelrot, tote Larven grün) in den Wellpappingen im Betrieb BW-DE.

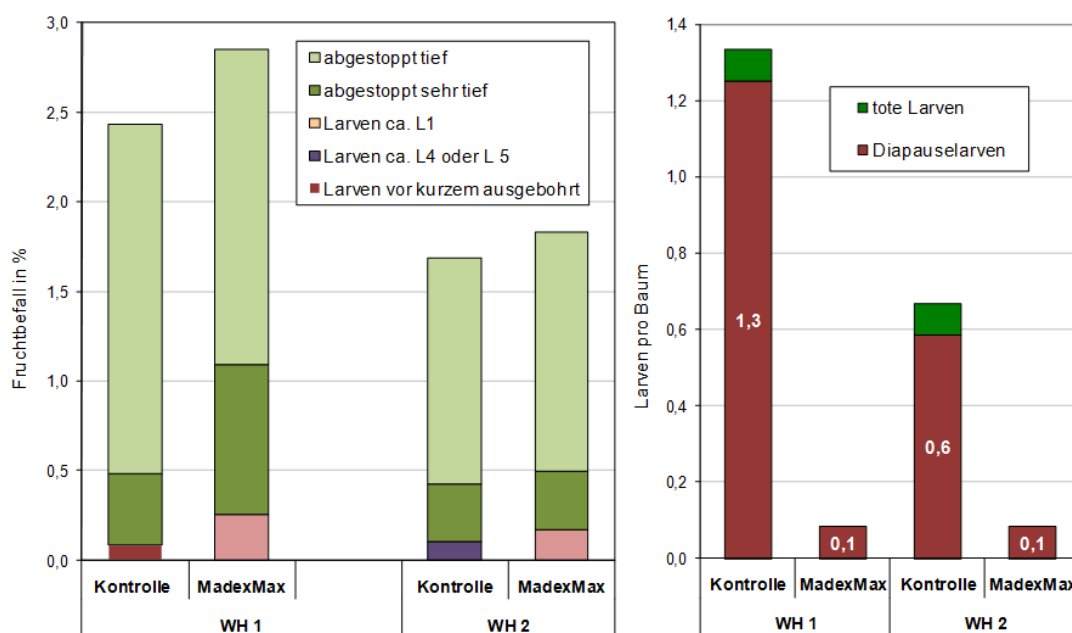


Abb. 2.20: Anzahl befallener Früchte (in Prozent) bei der Fruchtbonitur am 13.10.2010 und Anzahl der Diapauselarven pro Baum in den Wellpappingen im Betrieb BW-LF.

In der Anlage BW-LF verlief die Populationsentwicklung ähnlich der am Standort BW-DE und ist daher nicht gesondert dargestellt.

Die Bonitur der ersten Generation am 15.7.2010 ergab abgestoppten Befall und fast 1% frisch geschlüpfte Larven. Daher wurde ebenfalls kein starker Befall für die zweite Generation erwartet. Die Sorte Idared konnte sehr spät geerntet werden. Obwohl auch die Früchte am Boden gesammelt wurden, wurden kaum Früchte mit ausgebohrten Larven gefunden (Abb. 2.20). In den Wellpapperingen zeigten sich aber deutliche Unterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Parzellen. Bei einer orientierenden Bonitur am 8.8.2010 an der Sorte Elstar in der gleichen Anlage wurden aber Larven in allen Stadien gefunden. Diese wurden aber bei der späten Erntebonitur trotz sorgfältiger Kontrolle nicht mehr erfasst.

2.3.2 Diskussion und Schlussfolgerungen

Aufgrund der uneinheitlichen Ergebnisse konnte in 2010 noch kein definitives Fazit über die Wirkung der neuen CpGV-Isolate in der zweiten Generation bei CpGV-M resistenten Populationen gezogen werden. Sowohl in diesem Jahr als auch im Jahr 2011 (Ergebnisse siehe unter 2.5.1 *Trichogramma*) zeigten die CpGV-Behandlungen zwar Effekte auf die Folgepopulation aber nur relativ geringe auf den Fruchtschaden. Die Empfehlung zur Reduktion der Anzahl der Behandlungen lautet daher, dass dann auf weitere Behandlungen verzichtet werden kann, wenn nicht mehr zu erwarten ist, dass die Larven vor der Ernte noch das letzte Larvenstadium erreichen. Werden die befallenen Früchte sauber abgeerntet, tragen die darin enthaltenen Larven nicht mehr zum Aufbau der Population für das Folgejahr bei. Der Termin, ab wann das der Fall ist, kann aus dem Modell mittels Berechnung der Temperatursummen für die Larvalentwicklung und dem möglichen Erntetermin der jeweiligen Sorte abgeschätzt werden.

Die Empfehlung an die Praxis lautet allerdings auch, auf keinen Fall in der zweiten Generation auf CpGV zu verzichten, solange davon auszugehen ist, dass die Larven sich noch voll entwickeln und in Diapause gehen können bevor die Früchte abgeerntet werden.

2.4 Optimale Integration anderer verfügbarer Verfahren in die Regulierungsstrategie unter Berücksichtigung der Neuentwicklungen in der Fungizidstrategie: Potential von NeemAzal-T/S

Als weiterer Baustein für die Maßnahmendiversifizierung wurde das Potential von NeemAzal-T/S zur Reduktion des Risikos einer Resistenzbildung bei CpGV untersucht. In Fällen, wenn hohe Populationen wieder auf ein regulierbares Niveau zurückgeführt werden müssen, wäre die Kombination mit einem weiteren Präparat bei der Regulierung der ersten Generation in dieser Hinsicht sinnvoll. Da Spinosad aufgrund der Bienengefährlichkeit und der Nebenwirkungen auf systemrelevante Nützlinge (Blutlauszehrwespe, Ohrwurm) als Baustein ausscheidet, wurde getestet, inwiefern NeemAzal-T/S, bei dem Effekte auf die Larvenentwicklung beobachtet werden konnten, für einen solchen Einsatz geeignet ist.

2.4.1 Versuche zur Einbindung von NeemAzal-TS in die Strategie zur Regulierung der ersten Generation im Jahr 2011

Hierzu wurden an den Standorten Niederrhein, Altes Land und Rheinland-Pfalz Versuche durchgeführt. Dabei wurden Anlagen mit relativ hohen Populationsdichten in der ersten Generation ein- oder zweimal mit NeemAzal-T/S behandelt, um die „Spitze zu brechen“. Der Versuch wurde im Alten Land parallel in Kombination mit CpGV und als Einzelbehandlung angelegt, am Niederrhein und in Rheinland-Pfalz nur in Kombination mit CpGV.

Material und Methoden

Standort Niederrhein

Der Versuch wurde in zwei Anlagen (Sorten Topaz und Pinova) als randomisierte Blockanlage mit jeweils 4 Wiederholungen aufgebaut. Die Applikation erfolgte einmalig mit 1,5 L/ha und m Kh NeemAzal-T/S als Tropfnass-Spritzung mit einer Motor-Rückenspritze der Marke Solo.

Die Spritzung erfolgte am 24.5.2012 zu Beginn der ersten größeren Schlupfperiode (Abb. 2.21). Die Behandlungen mit CpGV-V15, einem neuen CpGV-Isolat, begannen dagegen bereits am 12.5.2012 und wurden im Wochenabstand fortgeführt. Außerdem wurde vom Betrieb noch eine kleinere Parzelle mit der Sorte Topaz mit praxisüblichem Spritzgerät zur Hälfte behandelt. Hier erfolgten zwei Spritzungen mit jeweils 1,5 l pro m Kh am 26.5. und 15.6.2011.

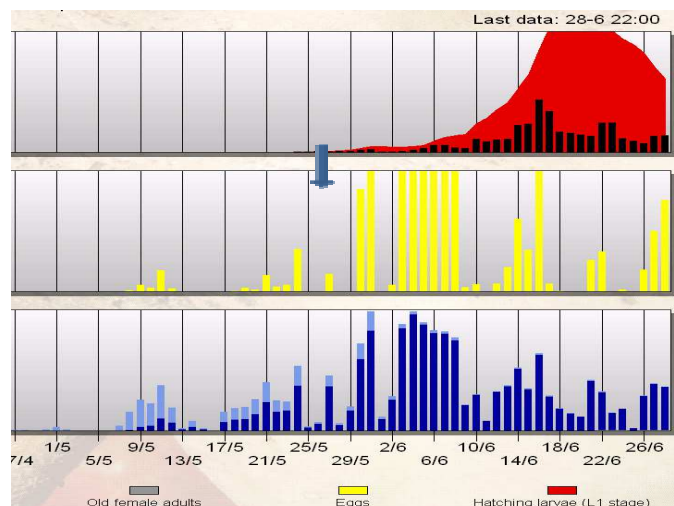


Abb. 2.21: Schlupfverlauf nach dem Modell RimProCydia und erster Spritztermin (Pfeil) am Standort Niederrhein

Es wurde von einer ungefähren „Wirkungsdauer“ des Präparats von ungefähr 3 Wochen ausgegangen. Die Fruchtbonitur erfolgte am 28.6.2012 bevor erste Larven, die NeemAzal-T/S aufgenommen haben könnten, abwandern konnten. Da der Behang nicht immer gleichmässig war, wurden pro Parzelle 12 (Pinova) bzw. 14 (Topaz) Bäume komplett ausgewertet. Die

Anzahl der pro Variante ausgewerteten Früchte war in allen Parzellen größer als 1.000. Bei den Ergebnissen wird jedoch die Anzahl Früchte pro Baum dargestellt, um dem teilweise ungleichmässigen Behang Rechnung zu tragen. In der vom Betrieb behandelten Parzelle (Blockversuch) erfolgte eine Bonitur von jeweils 1000 Früchten pro Parzelle.

Befallene Früchte wurden aufgeschnitten und auf das Vorhandensein von lebenden Larven untersucht („aktiver“ Befall). Waren keine lebenden Larven zu finden und die Einbohrstelle auch offensichtlich verlassen, wurde der Befall als „abgestoppt“ klassifiziert (Einbohrstelle tiefer als 1 cm als „sehr tief abgestoppt“). Die einzelnen Larvenstadien wurden visuell geschätzt und vermerkt. Früchte, in denen die Kerne Fraßspuren aufwiesen aber keine Larven mehr zu finden waren, wurden als Befall mit bereits ausgebohrter Larve klassifiziert, d.h. ebenfalls als aktiver Befall. Auch in diesem Versuchsjahr wurden wieder Früchte gefunden, bei denen die Kerne zwar leicht angefressen waren aber weder eine Larve noch das Ausbohrloch einer Larve gefunden wurde. Es kann nicht mit letzter Sicherheit ausgesagt werden, ob diese Larven überlebten oder ob sie aufgrund einer Virusinfektion sehr spät abstarben. Daher ist dieses Schadbild als eigene Kategorie „abgestoppt sehr spät“ aufgeführt:

Am 28.6.2012 wurden auch an jeweils 10 Bäumen pro Parzelle, im Blockversuch jeweils an 40 Bäumen pro Parzelle, d.h. in allen Versuchen an 40 Bäumen pro Variante Wellpapperinge angebracht. Diese wurden am 14.7.2011 wieder entfernt, so dass nur Larven einwandern konnten, die von der NeemAzal-Behandlung erfasst wurden.

Standort Rheinland-Pfalz

Die Versuche zur Bekämpfung des Apfelwicklers der ersten Generation mittels NeemAzal-T/S wurden in der Sorte Melrose in der ökologisch bewirtschafteten Apfelanlage angelegt. Tab. 2.11 gibt einen Überblick über die Versuchsvarianten und Applikationstermine.

Tab. 2.11: Übersicht über die Varianten und Behandlungstermin im Versuch in Rheinland-Pfalz

Nr.	Variante	Aufwandmenge	Behandlungstermine
1	Kontrolle	---	---
2	NeemAzal-T/S zum Schlupfhöhepunkt der 1. Generation	(1,5 l/ha u. mKh)	20.05.2011
3	2 x NeemAzal-T/S Schlupfhöhepunkt der 1. Generation + zweite Behandlung 3-4 Wochen später zum erneuten Schlupfhöhepunkt	(1,5 l/ha u. mKh)	20.05.2011 17.06.2011
4	NeemAzal-T/S Behandlung 3-4 Wochen nach Schlupfhöhepunkt 1. Generation	(1,5 l/ha u. mKh)	17.06.2011

Insgesamt standen für den Versuch drei Blöcke mit jeweils vier Reihen zur Verfügung. Jeder Block entsprach einer Wiederholung, so dass die Varianten insgesamt dreimal wiederholt wurden (Abb. 2.23). Die jeweils nebeneinander liegenden Reihen wurden gleich behandelt. Eine Reihe diente dabei immer zur Auswertung und in der anderen wurden Wellpapperinge angebracht (Abb. 2.24).

	Wdh. 1			Wdh. 2			Wdh. 3			
Reihe 4		4			4			4		Bonitur
Reihe 3		4			4			4		Wellpappe
Reihe 2	1	2	3	2	3	1	3	1	2	Wellpappe
Reihe 1	1	2	3	2	3	1	3	1	2	Bonitur

Abb. 2.22: Lage der Varianten im Versuch zur Wirkung vonNeemAzal-T/S



Abb. 2.23: Versuchsparzelle im Versuch Rheinland-Pfalz

Neben den Versuchsapplikationen fanden in der gesamten Parzelle während der Versuchsdurchführung 14 Behandlungen mit dem neuen CpGV-Isolat CpGV-V 15 statt (Tab. 2.12). Die Wasseraufwandmenge betrug 500 l/ha u. mKh (1000 l/ha).

Die Befallsbonitur der 1. Generation erfolgte am 30.06.2011. Pro Wiederholung wurden in jeder Variante fünf ganze Bäume bonitiert (insgesamt 15 Bäume pro Variante). Befallene Äpfel wurden anschließend aufgeschnitten und wie in den anderen Versuchen auf lebende Larven kontrolliert. Zum Zeitpunkt der Bonitur am 30.06.2011 erfolgte gleichzeitig die Anbringung der Wellpapperinge. Diese verblieben bis zum 20.07.2011 in der Anlage und wurden anschließend auf Vorkommen von Apfelwicklerlarven kontrolliert.

Tab. 2.12: Applikationstermine von CpGV-V15 im Versuch Rheinland

	Datum	Aufwandmenge
1	11.05.	100 ml
2	20.05.	100 ml
3	27/28.05.	100 ml
4	03/04.06.	100 ml
5	10.06.	100 ml
6	17.06.	100 ml
7	27.06.	100 ml
8	06.07.	100 ml
9	14.07.	100 ml
10	22.07	100 ml
11	30.07	50 ml
12	06.08	50 ml
13	13.08	50 ml
14	22.08	50 ml

Standort Niederelbe

Am Standort Niederelbe wurde eine stark befallene Anlage mit der Sorte Jonagold in zwei Blöcke unterteilt. Ein Block wurde mit CpGV-V 15 behandelt (50 ml/ha und m Kh ca. im Wochenabstand), ein Block blieb unbehandelt.

In beiden Blöcken wurde ein Teil der Reihen mit NeemAzal-T/S ein- bzw. zweimal behandelt, ein Teil blieb als Kontrolle unbehandelt. Behandelt wurde mit praxisüblichem Spritzgerät. Die Varianten und Termine sind in Tab. 2.3. dargestellt. Bei der Bonitur wurden die Früchte wie an den anderen Standorten aufgeschnitten und die Larvenstadien visuell bestimmt.

Tab. 2.13: Übersicht über die Varianten und Termine im Versuch am Standort Niederelbe

Parameter	NeemAzal-T/S 1,5 l/ ha und m Kh	NeemAzal-T/S 1,5 L/ha und m Kh und CpGV-V15	CpGV-V15
Anzahl Bäume/ Fruchtbonitur	5 / Wiederholung	5 / Wiederholung	20 / Variante
Anzahl Bäume/ Wellpappinge	8 / Wiederholung	8 / Wiederholung	32 / Variante
Varianten im Versuch	Kontrolle Variante 1: NeemAzal-T/S 1,5l/ha (zum ersten Schlupfhöhepunkt der 1. Generation) Variante 2: 1. Behandlung – wie Variante 1 2. Behandlung – ca. 3-4 Wochen später, zum erneuten Schlupfhöhepunkt	Kontrolle Variante 1: NeemAzal-T/S 1,5l/ha (zum ersten Schlupfhöhepunkt der 1. Generation) Variante 2: 1. Behandlung – wie Variante 1 2. Behandlung – ca. 3-4 Wochen später, zum erneuten Schlupfhöhepunkt	Kontrolle CpGV-V15
Wiederholungen	4 je Variante	4 je Variante	keine
Applikations- termine	25.5. und 11.6.2011	25.5. und 11.6.2011 für NeemAzal, Wochenabstand ab Schlupfbeginn für CpGV mit jeweils 100 ml/ha	
Auswertung	Jeweils 250 Früchte / Wiederholung (1000 / Variante)	Jeweils 250 Früchte / Wiederholung (1000 / Variante)	1000 / Variante
Bonitur – Früchte	7.07. bzw. 25.07.2011	7.07. bzw. 25.07.2011	7.07. bzw. 25.07.2011
Bonitur - Wellpappe	15.09.2011	15.09.2011	15.09.2011

Ergebnisse

Standort Niederrhein

Bei der Fruchtbonitur zeigte sich bei beiden Sorten ein leichter Unterschied zwischen behandelter Variante und der Kontrolle. Dieser war vor allem auf eine geringere Zahl an Larven in den letzten Larvenstadien (L4, L5) zurückzuführen (Abb. 2.24).

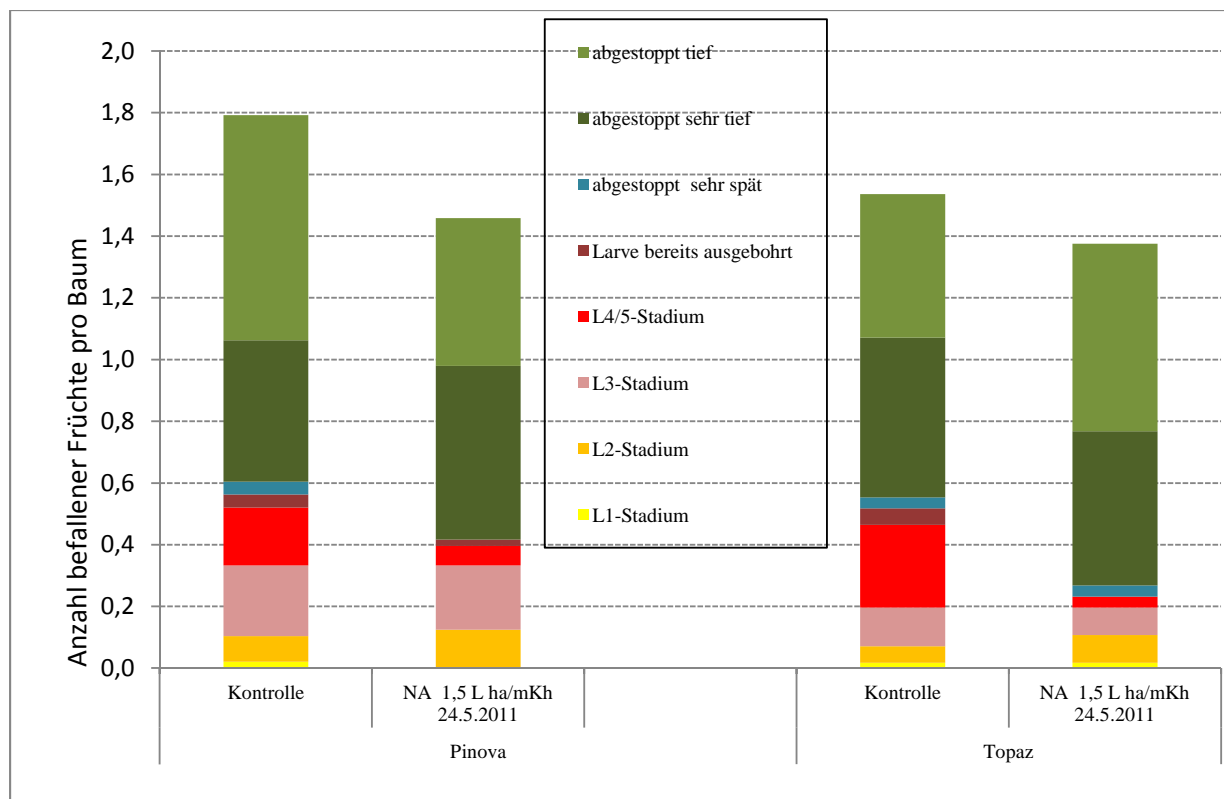
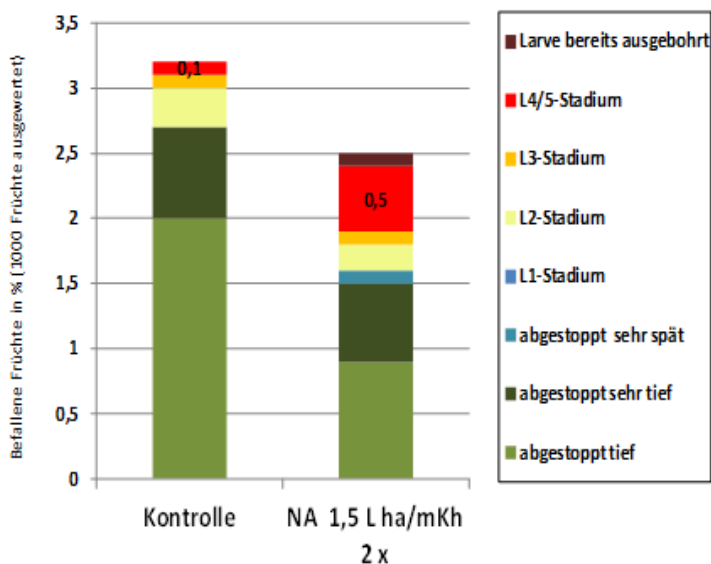


Abb. 2.24: Ergebnisse der Fruchtbonitur vom 28.6.2011 an den Sorten Topaz und Pinova am Standort Niederrhein



Auch im Blockversuch mit der zweimaligen Behandlung zeigte sich dieselbe Tendenz: ältere Larvenstadien waren weniger vertreten (Abb. 2.25).

In den Wellpapperingen wurden insgesamt relativ wenige Larven gefunden. Die Ergebnisse waren im Gegensatz zur Fruchtbonitur sehr uneinheitlich (Tab. 2.14).

Abb. 2.25: Ergebnisse der Fruchtbonitur im Blockversuch an der Sorte Topaz

Tab. 2.14: Ergebnisse der Auswertung der Wellpapperinge (jeweils 40) in den drei Versuchen zur Wirkung von NeemAzal-T/S am Standort Niederrhein: Anzahl Diapause-larven und Puppen aus jeweils 40 Wellpapperingen pro Variante.

Versuch	Variante	Diapause-larven	Puppen	Gesamtzahl lebende Apfelwickler
Pinova	Kontrolle	6	0	6
	NeemAzal	2	1	3
Topaz	Kontrolle	3	0	3
	NeemAzal	4	0	4
Topaz Blockversuch	Kontrolle	0	0	0
	NeemAzal	0	0	0

Standort Rheinland-Pfalz

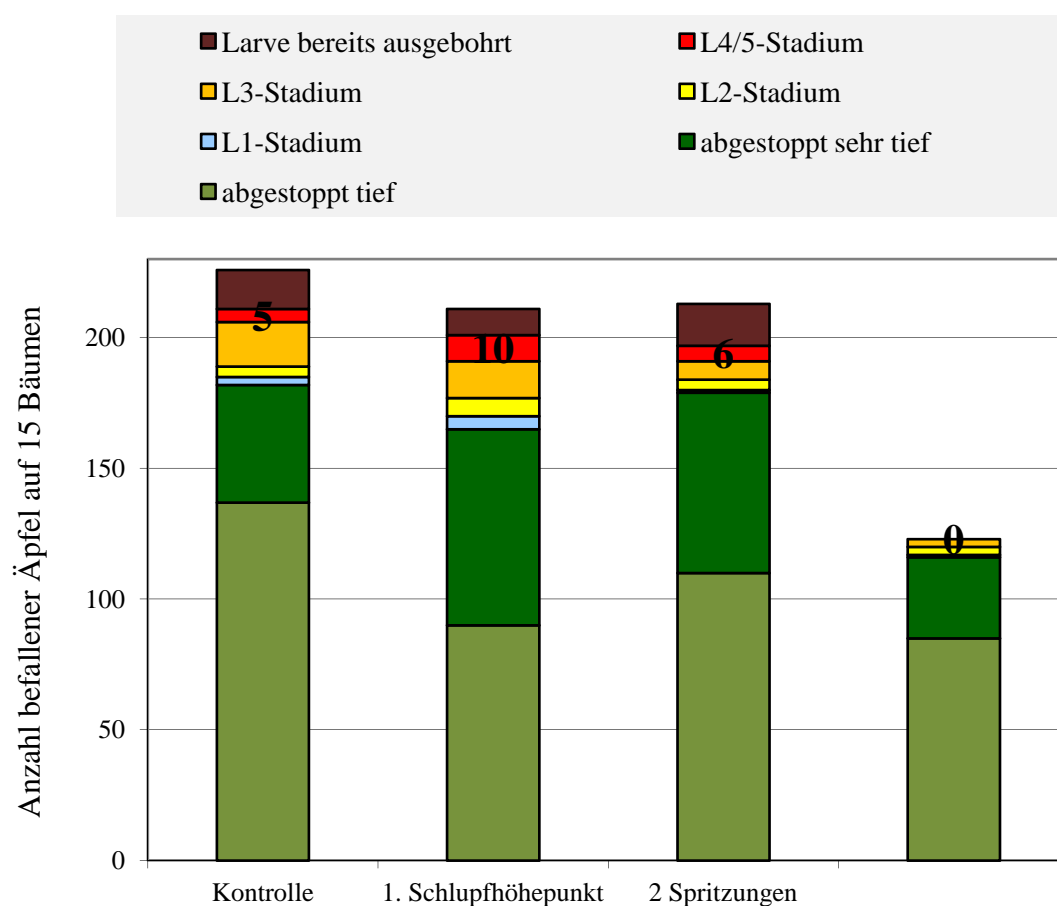


Abb. 2.26: Ergebnisse der Fruchtbonitur bei den verschiedenen Spritzungen mit NeemAzal-T/S 1,5 l/ha und m Kh am Standort Rheinland-Pfalz (Die Anzahl der Larven im 4. Larvenstadium sind auch als Zahlen sichtbar).

Am Standort Rheinland-Pfalz zeigte sich bei der Fruchtbonitur ein etwas anderes Bild: Der Befall in der Kontrolle war nur leicht höher als in zwei NeemAzal-Varianten. Bei der Anzahl der älteren Larven zeigte sich ein eher negatives Ergebnis. Das positivere Ergebnis bei der Spätbehandlung dürfte eher auf den Lageeffekt als auf die Spritzung zurückzuführen sein, da sich bei der Doppelbehandlung der Effekt nicht zeigte (Abb. 2.26).

In den Wellpapperingen wurde in der Kontrolle eine tote Larve gefunden. In den Parzelle, die mit NeemAzal früh oder spät einmal behandelt wurden, fanden sich gar keine Larven. In der zweimal behandelten Variante wurden 4 Puppenhülsen, 1 Puppe und 2 Larven gefunden.

Standort Niederelbe

Die Versuchsanlage wies generell einen relativ hohen Befall auf. In den mit CpGV-V 15 behandelten Varianten wurden kaum lebende Larven gefunden. Die letzten Larvenstadien waren zwar bei den mit NeemAzal-T/S behandelten Varianten etwas weniger vertreten, die Anzahl war aber zu gering, um Aussagen zu erlauben (Abb. 2.27).

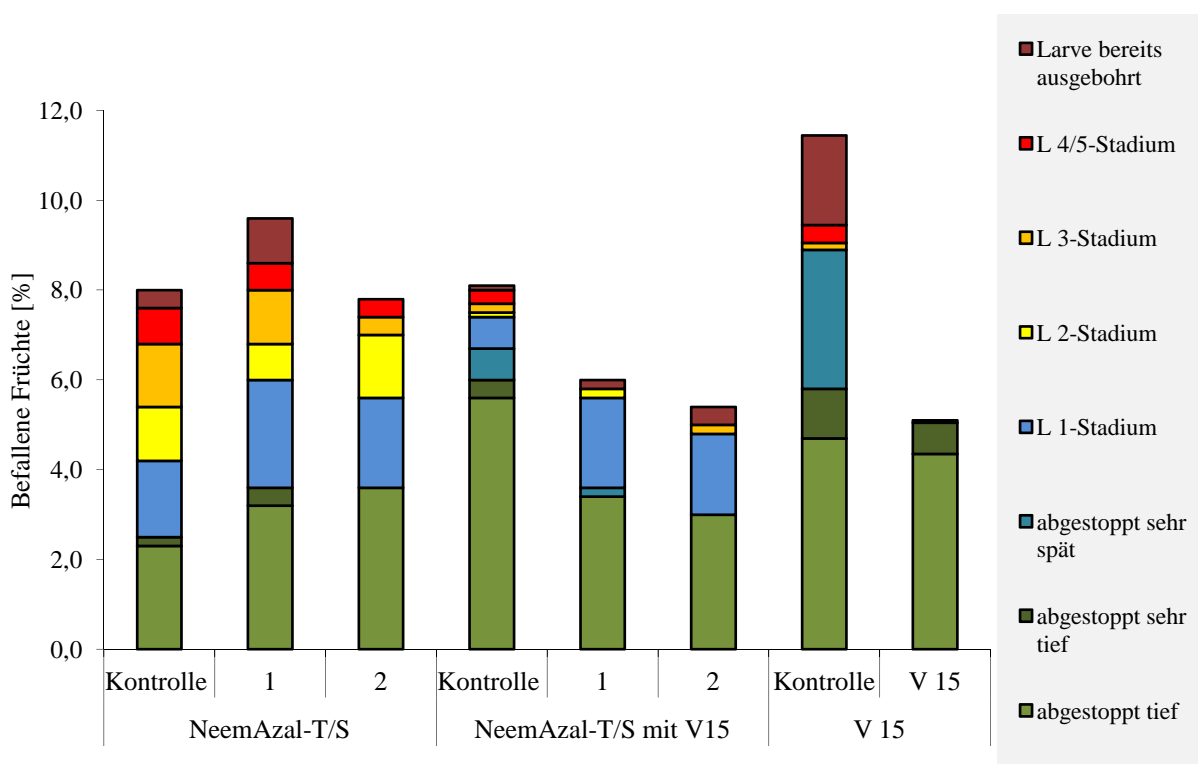


Abb. 2.27: Ergebnisse der Fruchtbonitur am Standort Niederelbe.

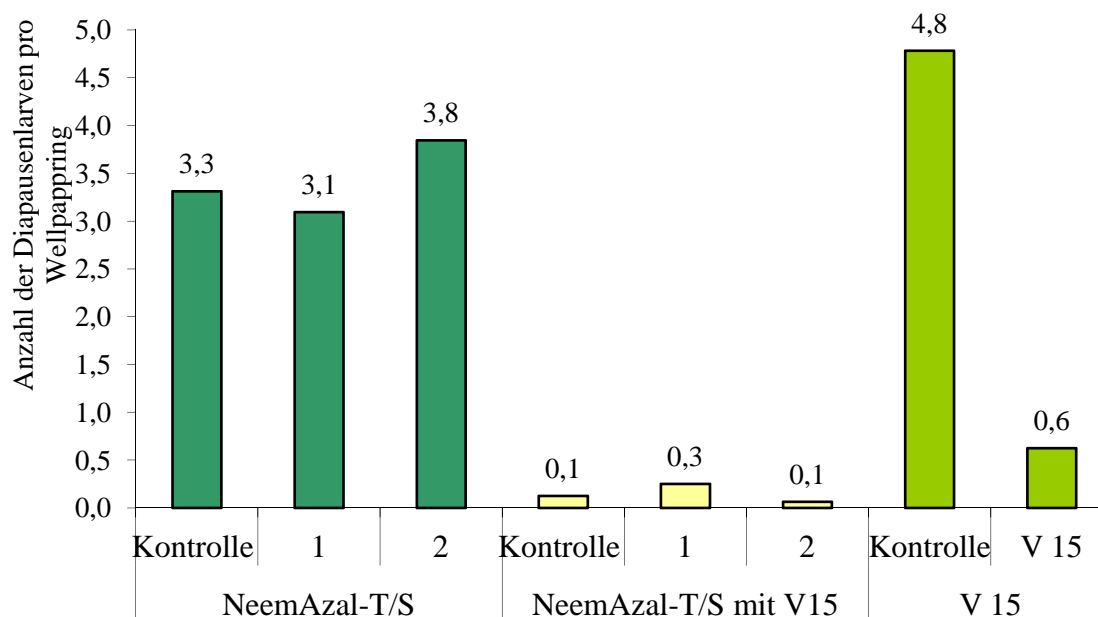


Abb. 2.28: Ergebnisse der Auswertung der Wellpapperinge am Standort Niederelbe

In der nicht mit CpGV behandelten Variante waren keine Unterschiede der NeemAzal-Varianten zur unbehandelten Kontrolle ersichtlich. Die Auswertung der Wellpapperinge zeigte eine sehr gute Wirkung des CpGV-V 15 Präparates aber keine Effekte der NeemAzal-Varianten (Abb. 2.28).

Diskussion

Die Ergebnisse zeigten ein uneinheitliches Bild wie schon die Versuche zuvor (Benduhn et al., 2007, Kienzle et al., 2011). Insgesamt gibt es in der Summe der bisher vorliegenden Versuche zwar einige Hinweise darauf, dass Behandlungen mit NeemAzal den Befall oder die Population reduzieren können, die Ergebnisse sind aber meist nicht wiederholbar. Daher kann im Moment nicht davon ausgegangen werden, dass eine Kombination von NeemAzal-T/S und CpGV tatsächlich die Anzahl der überlebenden Larven so stark verringern kann, dass ein Einsatz des Präparates bei einem vorbeugenden Resistenzmanagement sinnvoll sein könnte. Daher wurde am Projekttreffen beschlossen, dass im Jahr 2012 keine Freilandversuche mehr erfolgen sollten. Die potentiellen Effekte von NeemAzal, die einige Ergebnisse vermuten lassen, sollten dagegen in Labor- oder Halbfreilandversuchen abgeklärt werden, wo sie besser eingegrenzt werden können.

2.4.2 Laborversuche zur Wirkung von NeemAzal-T/S im Jahr 2012

Da die Freilandversuche uneinheitliche, schwer interpretierbare Ergebnisse erbrachten, sollte das Potential der Wirkung von NeemAzal-T/S gegen Apfelwickler im Labor abgeschätzt werden. Dabei wurde sowohl eine potentielle Wirkung auf Larven als auch ein Effekt auf die Eiablage oder die Eientwicklung untersucht.

Bei den Versuchen zur **Wirkung auf Larven** wurden an der Universität Hohenheim Früchte in 0,3 %ige Lösung von NeemAzal-T/S und auch der Leerformulierung (ohne Wirkstoff) getaucht und anschliessend 5 L1-Larven des Apfelwicklers aufgesetzt, deren Entwicklung bis zur Verpuppung erfaßt wurde. Nur wenige Larven erreichten in der Kontrolle das Puppenstadium. Die Mortalität in der Kontrolle betrug weit mehr als 30 %, so dass auch hier keine verlässlichen Aussagen gemacht werden konnten.

Die **Versuche zur Eiablage und zur Entwicklung der Eier** wurden an reifen Früchten der Sorte Idared durchgeführt. Am 30.11. 2012 wurden jeweils 36 Früchte in 0,3 % NeemAzal-T/S, in die Formulierungshilfe T/S forte und in Wasser (Kontrolle) getaucht, an Wäscheklammern zum Trocknen aufgehängt, markiert und bei ca. 15 °C einzeln ohne Fruchtberührung gelagert. Da die von Fa. Andermatt gelieferten Apfelwicklerpuppen wesentlich länger zum Schlupf brauchten als veranschlagt wurde der Versuch erst am 9.12. 2012 fortgesetzt. Die Temperatur betrug 20 °C bei Langtagbedingungen.

Tab. 2.15 : Verweildauer der Früchte in den Zuchtzylindern bei den verschiedenen Terminen

Zuchtzylinder Nr.	1	2	3	4
Termin 1	9.-10.12.	10.-11.12.	10.-11.12.	10.-11.12.
Termin 2	10.-12.12.	11.-12.12.	11.-12.12.	11.-12.12.
Termin 3	12.12.-16.12.	12.12.-16.12.	12.12.-16.12.	12.12.-16.12.

In jeden von vier großen Zuchtzylindern wurden zwei Apfelwicklerpaare noch im Puppenstadium eingebracht. Sobald die Tiere geschlüpft waren und mit der Eiablage begonnen hatten, wurden pro Zylinder jeweils drei Früchte pro Variante randomisiert eingelegt. Sie durften sich nicht berühren (Abb. 2.31). Das Einbringen der Früchte erfolgte zu drei Terminen (Tab. 2.15). Beim dritten Termin verblieben die Früchte am längsten im Zuchtzylinder um eine ausreichende Eiablage zu erreichen.



Abb. 2.31 : Einlegen der Apfelwicklerpuppen in den Eiablagezylinder (links) und Exposition der Früchte zur Eiablage (rechts)

Die Früchte wurden anschliessend bei 20 °C bis zum Schlupf der Larven gelagert. Die Bonitur der Eiablage erfolgte am 17.12.2012. Der Larvenschlupf aus den Eiern wurde am 25.12.2012 ausgewertet.

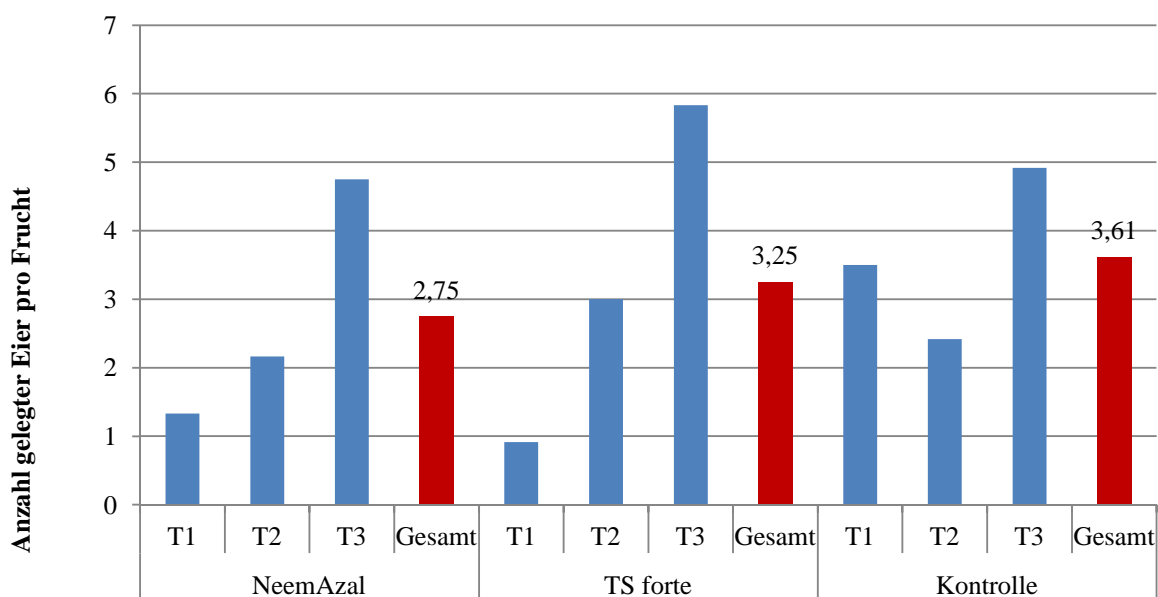


Abb. 2.32 : Anzahl der im Laborversuch Hohenheim pro Frucht in den verschiedenen Varianten zu den einzelnen Terminen abgelegten Apfelwicklereier.

Lediglich beim ersten Termin zeigten sich Unterschiede zwischen der Kontrolle und den beiden Varianten NeemAzal-T/S und der Leerformulierung (Abb. 2.32). Bei den folgenden Terminen konnte nichts mehr festgestellt werden. Denkbar wäre, dass dies auf eine anfängliche Repellentwirkung der öligen Formulierung zurückzuführen war und später eine

gewisse Gewöhnung einsetzte. Effekte von Behandlungen mit Öl gegen den Apfelwickler wurden von Caruso et al. (2012) beschrieben, variierten aber sehr stark. Sollte Gewöhnung eine Rolle spielen, wäre diese starke Varianz erklärbar: Je nachdem, ob eine Spritzung direkt vor einer grossen konzentrierten Eiablage erfolgt ist, kommt es zu einer Wirkung oder nicht.

2.5 Freilandversuche mit künstlichem Befall zur Wirkung von NeemAzal-T/S im Jahr 2012

Da die Versuche mit NeemAzal-TS in den letzten Jahren recht uneinheitliche Ergebnisse gebracht hatten, wurde 2013 am Bodensee in Zusammenarbeit mit dem KOB Bavendorf noch ein Freilandversuch unter kontrollierten Bedingungen mit künstlichem Befall durchgeführt.

Zu bestimmten Terminen wurden Apfelwickler in Netzen ausgebracht (analog zu den Versuchen mit Trichogrammen und künstlichem Befall s. Abb. 2.63). Diese Apfelwickler wurden für drei Tage dort belassen, um Eier abzulegen. Anschliessend wurde mit Spruzit behandelt, um die Falter abzutöten und das Netz geöffnet.

Die Terminierung der Applikation anhand von Temperaturdaten und Witterungsbedingung und erfolgte kurz vor Larvenschlupf. In der behandelten Variante wurde mittels einer Motor-Rückenspritze NeemAzal-T/S in einer Aufwandmenge von 1,5 l/ha mKh. Der Versuch wurde zu 3 Terminen wiederholt (Tab. 2.16) An den eingetzten Astpartien wurde die Anzahl gelegter und geschlüpfter Eier erfasst. Die Bonitur der lebenden und toten Larven erfolgte zum Ende des dritten Larvenstadiums.

Tab. 2.16: Eiablagezeiträume und Applikationstermin in den verschiedenen Wiederholungen

Wiederholung	Eiablage	Applikation
T1	15.-18.6.	22.6.
T2	27.6.-1.7.	6.7.
T3	16.7.-20.7.	28.7.

Ergebnisse und Diskussion

In der Neem-Variante war der Anteil abgestorbener Erst- und Zweitlarven in den letzten beiden Wiederholungen deutlich höher als in der Kontrolle (Tab. 2.17). In der ersten Wiederholung (T1) war dies nicht zu beobachten. Allerdings wurden an diesem Termin in der Neem-Variante sehr viel weniger Larven wiedergefunden als in der Kontrolle. Dies könnte auch auf ein sehr frühes Absterben der Larven hindeuten.

Tab. 2.17: Anzahl gelegter und geschlüpfter Apfelwicklereier sowie gefundene Larven und Anteile (in %) der einzelnen Larvenstadien, die tot oder lebend gefunden wurden (T1 – T3 = Wiederholung; NA = NeemAzal-T/S).

Parameter	T1		T2		T3		Gesamt	
	Kontrolle	NA	Kontrolle	NA	Kontrolle	NA	Kontrolle	NA
Anzahl Eier gelegt	40,0	26,0	22,0	33,0	45,0	21,0	107,0	80,0
Anzahl Eier geschlüpft	39,0	26,0	21,0	33,0	39,0	21,0	99,0	80,0
Anzahl Larven gefunden	39,0	9,0	15,0	15,0	11,0	21,0	65,0	45,0
% gefundene geschlüpfte Larven	100,0	34,6	71,4	45,5	28,2	100,0	66,5	60,0
Anteil L1 tot	51,3	66,7	6,7	40,0	18,2	57,1	25,4	54,6
Anteil L2 tot	17,9	0,0	0,0	40,0	9,1	19,0	9,0	19,7
Anteil L3 tot	0,0	0,0	0,0	6,7	0,0	0,0	0,0	2,2
Anteil L4 tot	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Anteil L5 tot	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Anteil toter Larven gesamt	69,2	66,7	6,7	86,7	27,3	76,2	34,4	76,5
Anteil L1 lebend	0,0	16,7	0,0	0,0	18,2	4,8	6,1	7,1
Anteil L2 lebend	17,9	0,0	33,3	13,3	36,4	9,5	29,2	7,6
Anteil L3 lebend	10,3	0,0	46,7	0,0	9,1	4,8	22,0	1,6
Anteil L4 lebend	0,0	0,0	6,7	0,0	9,1	4,8	5,3	1,6
Anteil L5 lebend	2,6	16,7	6,7	0,0	0,0	0,0	3,1	5,6
Anteil lebender Larven gesamt	30,8	33,3	93,3	13,3	72,7	23,8	65,6	23,5

Diese Versuche zeigten deutlich, dass ein Effekt einer Neem-Behandlung auf die Larvenentwicklung des Apfelwicklers vorhanden ist und dieser, wie zu erwarten, vor allem

nach der ersten und zweiten Häutung, also einige Zeit nach dem Einbohren der Larven in die Frucht, sichtbar wird.

Der Effekt war jedoch nicht allzu hoch (Gesamt-Wirkungsgrad in diesem Versuch nach Schneider-Orelli: 64,18 %).

2.5.1 Diskussion und Schlußfolgerungen zum Potential von NeemAzal-T/S

Ein gewisser Effekt von Neem-Azal-T/S auf die Mortalität der Apfelwicklerlarven während ihrer Entwicklung konnte immer wieder beobachtet werden. Auch bei den Versuchen mit künstlichem Befall wurde durchaus ein Effekt festgestellt. Dieser ist jedoch immer relativ gering und schwankt so stark, dass eine Empfehlung zum Einsatz des Präparats in der ersten Generation als Baustein für eine Strategie zur Reduktion von hohen Populationen nicht erfolgen soll.

2.6 Optimale Integration anderer verfügbarer Verfahren in die Regulierungsstrategie unter Berücksichtigung der Neuentwicklungen in der Fungizidstrategie: Potential von *Trichogramma*-Schlupfwespen

2.6.1 Freilandversuche zur Ausbringung von *Trichogramma*-Schlupfwespen im Jahr 2011

Ziel dieser Versuche war es, das Potenzial von Behandlungen mit *Trichogramma evanescens* in der Strategie zur Regulierung der zweiten Generation des Apfelwicklers im Vergleich und in Kombination mit CpGV Behandlungen auszuloten.

Standort Süddeutschland

Am Standort Süddeutschland wurden insgesamt vier Versuche zum Einsatz von *Trichogramma* zum Vergleich Spritzung und Tricho-Kärtchen und CpGV-Behandlungen durchgeführt.

Nur in einem Versuch, eigentlich aufgrund der unregelmässigen Baumform und des ungleichen Behangs nur als Zusatzversuch konzipiert, kam es zu nennenswertem Befall, so dass eine Auswertung möglich war. Die Ergebnisse der anderen Versuche werden daher hier nicht dargestellt.

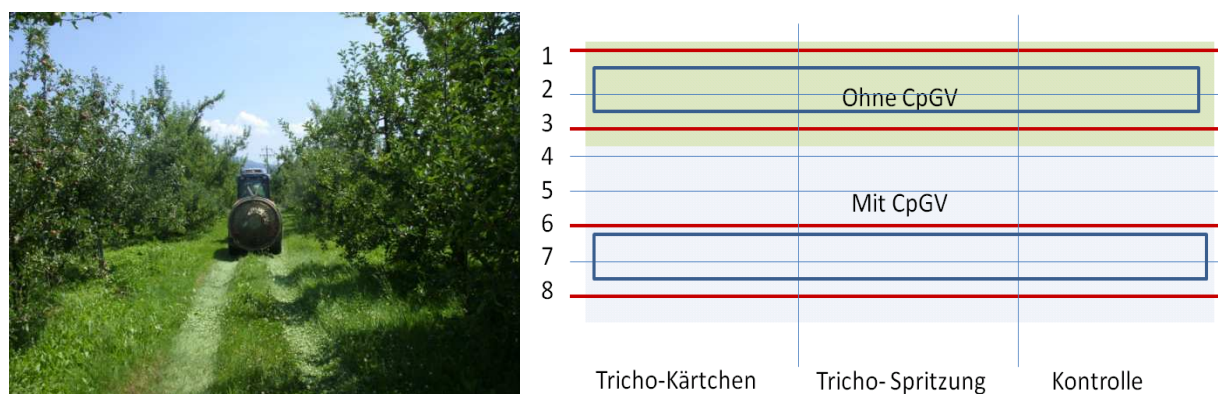


Abb. 2.29: Versuchsanlage und Versuchsplan für den Versuch zur Strategie zur Regulierung der zweiten Generation des Apfelwicklers am Standort Süddeutschland

Der Versuch wurde in einer Mostobstanlage mit hohen, relativ einzeln stehenden Bäumen (Pflanzabstand unregelmässig, meist 3,50 x 5,50 m) der Sorte Topaz durchgeführt (Abb. 2.11). Fünf Reihen wurden mit MADEX Max am 7.7. (60 ml/ha), am 14.7. (120 ml/ha), am 21.7., 4.8. (jeweils 60 ml/ha) und am 18.8. 2011 (120 ml/ha) behandelt, drei Reihen blieben ab dem 7.7.2011 komplett unbehandelt. In der ersten Generation erfolgten Behandlungen mit jeweils 60 ml pro ha MADEX Max am 26.5., 3.6., 10.6., 17.6., 21.6. und 29.6. 2011 mit MADEX Max. Die letzte Schwefel-Spritzung erfolgte in der zweiten Maihälfte. Gegen Pilzkrankheiten kam Fenchelöl sowie Natriumbicarbonat zum Einsatz.

Quer zu den Reihen wurden jeweils *T. evanescens* als Tricho-Karte an jedem 2. Baum ausgebracht sowie als Spritzung mit 86 g pro ha. In beiden Fällen wurden unterschiedliche Stadien Entwicklungsstadien ausgebracht, so dass der Schlupf über eine Periode von mindestens einer Woche erfolgte. Dabei wurde auf jeder Seite des praxisüblichen Spritzgeräts die vierte Düse ausgetauscht und eine Flachstrahldüse der Firma TeeJet 11015 mit sehr großem Durchmesser montiert (Abb. 2.30).



Abb. 2.30: Flachstrahldüse für die Spritzung mit *Trichogramma*, Abfangen der *Trichogramma*-Puppen und Auszählung der geschlüpften Trichogrammen unter dem Mikroskop

Die *Trichogramma*-Puppen wurden in ein Gel aus 2 % Xanthan und 0,01 % Tween 20 eingerührt und dann in die Spritze gefüllt. Ausgebracht wurde mit 3 bar Druck und einer Luftleistung von 400 Umdrehungen, ca. 200 L pro ha. Vor der Spritzung wurden an der Düse

Trichogramma-Puppen abgefangen, bei denen dann die Schlupfrate im Labor bestimmt werden konnte (Abb. 2.30).

Die erste Ausbringung erfolgte am 11.7.2011, die zweite Ausbringung am 3.8.2011.

Am 3.8.2011 wurden in den Reihen 1 und 3 sowie 6 und 8 Wellpapperinge angebracht. Die Fruchtbonitur erfolgte am 14.-16.9.2011. Der Fruchtbehang war von Baum zu Baum sehr unterschiedlich. Bei der Auswertung wurden daher fünf Bäume pro Variante komplett abgeerntet und die Ergebnisse werden als Pro-Baum-Werte dargestellt. Ausgewertet wurden nur Früchte mit frischem Befall, der von der zweiten Generation stammte. Zu diesem Termin wurden auch die Wellpapperinge abgenommen.

Standort Niederelbe

Der Versuch wurde in einer stark befallenen Anlage mit hohen Bäumen mit dichter Krone der Sorte Boskoop durchgeführt. Ausgebracht wurden *Trichogramma*-Kärtchen bestückt mit



jeweils 3.000 Puppen von *T. evanescens*. Aufgrund des

ungleichmässigen

Fruchtbehangs und der

Kronenform der Bäume

erfolgte eine Ausbringung

nicht ganz nach dem üblichen

Raster, bei dem jeden 8.

Baum eine Tricho-Karte

ausgebracht wurde. Die

Ausbringung erfolgte auch

nicht versetzt wie

normalerweise angeraten.

Drei Baumreihen wurden in

Blöcke mit jeweils 35

Bäumen pro Reihe unterteilt.

Abb. 2.31: Versuchsanlage für *Trichogramma* am Standort Niederelbe

Kärtchen wurden in allen drei Reihen ausgebracht, ausgewertet wurde nur die mittlere Reihe (Abb. 2.32).

Die Kärtchen wurden am 22.07. und am 12.08.2011 von Hand ausgebracht. Zum Zeitpunkt der Ausbringung wurden keine Schwefelpräparate eingesetzt (letzte Netzschwefelbehandlung am 16.6.2011). Auch CpGV kam nicht zum Einsatz.

Am 22.7.2011 vor der Ausbringung wurde eine Ausgangsbonitur durchgeführt. Am 22.9.2011 erfolgte die zweite Fruchtbonitur. Ausgewertet wurden 1000 zufällig ausgewählte Früchte pro Variante. Die Früchte wurden aufgeschnitten und die Larvenstadien bestimmt. Ausgewertet wurden nur Früchte mit frischem Befall und bei den Ergebnissen nur der Gesamtbefall (lebende Larven bzw. Fruchtschaden) dargestellt (Abb. 2.19).

Der Versuch wurde in drei hintereinanderliegenden Blöcken mit 4 Reihen und jeweils ca. 76 Bäumen/Block/Reihe aufgebaut. Abb. 2.33 gibt einen Überblick über die Lage der Versuchsvarianten und die Anzahl der jeweils ausgewerteten Bäume.

Kontrolle 10 B	Unbeh. Puffer	Tricho Spritzung 17 B	Tricho Dispenser 17 B	Pufferzone zu GV	GV behandelt 10 B	Block 1
Kontrolle 10 B	Unbeh. Puffer	GV behandelt, Restl. Bäume				Block 2
		GV behandelt 10 B	Puffer Tricho	Tricho- Spritzung 10 B	Tricho Dispenser 10 B	
GV behandelt, alles						
GV behandelt 10 B	Puffer	Tricho Spritzung 10 B		Tricho Dispenser 10 B		Block 3

Abb. 2.33: Lage der Versuchsvarianten, Versuch *Trichogramma evanescens* / CpGV-V15 und Anzahl ausgewerteter Bäume im Versuch am Standort Rheinland-Pfalz.

Es wurden *T. evanescens* Karten mit jeweils 3000 parasitierten Getreidemotteneiern in unterschiedlichen Entwicklungsstadien von *T. evanescens* (Abb. 2.34) sowie loses Material in gleichen Entwicklungsstadien mit einer Aufwandmenge von 86g/ha mit der Spritze ausgebracht. Spritzverfahren und Düse entsprachen dem Versuch am Standort Süddeutschland. Insgesamt erfolgten zwei Applikationen bzw. Aushängungen (20.07.2011 und 10.08.2011). Die Tricho-Kärtchen wurden jeden 9. Baum ausgebracht.



Abb. 2.34: *T. evanescens*-Kärtchen (links und Mitte), Spritzfähige *T. evanescens*-Puppen (rechts)

Bei der Spritzung wurden mit einem Sieb Vlies-Stücke in den Spritzstrahl gehalten und so *Trichogramma*-Puppen abgefangen. Anschliessend wurde überprüft, ob die Schlupfrate im Rahmen des Erwartbaren lag. Die Befallsbonitur fand am 08.09.2011 statt. Befallene Äpfel wurden aufgeschnitten und nach dem gleichen Schema wie bei den bereits beschriebenen

Versuchen bestimmt. Gewertet wurden nur Früchte mit frischem Befall. Die Ernte der Äpfel erfolgte am 27.09.2011. An 5 Bäumen pro Wiederholung wurden alle Früchte ausgewertet. Es wurden auch Wellpapperinge angelegt und zeitgleich mit der Fruchtbonitur wieder abgenommen.

Ergebnisse

Standort Süddeutschland

Die Fruchtbonitur zeigte ein nicht ganz einheitliches Bild. Bei der Variante ohne CpGV hatten beide *Trichogramma*-Varianten einen deutlich reduzierten Fruchtschaden, bei der Variante mit CpGV traf dies nur für die Tricho-Spritzung zu (Abb. 2.35). Der aktive Befall war in den Varianten mit CpGV deutlich geringer. Bei den beiden Parzellen mit *Trichogramma*-Spritzung gab es aber aufgrund des geringen Befalls kaum Unterschiede. Die Schlupfrate der Trichogrammen aus der Spritzung betrug 77,1 %.

Die Auswertung der Wellpapperinge zeigte einen deutlichen Effekt des CpGV-Einsatzes und auch der *Trichogramma*-Spritzung. Bei der Variante mit Kärtchenausbringung waren die Effekte uneinheitlich und ggf. nur schwach. Während beim Fruchtschaden kaum Unterschiede zwischen der Tricho-Spritzung mit und ohne CpGV zu sehen waren, zeigte sich sowohl beim aktiven Befall als auch bei den Diapauselarven ein deutlicher Unterschied (Abb. 2.36).

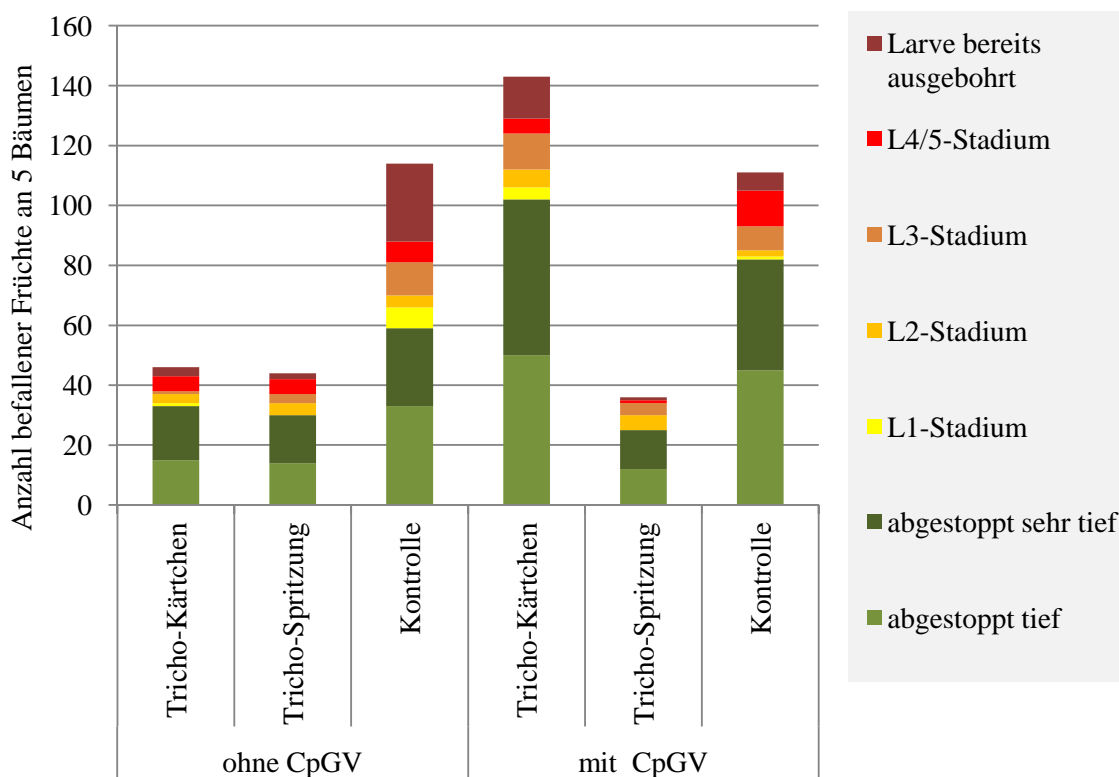


Abb. 2.35: Anzahl befallener Früchte an der Erntebonitur vom 14.-16.9.2011 an der Sorte Topaz am Standort Süddeutschland im Versuch zum Einsatz von *T. evanescens* und CpGV.

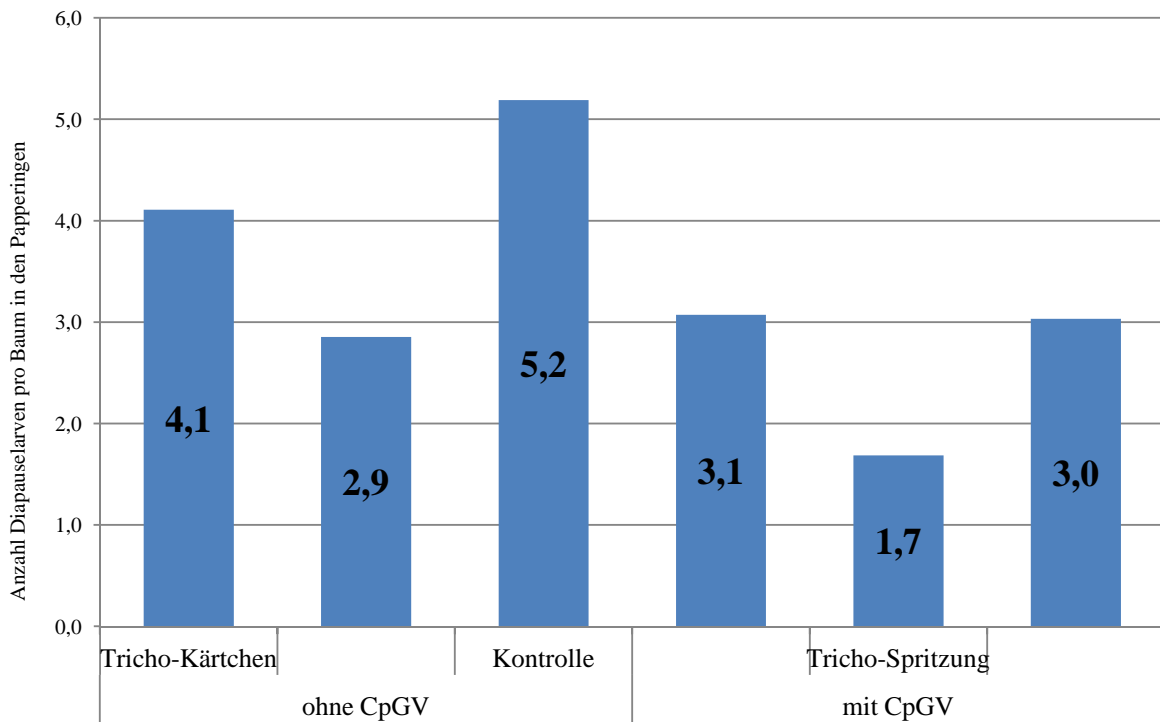


Abb. 2.36: Anzahl Diapauselarven in den Wellpapperingen bei der Bonitur am 14.-16.9.2011 an der Sorte Topaz am Standort Süddeutschland im Versuch zum Einsatz von *T. evanescens* und CpGV.

Standort Niederelbe

Am Standort Niederelbe war ein deutlicher Effekt der *Trichogramma*-Ausbringung auf die Anzahl geschädigter Früchte zu beobachten. Der Wirkungsgrad der Ausbringung auf den Fruchtschaden betrug 53,6 % (

Abb. 2.37).

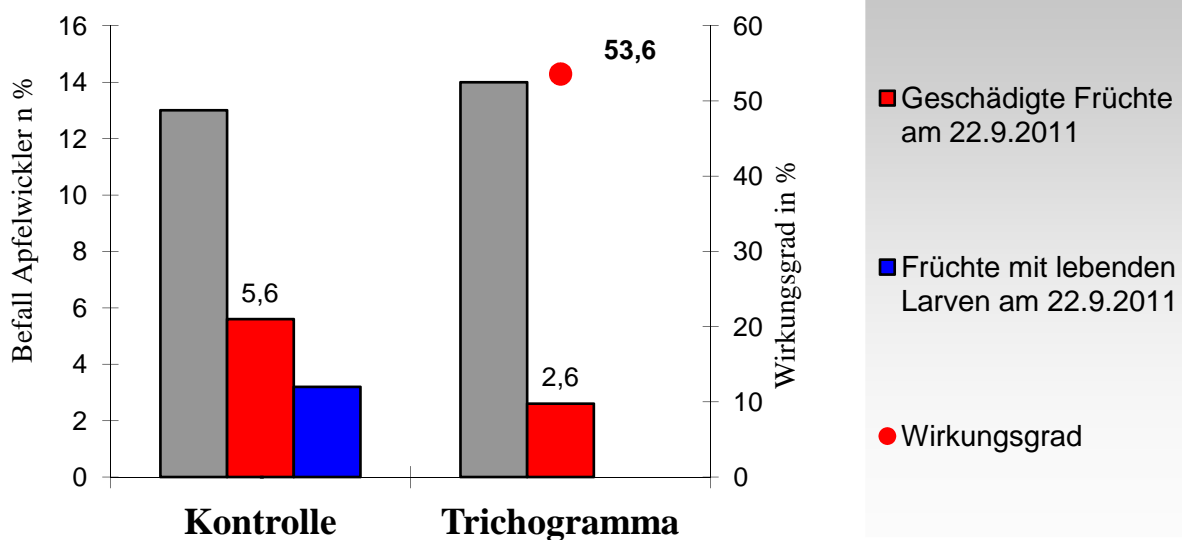


Abb. 2.37: Ergebnisse der Fruchtbonitur im *Trichogramma*-Versuch an der NiederelbeStandort Rheinland-Pfalz

Am Standort Rheinland-Pfalz verursachte die zweite Generation des Apfelwicklers bis zum Erntezeitpunkt am 8.9.2011 relativ geringen Schaden. Trotzdem war der Effekt der Ausbringung der Tricho-Kärtchen auf den Fruchtschaden sowohl mit als auch ohne Kombination mit CpGV gut sichtbar. In beiden Fällen wurde der Fruchtschaden etwa halbiert. Die Kombination aus Tricho-Kärtchen und CpGV-Spritzung zeigte die beste Wirkung auf den Fruchtschaden, aber auch auf den aktiven Befall (Abb. 2.38). Der Unterschied zu den mit CpGV behandelten Parzellen war in den *Trichogramma*-Varianten relativ gering. Die Spritzung der Trichogrammen ergab ein etwas uneinheitlicheres Ergebnis als nach Ausbringung mit Tricho-Kärtchen.

Die Schlupfrate der *Trichogrammen*, die bei der Spritzung abgefangen worden waren, betrug ca. 70 %.

In den Wellpapperingen wurden keine Apfelwicklerlarven gefunden, so dass auf eine Darstellung verzichtet wird.

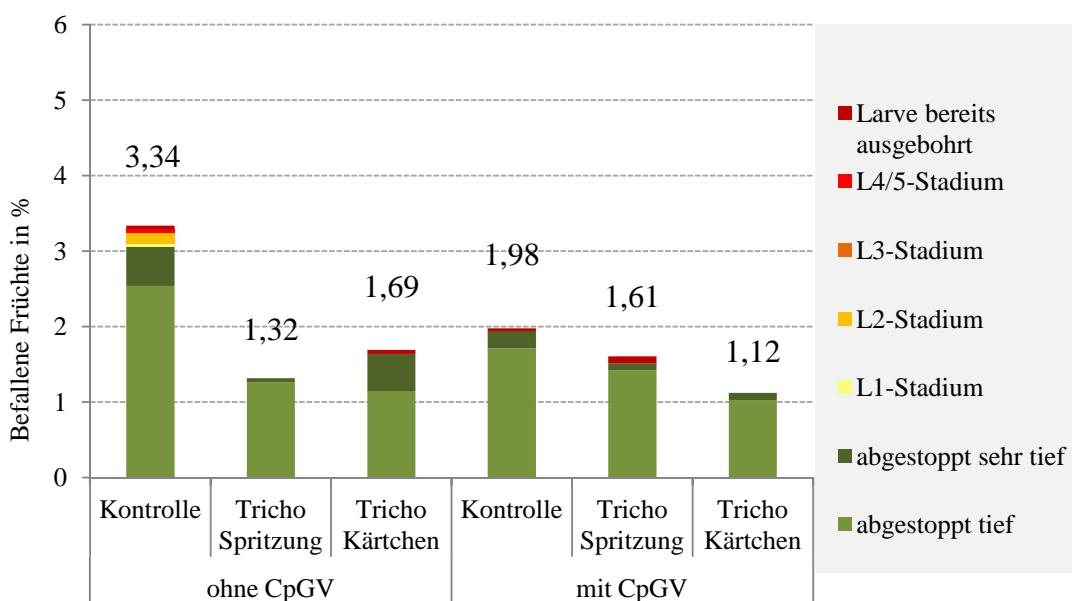


Abb. 2.38: Ergebnisse der Fruchtbonitur nach Freilassung von Trichogrammen in zwei Verfahren zur Regulierung der zweiten Apfelwickler-Generation in Rheinland-Pfalz

Diskussion

Im Versuch in Süddeutschland ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen, dass die Anlage nicht randomisiert war und keine Wiederholungen möglich waren. Daher kann ein Effekt der Lage der mit *Trichogramma* gespritzten Parzelle in der Anlagenmitte nicht ganz ausgeschlossen werden. Bei den großen Bäumen mit dichter Krone und nicht geschlossener Laubwand (weite Abstände zwischen den einzelnen Bäumen) war die Situation

für die Ausbringung mit Kärtchen allerdings sehr ungünstig, so dass das schlechtere Ergebnis der Kärtchen erklärbar ist. Die Ergebnisse weisen zumindest darauf hin, dass die Spritzung mit *Trichogramma* eine Wirkung zeigte. Die Ergebnisse zur Wirkung von MADEX Max sind vor dem Hintergrund der relativ geringen eingesetzten Mengen zu interpretieren (es handelte sich um eine Mostobstanlage). Diese hatten kaum Effekte auf den Fruchtschaden, konnten jedoch die Anzahl der überwinterten Larven deutlich reduzieren.

Am Standort Niederelbe zeigte die Ausbringung der Trichogrammen in Kärtchen eine recht gute Wirkung obwohl es sich um relativ großkronige Bäume handelte. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Bäume einen sehr ungleichmässigen Fruchtbehang aufwiesen und die Ausbringung der Kärtchen zum Teil dem Fruchtbehang folgte. Außerdem wurden zwei Kärtchen jeden 8. Baum ausgebracht, zum Teil auch enger verteilt. Der Versuch zeigt aber zumindest, dass auch bei großkronigeren Bäumen mit Kärtchen ein Bekämpfungseffekt erzielt werden kann.

Am Standort Rheinland-Pfalz waren die Bäume kleinkroniger. Hier waren die Ergebnisse der Ausbringung mit Kärtchen etwas besser während die Spritzung in einer Parzelle relativ schlecht lag. Aufgrund des niedrigen Befalls ist auch hier die Interpretation schwierig.

Insgesamt lassen die Versuchsergebnisse aber doch den Schluss zu, dass durch die Ausbringung von *Trichogramma* sowohl mit Spritzung als auch mit Kärtchen Ergebnisse mit Wirkungsgraden um die 40-50 % auf den Fruchtschaden erzielt werden können. Bemerkenswert sind die Ergebnisse der Spritzungen vor allem deshalb, weil mit Material verschiedener Entwicklungsstadien in einer durchaus niederschlagsreichen Periode gearbeitet wurde und trotzdem Effekte zu beobachten waren. Die CpGV-Behandlungen zeigten zwar Effekte auf die Folgepopulation aber nur relativ geringe auf den Fruchtschaden. Eine Kombination von CpGV und *Trichogrammen* ist also bei hoher Population durchaus interessant. Bei niedrigeren Populationen könnte ggf. auch auf CpGV in der zweiten Generation verzichtet werden sofern die Wirkung von *Trichogramma* besser abgesichert werden kann.

2.6.2 Freilandversuche zur Ausbringung von *Trichogramma*-Schlupfwespen im Jahr 2012

Ziel dieser Versuche war, die Wirkung und Wirkungssicherheit von *T. evanescens* sowohl im Spritzverfahren als auch mit der Ausbringung von Tricho-Karten abzuklären.

An allen drei Standorten wurden Freilandversuche durchgeführt, um das Potential des Einsatzes von *T. evanescens* zur Reduktion des Befalls der zweiten Generation des Apfelwicklers abzuschätzen. Der Schwerpunkt der Versuche lag auf dem Vergleich von Spritzverfahren und Ausbringung mit Kärtchen.

An den meisten Standorten war der Befall allerdings so gering, dass die Versuche nur beschränkt aussagefähig waren.

Standort Rheinland-Pfalz, Saarwellingen

Im Jahr 2012 wurde am Standort Saarwellingen erneut ein Versuch mit sechs Varianten (3 Wiederholungen) in der Sorte 'Melrose' zur Bekämpfung des Apfelwicklers der zweiten Generation mit Hilfe von *T. evanescens* bzw. CpGV-V15 angelegt (Tab. 2.19).

Tab. 2.19: Varianten im Versuch mit *T. evanescens* / CpGV-V15, Saarwellingen im Jahr 2012

	Variante
1	Kontrolle
2	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte
3	<i>Trichogramma evanescens</i> Spritzung
4	CpGV-V15
5	CpGC-V15 + <i>Trichogramma evanescens</i> Karte
6	CpGV-V15 + <i>Trichogramma evanescens</i> Spritzung

Für diesen Versuch standen drei hintereinander liegende Blöcke mit jeweils 8 Reihen und ca. 72 Bäumen/Block/Reihe zur Verfügung (Abb. 2.39). Jeder Block steht für eine Wiederholung, so dass die Varianten insgesamt dreimal wiederholt wurden. In den ersten vier Reihen befanden sich die Varianten 1-3 und in den zweiten vier Reihen die Varianten 4-6. Es wurden also immer vier Reihen gleichbehandelt, wovon die beiden mittleren ausgewertet wurden.



Abb. 2.39: Versuchsanlage *Trichogramma*- und CpGV-V15-Versuch, Saarwellingen 2012

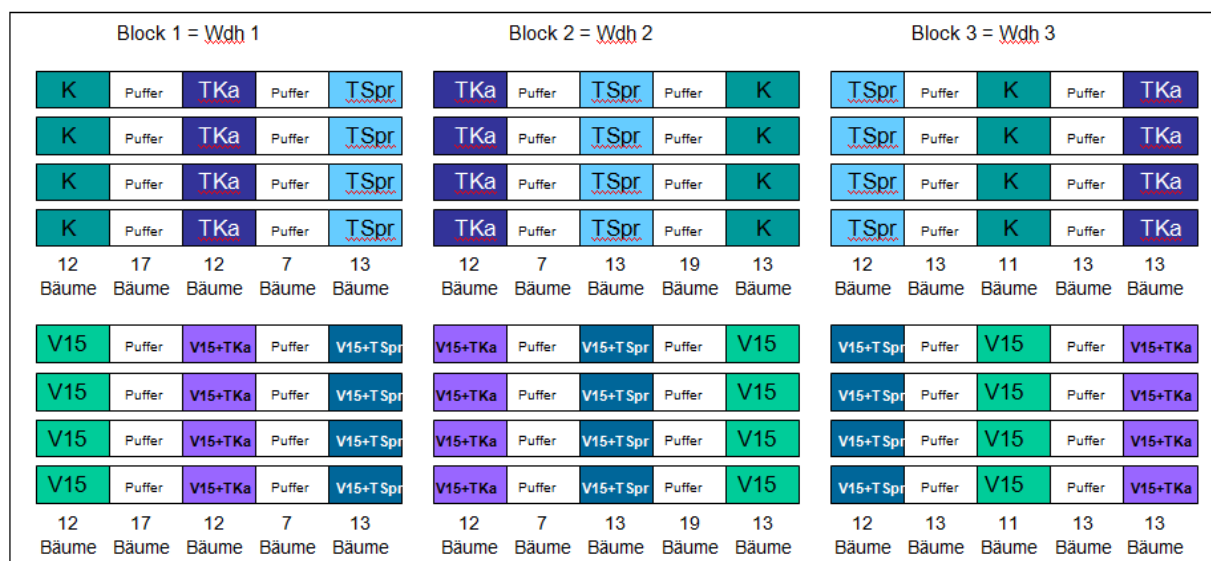


Abb. 2.40: Lage der Versuchsvarianten, Versuch *T. evanescens* / CpGV-V15 und Anzahl Bäume die jeweils ausgewertet wurden, Saarwellingen 2012 (K = Kontrolle, TKa = *Trichogrammakarte*, TSpr = *Trichogramma*-Spritzung).

Im Versuch wurden *T. evanescens* Karten mit jeweils 3.000 parasitierten Getreidemotteneiern in unterschiedlichen Entwicklungsstadien verwendet (Abb. 2.12 und 2.13), deren Aufhängung an jedem sechstem Baum erfolgte. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Tricho-Karten auf Lücke gehangen wurden (Reihe 1: 1, 6 und 12 Baum, Reihe 2: 3, 9 und 15 Baum, Reihe 3: 1, 6 und 12 Baum usw.). Insgesamt erfolgten zwei Aufhängungen mit Tricho-Karten am 18.07.2012 und 07.08.2012. Die spritzfähigen *T. evanescens* (Abb. 2.41) wurden mit einer Aufwandmenge von 86 g/ha und einem Wasseraufwand von 150 l/ha mit einer Fahrgeschwindigkeit von 10 km/h und 3 bar ausgebracht. Zur besseren Verteilung der Trichogrammen in der Spritzbrühe wurden je Liter Wasser 2 g Xanthan und 0,1 ml Tween zugesetzt. Zur Ausbringung wurde auf jeder Seite der Spritze nur eine sehr große Düse (Teejet 11015) verwendet und es wurde darauf geachtet, dass die Baummitte und möglichst die Blattunterseite behandelt wurde. Die Applikationen erfolgte an den gleichen Terminen wie die Kartenaufhängung (18.07.2012 und 07.08.2012).

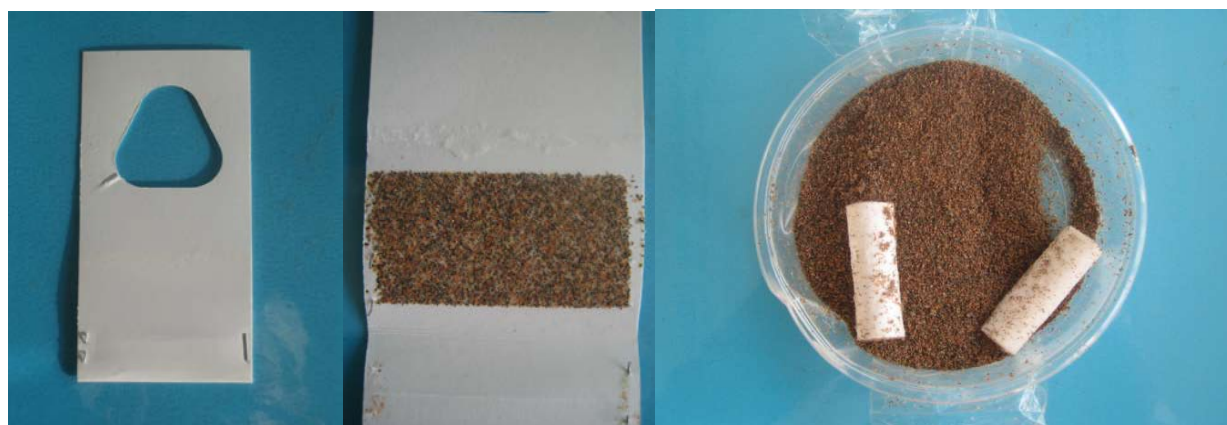


Abb. 2.41: *T. evanescens*-Kärtchen (links und Mitte), spritzfähige *T. evanescens* (rechts)

Die Behandlungen mit dem Granuloviruspräparat CpGV-V15 in den Varianten 4-6 fanden an den gleichen Terminen statt wie bei den unter 2.2 beschriebenen Versuchen (Tab. 2.1). Die Wasseraufwandmenge betrug ebenfalls 500 l/ha u. mKh (1000 l/ha).

Die Auswertung des Befalls erfolgte am 03.09.2012. Aufgrund einer sehr geringen Anzahl von Früchten (Frostschaden!) wurden alle Bäume einer Variante komplett bonitiert. Befallene Äpfel wurden zur anschließenden Bestimmung des Larvenstadiums aufgeschnitten und nach dem gleichen Schema wie unter 2.2. beschrieben bestimmt. Hier wurde jedoch zusätzlich nach „altem“ Befall (1. Generation) und „Neubefall“ (2. Generation) unterschieden. Berücksichtigt wurde anschließend nur der neue Befall. Die Ernte der Äpfel erfolgte in der Zeit vom 08.10. bis 22.10.2012.

Aufgrund eines leider sehr geringen Befalls in der Kontrolle von unter 1 % wird hier auf eine Darstellung der Ergebnisse verzichtet, da diese für das Jahr 2012 nicht aussagekräftig sind.

Standort Rheinland-Pfalz, Neustadt

Im Jahr 2012 wurde zusätzlich zu dem *Trichogramma*versuch am Standort Saarwellingen noch ein weiterer Versuch mit drei Varianten (2 Wiederholungen) in der Sorte 'Braeburn' in der Versuchsanlage des DLR Rheinland-Pfalz in Neustadt a. d. Weinstraße angelegt (Tab. 2.20; Abb. 2.42).

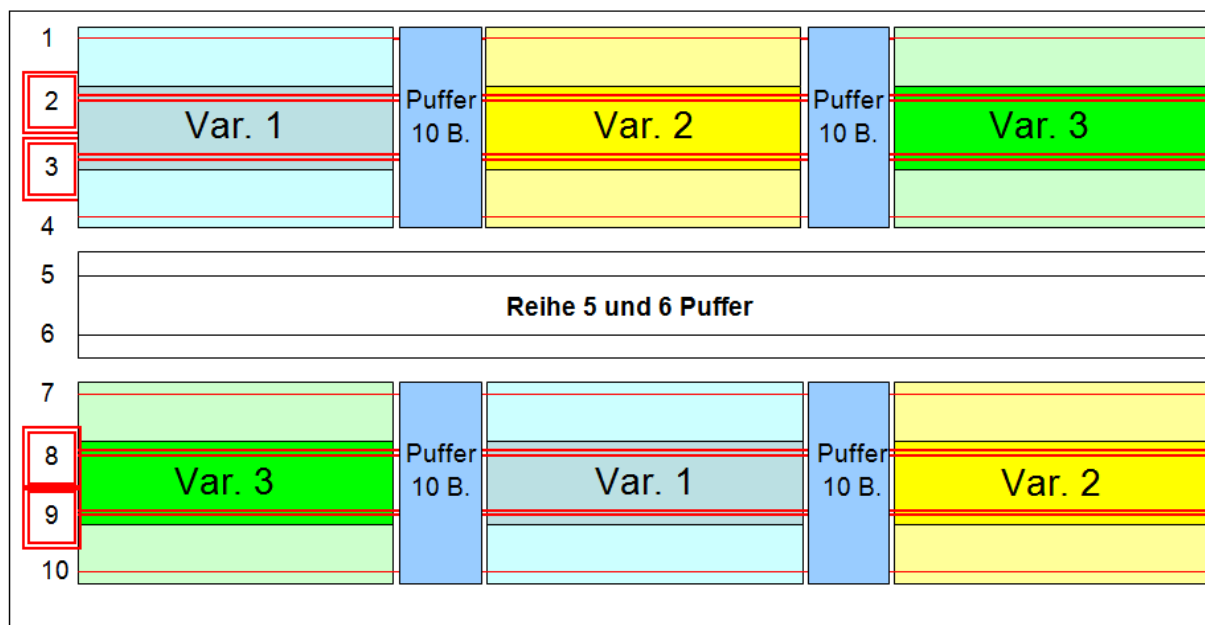
Tab. Tab. 2.20: Varianten im Versuch mit *T. evanescens* in Neustadt a. d. Weinstraße 2012

	Variante
1	Kontrolle
2	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte
3	<i>Trichogramma evanescens</i> Spritzung

Für den Versuch standen zehn Reihen der Sorte 'Braeburn' mit jeweils 72 Bäumen pro Reihe zur Verfügung. In den ersten vier Reihen befand sich die erste Wiederholung und in den Reihen 7-10 die zweite Wiederholung. Reihe 5 und 6 dienten als Puffer. Es wurden auch hier immer vier Reihen gleichbehandelt, wovon die beiden mittleren ausgewertet wurden (Abb. 2.43).

Abb. 2.42: Versuchsanlage Neustadt *Trichogramma*-Versuch 2012

Abb. 2.42 und 2.43 zeigen die Versuchsanlage sowie die Lage der einzelnen Varianten innerhalb der Anlage.

Abb. 2.43: Lage der Versuchsvarianten, Versuch *T. evanescens*, Neustadt a. d. Weinstr. 2012

Die Vorgehensweise der *Trichogramma*-Applikation erfolgte analog zu dem für den vorigen Versuch beschriebenen Verfahren. Die beiden Behandlungen erfolgten am 11.07.2012 und 01.08.2012.

Insgesamt fanden vier Befallsbonituren (Ganzbaumbonitur von jeweils 10 Bäumen pro Bonitur = insgesamt 30 Bäume pro Wiederholung bzw. 60 Bäume pro Variante) im Abstand von einer Woche (30.08., 06.09. und 13.09) bzw. zur Ernte (04.10.2012) statt. Zur Ernte wurden die bereits bonitierten Bäume abschließend noch einmal bonitiert. Befallene Äpfel wurden zur Bestimmung des Larvenstadiums aufgeschnitten und nach dem gleichen Schema wie unter 2.2 beschrieben bestimmt. Auch hier wurde zwischen „Altbefall“ (1. Generation)

und „Neubefall“ (2. Generation) unterschieden. Aufgrund des niedrigen Befalls werden die durchgeführten Bonituren vom 30.08., 06.09. und 13.09.2012 hier nicht einzeln aufgeführt sondern zusammengefasst dargestellt. In der unbehandelten Kontrolle wurde ein Befall von 2,41 % ermittelt. Aber auch die behandelten Varianten lagen hinsichtlich der Befallswerte auf einem ähnlichen Niveau. So wies die Variante *Trichogramma*-Karte einen Befall von 2,38 % und die Variante *Trichogramma*-Spritzung einen Befall von 2,54 % auf (Abb. 2.44).

Im Hinblick auf die einzelnen Larvenstadien lassen sich bei den Karten nur im L3-Stadium deutliche Unterschiede zur Kontrolle feststellen. Bei der Spritzung waren die Stadien L4/5 und die bereits ausgebohrten Larven etwas reduziert. Tendenziell war der Anteil abgestoppter Tiere in den behandelten Varianten etwas höher und die Anzahl Tiere im L3 bis L5-Stadium bzw. bereits ausgebohrte Larven geringer als in der unbehandelten Kontrolle (Abb. 2.45).

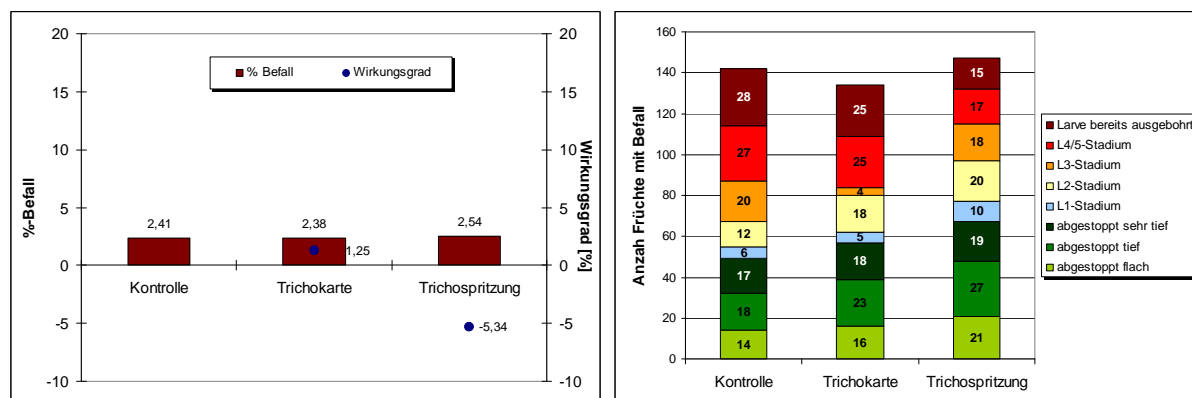


Abb. 2. 44 und 2.45.: Prozent Befall und Wirkungsgrad (li.) sowie Ergebnisse der Fruchtbonitur (re.) (Zusammenfassung der Bonituren vom 30.08., 06.09. und 13.09.2012) nach Einsatz von *Trichogramma evanescens* gegen die 2. Apfelwickler-Generation in der Sorte 'Braeburn', Standort Neustadt a. d. Weinstraße 2012.

Bei der Erntebonitur am 04.10.2012 konnte in der unbehandelten Kontrolle nur noch ein Befall von 0,77 % festgestellt werden. Die beiden behandelten Varianten lagen mit Werten von 0,88 % (*Trichogramma*-Karte) und 0,94 % (*Trichogramma*-Spritzung) geringfügig höher (Abb. 2.19). Auch hier sind bei der Betrachtung der einzelnen Larvenstadien keine deutlichen Unterschiede zu erkennen. Die Variante *Trichogramma*-Spritzung wies allerdings mit 10 Tieren die höchste Anzahl Larven im L4/L5-Stadium auf (Abb. 2.46).

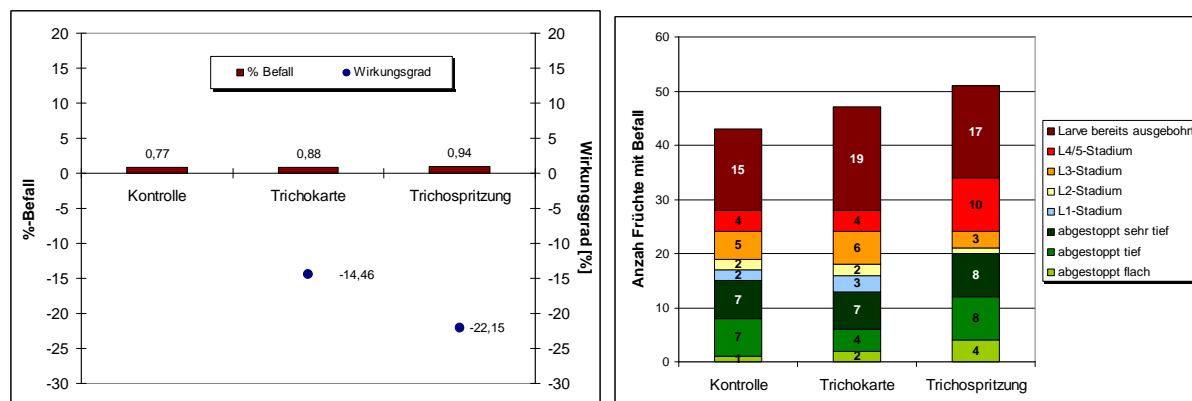


Abb. 2.46 und 2.47: Prozent Befall und Wirkungsgrad (li.) sowie Ergebnisse der Fruchtbonitur (re.) zur Ernte am 04.10.2012 im Versuch Einsatz von *Trichogramma evanescens* gegen die 2. Generation in der Sorte 'Braeburn', Standort Neustadt a. d. Weinstraße.

Diskussion

Da der Befall in der unbehandelten Kontrolle in allen durchgeführten Versuchen mit unter 3,0 % sehr gering war, sind die Ergebnisse für das Jahr 2012 am Standort DLR Rheinpfalz nicht aussagekräftig. Trotzdem hätte sich ein deutlicherer Effekt zeigen müssen. Ein Grund dafür könnte sein, dass die *Trichogramma*-Ausbringung im Abstand von drei Wochen nicht ausreichte. Der Zeitraum zwischen den Behandlungen sollte auf max. 14 Tage reduziert werden. Falls notwendig müsste dann eine dritte Behandlung mit *T. evanescens* erfolgen.

Standort Niederelbe

Auf einem ökologisch wirtschaftenden Obstbaubetrieb in Hüll, Drochtersen, ist die Wirkung von *T. evanescens* in einer Anlage mit den Sorten Topaz und Santana geprüft worden. Hierzu wurden am 24. Juli je 50 *Trichogramma*-Kärtchen, in drei Reihen 'Topaz' und in drei Reihen 'Santana', an jedem achten Baum versetzt zueinander aufgehängt (Abb. 2.21). Die Apfelwicklerbefallsbonitur in der unbehandelten Kontrolle und der *Trichogramma*-Parzelle wurde zu drei verschiedenen Zeitpunkten im Juli und August/ September durchgeführt. Kontrolliert wurden 1.000 Früchte je Parzelle. Die Applikation der *Trichogramma*-Dispersion erfolgte mit einem Axialgebläse am 24. Juli in vier Reihen der Sorte 'Topaz', die beiden mittleren Reihen des Versuches wurden im Versuchszeitraum dreimal (24.07, 30.08, 11.09) auf Befall bonitiert.

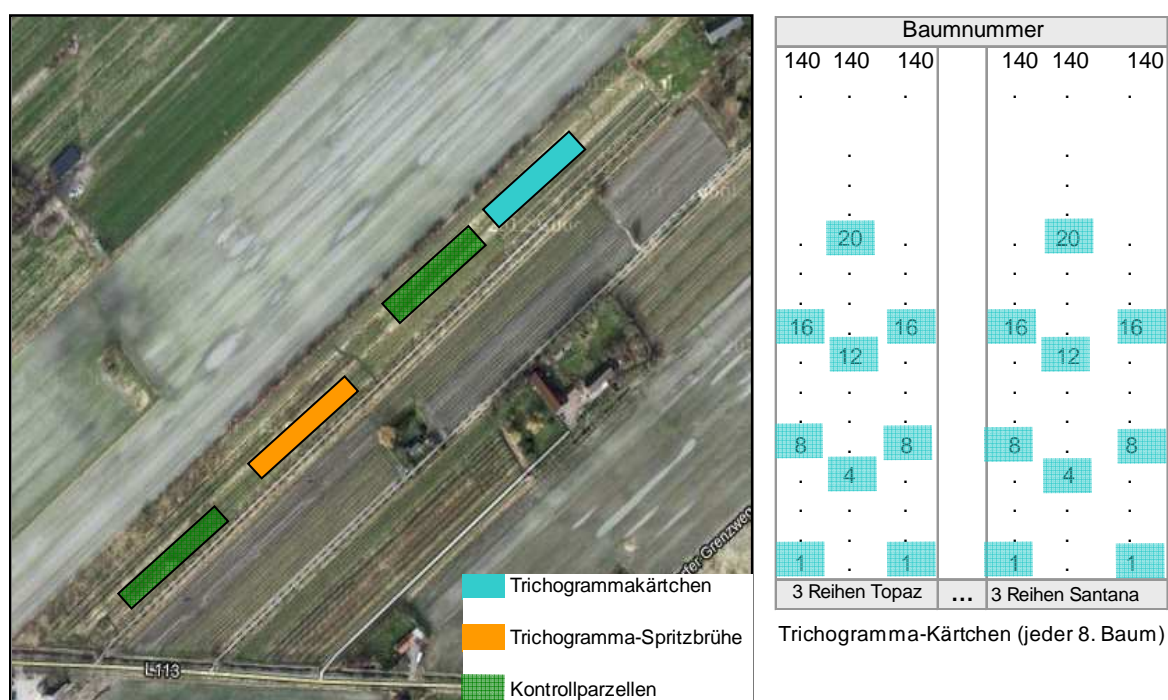


Abb. 2.48: Versuchsaufbau *Trichogramma* am Standort Hüll, Drochtersen 2012

Der Apfelwickler-Falterflug befand sich im Versuchsjahr 2012 am Standort Drochtersen auf einem konstant niedrigen Niveau, die Anzahl der Falter in den Pheromonfallen bewegten sich zwischen 0 und 3 Faltern pro Fangkontrolle (Abb. 2.49).

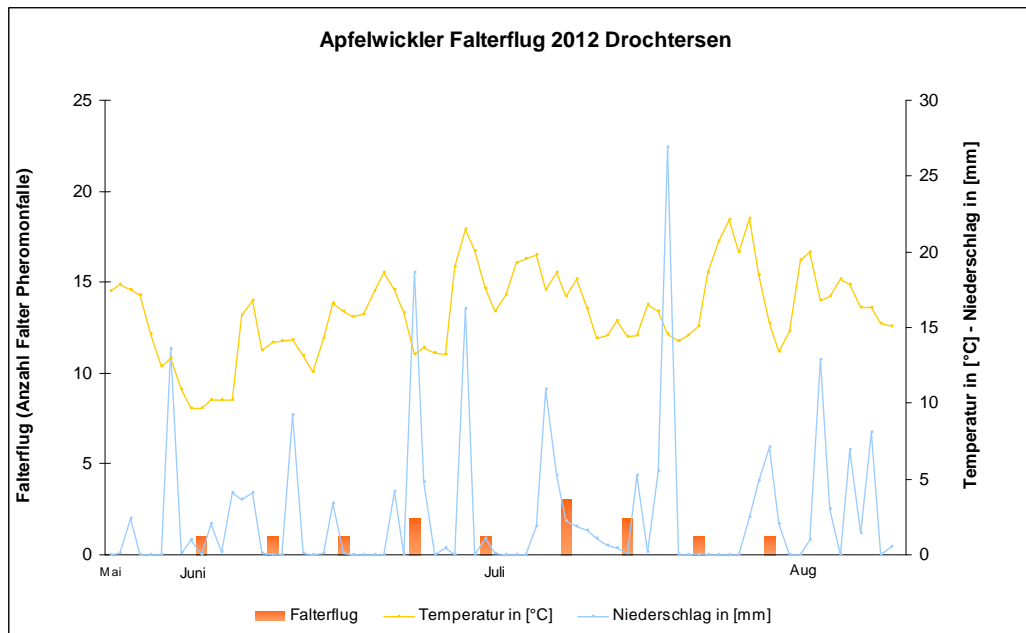


Abb. 2.49: Situation des Apfelwickler Falterfluges in Drochtersen, 2012

Bei der Bonitur konnte auch in der Kontrolle kein Befall beobachtet werden. Daher sind leider keine Ergebnisse verfügbar.

Standort Süddeutschland

An der Population BW-DE werden bereits seit mehreren Jahren Versuche zum Einsatz von Trichogrammen durchgeführt. Der Betrieb will die Verwirrungsmethode nicht einsetzen und sucht daher ein anderes Verfahren als „zweites Bein“ zum Granulovirus.

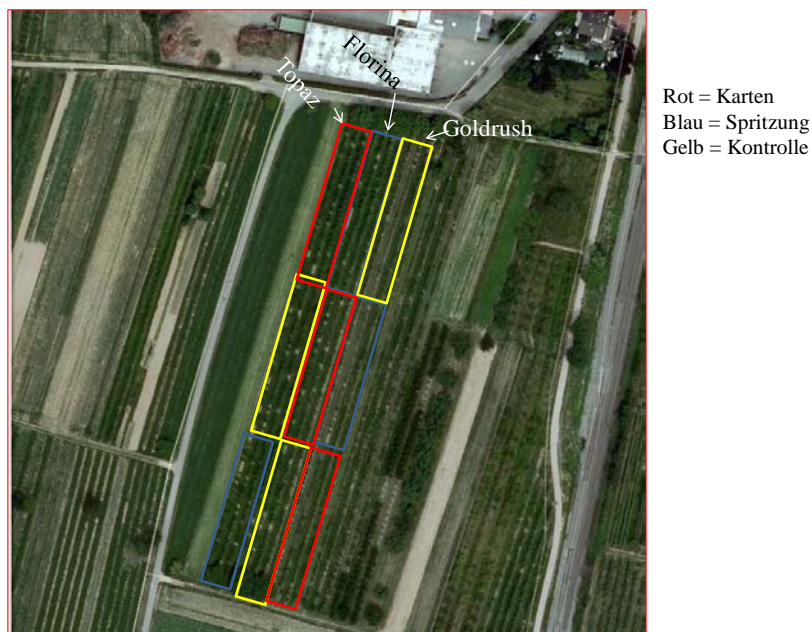


Abb. 2.50: Versuchsplan im Freilandversuch mit *Trichogramma* in Süddeutschland

In einer Anlage mit drei Sorten (Topaz, Florina, Goldrush) mit jeweils drei Reihen wurden jeweils drei Parzellen pro Sorte angelegt (Abb. 2.50).



Abb. 2.51: Baumformen im *Trichogramma*-Versuch in Süddeutschland : links Sorte Goldrush, rechts Sorte Topaz

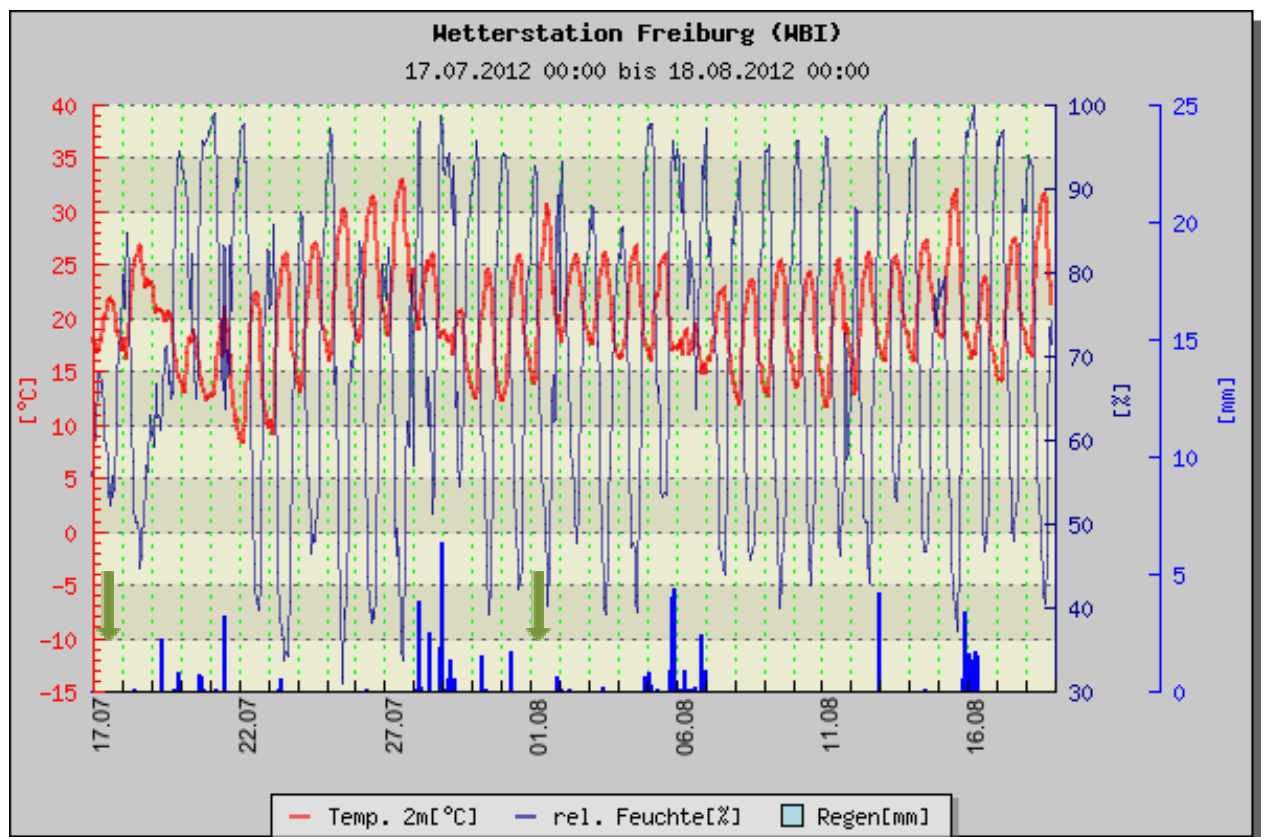


Abb. 2.52: Witterungsverlauf und Ausbringung (grüne Pfeile) im *Trichogramma*-Versuch in Süddeutschland

Die Sorte Goldrush war auf 1,40 m Reihenabstand gepflanzt und als Spindel erzogen (Abb. 2.50) während es sich bei Topaz und Florina um ältere Bäume handelte, die eher einem Halbstamm ähnelten und zum Teil unregelmässige Pflanzabstände aufwiesen (Abb. 2.51). Auch Lücken konnten hier nicht ausgeschlossen werden. Die mittlere Reihe wurde ausgewertet und es wurde versucht, die Auswertung so zu legen, dass die Lücken keine Rolle spielen konnten. Am 17.7. 2012 erfolgte eine Vorbonitur. In ‚Goldrush‘ wurde 1 % abgestoppter Befall gefunden, in ‚Topaz‘ 0,5 %. Trotzdem wurde der Versuch begonnen, da der Befall in dieser Anlage im allgemeinen von den umliegenden Streuobstbäumen stammt. Um Lageunterschiede auszugleichen, wurde das in Abb. 2.50 dargestellte Versuchsdesign ausgewählt.

Die Ausbringung der Trichogrammen erfolgte am 17.7. und am 1.8. 2012 (Abb. 2.52). Die Spritzung wurde wie bereits beim Versuch Rheinland-Pfalz beschrieben durchgeführt. Ausgebracht wurden jeweils ungefähr 2 Mio Trichogrammen pro ha. Die *Trichogramma*-Karten wurden an der Sorte Goldrush jeden 8. Baum und gegenläufig aufgehängt, bei den anderen Sorten parallel dazu.

Ausgewertet wurden am 18.9.2012 frische Einbohrstellen der zweiten Generation.

Tab. 2.21: Fruchtbefall an der Erntebonitur vom 18.9.2012 im *Trichogramma*-Versuch in Süddeutschland

Sorte	Variante	Position	Anzahl ausgewerteter Bäume	Einbohrstellen gesamt	lebende Larven
Topaz	Spritzung	Vorne	5	16	10
	Kontrolle	Mitte	5	16	11
	Karten	Hinten	5	10	5
Florina	Spritzung	Hinten	5	8	3
	Karten	Mitte	5	13	8
	Kontrolle	Vorne	5	15	7
Goldrush	Karten	Vorne	12	16	14
	Spritzung	Mitte	12	20	14
	Kontrolle	Hinten	12	48	34

Insgesamt war der Befall nicht besonders hoch. An Goldrush erlaubt der Befall von 4 Früchten pro Baum zumindest eine tendenzielle Aussage (Tab. 2.21). Hier kann für die *Trichogramma*-Karten ein Wirkungsgrad von 66,6 % und für die Spritzung von 58,3 % errechnet werden. Bei Florina ist bei einem wesentlich niedrigeren Befall für die Spritzung eine gewisse ähnliche Tendenz erkennbar, bei Topaz ist bei geringem Befall nur bei den Karten ein sehr schwacher Effekt erkennbar.

Über alle Sorten hinweg lässt sich für die Ausbringung mit Karten ein Wirkungsgrad von 50,6 % berechnen, für die Ausbringung als Spritzung ein Wirkungsgrad von 44,3 %. Dies

entspricht ungefähr dem Potential, das eine *Trichogramma*-Ausbringung auf jeden Fall haben sollte. Das Ergebnis ist jedoch aufgrund der Varianzen zwischen den Sorten relativ schlecht abgesichert. Generell lag die Spritzung bei den grossen Bäumen und dem lückigen Bestand etwas besser als die Tricho-Karten, die sich am besten bei Spindeln bewährten.

Diskussion

Aufgrund des niedrigen Befalls sind die Ergebnisse nicht wirklich absicherbar. Trotzdem zeigte sich in der Tendenz, dass die Karten der Spritzung in praxisüblichen Spindelanlagen eher nicht unterlegen sind. Das Interesse der Betriebsleiter ist im Moment vor allem auf eine wenig umständliche zusätzliche Regulierungsmöglichkeit für hot-spots beim Befall fokussiert. Diesem Wunsch entspricht am besten die Ausbringung mit Karten da sich für kleinere Flächen der Arbeitsaufwand zur Umrüstung der Spritze nicht lohnt. Daher sollten im Folgejahr mit dieser Ausbringungsart noch mehr Erfahrungen gesammelt werden, um die Wirkungssicherheit einzuschätzen. Die Wirkungsdauer sollte so möglich erhöht werden.

2.6.3 Freilandversuche zur Ausbringung von *Trichogramma*-Schlupfwespen im Jahr 2013

In diesem Versuchsjahr wurden nur noch Tricho-Karten im Freiland getestet.

Standort Niederelbe

Im Jahr 2013 wurde der Versuch zum Einsatz von *Trichogramma evanescens* in einer ökologisch bewirtschafteten Apfelanlage der Sorte `Holsteiner Cox` durchgeführt. Die Versuchsanlage (4 Reihen) befindet sich ebenfalls im Alten Land (Mittelnkirchen) und wurde als Blockversuch, bestehend aus einer unbehandelten Kontrollparzelle und einer *Trichogramma*-Parzelle, eingerichtet. Am 24.07.2013 wurden einmalig insgesamt 70 Tricho-Karten in den Bäumen ausgehängt, wobei an jeden achten Baum einer Reihe versetzt zueinander eine Karte befestigt worden ist (Abb. 2.53).



Abb. 2.53: Versuchsaufbau Trichogramma am Standort Mittelnkirchen, 2013

Eine erste Fruchtbonitur zur Bewertung des Apfelwicklerbefalls in der Versuchsanlage wurde am 16.07.2013 durchgeführt. Weitere Bonituren mit je 1000 Früchten pro Variante erfolgten nach dem Einsatz von *Trichogramma evanescens* am 15.08. und 11.09.2013.

Ergebnisse

Der Befall in der Versuchsanlage war so niedrig, dass eine Aussage kaum möglich ist. Tendenziell war der Befall in der *Trichogramma*-Variante etwas geringer (Abb. 2.54).

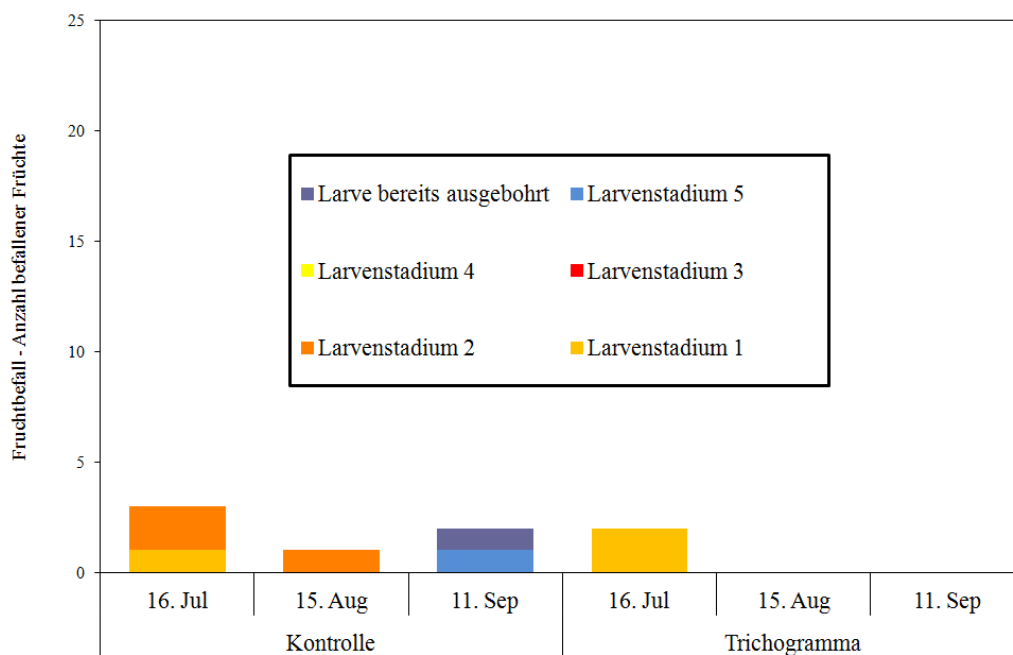


Abb. 2.54: Fruchtbefall auf 1000 Früchten im *Trichogramma*-Versuch an der Niederelbe im Jahr 2013

Standort Rheinland-Pfalz

Im Jahr 2013 wurde erneut in Neustadt a.d. Weinstraße in der Sorte Braeburn ein Versuch zur Bekämpfung der zweiten Generation des Apfelwicklers mit Hilfe von *T. evanescens* durchgeführt. Die unbehandelte Kontrolle wurde mit der Ausbringung von TrichoKarten verglichen (Tab.2.22; Abb. 2.55).

Tab. 2.22: Versuchsvarianten *T. evanescens*, Neustadt a. d. Weinstraße 2013

Variante	
1	Kontrolle
2	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte

Für den Versuch standen zehn Reihen der Sorte Braeburn mit jeweils 72 Bäumen pro Reihe zur Verfügung (Abb. 2.54). In den ersten vier Reihen befand sich die erste und zweite Wiederholung und in den Reihen 7-10 die dritte und vierte Wiederholung. Reihe 5 und 6 dienten als Puffer zwischen den Wiederholungen. Die vier Reihen wurden jeweils gleichbehandelt und die mittleren zwei standen zur Auswertung zur Verfügung (Abb. 2.56).



Abb. 2.55: Versuchsanlage *Trichogramma*, Neustadt 2013

Abb. 2.55 und 2.56 zeigen die Versuchsanlage sowie die Lage der einzelnen Varianten innerhalb der Anlage.

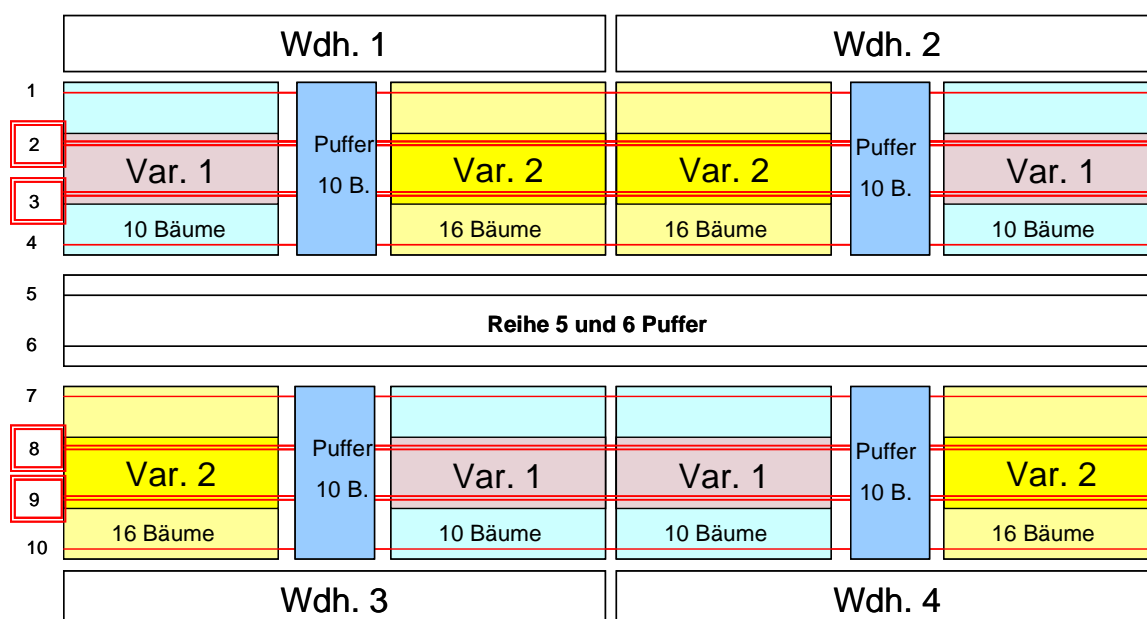


Abb. 2.56: Lage der Versuchsvarianten, *Trichogramma*, Neustadt 2013

Im Versuch wurden *Trichogramma evanescens* Karten mit jeweils 3000 parasitierten Getreidemotteneiern in unterschiedlichen Entwicklungsstadien verwendet (Abb. 2.57), deren Aufhängung an jedem achtem Baum erfolgte. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die TrichoKarten versetzt aufgehängt wurden (Reihe 1: 1, 8 und 15 Baum, Reihe 2: 4, 11 Baum, Reihe 3: 1, 8 und 15 Baum usw.). Insgesamt erfolgten drei Aufhängung am 31.07., 14.08. und 28.08.2013.



Abb. 2.57: *Trichogramma evanescens*-Karte

Die Befallsbonitur fand am 26.09.2013 statt (Ganzbaumbonitur von jeweils 20 Bäumen pro Wiederholung = insgesamt 80 Bäume pro Variante). Befallene Äpfel wurden zur Bestimmung des Larvenstadiums aufgeschnitten und nach dem gleichen Schema wie bei den bereits beschriebenen Versuchen bestimmt. Allerdings wurde hier zwischen Altbefall (1. Generation) und Neubefall (2. Generation) unterschieden.

Am Standort Neustadt fiel der Flugverlauf des Apfelwicklers zur 1. Generation mit einem Maximum von 44 Faltern deutlich höher aus als zur 2. Generation. Im August konnten in der Falle lediglich zwischen 6 und 13 Apfelwickler gezählt werden (Abb. 2.58).

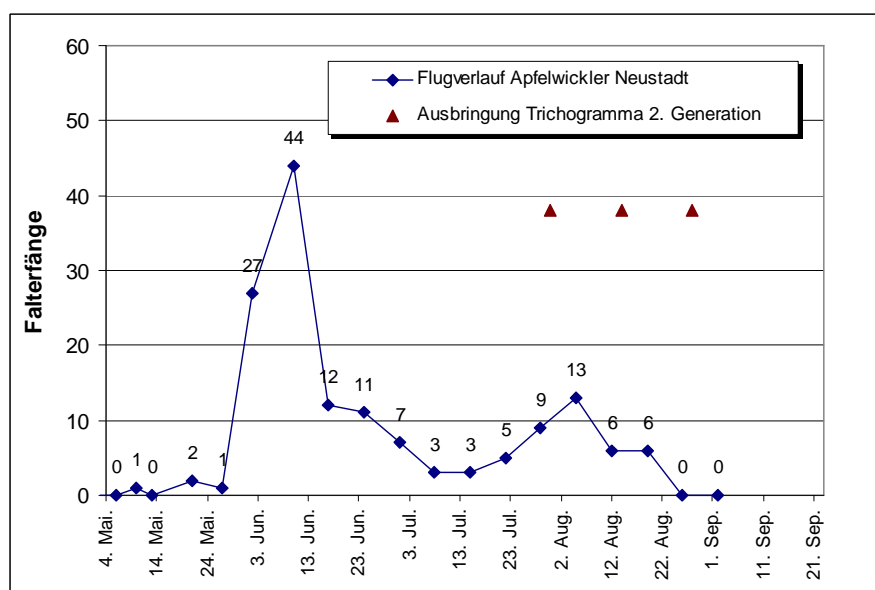


Abb. 2.58: Flugverlauf des Apfelwicklers und Ausbringungstermine der TrichoKarten am Standort Neustadt, 2013

Bei der Erntebonitur am 26.09.2013 wurde in der unbehandelten Kontrolle ein Apfelwicklerbefall von 2,71 % ermittelt (Abb. 2.59). In der Variante in der die TrichoKarten aufgehangen wurden, fiel der Befall mit 2,47 % nur geringfügig niedriger aus, so dass der Wirkungsgrad lediglich 8,8 % betrug. Im Hinblick auf die Larvenstadien bzw. die abgestoppten Fraßstellen sind zwischen den beiden Varianten keine Unterschiede erkennbar (Abb. 2.60).

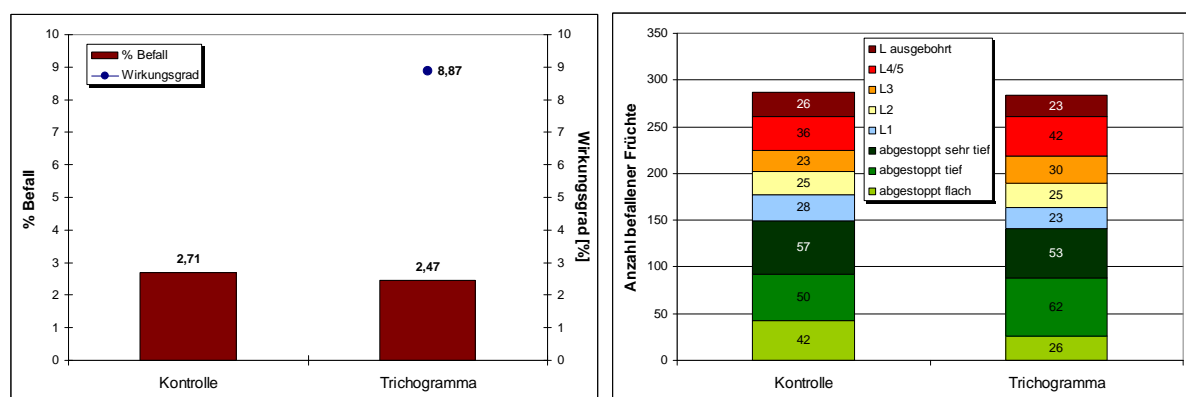


Abb. 2.59 und 2.60: Prozentualer Befall und Wirkungsgrad bzw. Ergebnisse der Fruchtbonitur am 26.09.2013 an der Sorte Braeburn am Standort Rheinland-Pfalz

Standort Süddeutschland

Am Standort Süddeutschland wurde eine Anlage mit drei Reihen der Sorte Goldrush genutzt, die erfahrungsgemäss in der zweiten Generation Befall durch angrenzende Streuobstbäume aufweist. Es wurden jeweils drei Wiederholungen mit jeweils 30 (Kontrolle) bzw. 24 (*Trichogramma*) Bäumen pro Reihe angelegt. Die Ausbringung der Tricho-Karten erfolgte an jedem 8. Baum kurz vor Beginn der simulierten Eiablage im Modell und danach ein zweites Mal im Abstand von ca. 14 Tagen. Ausgewertet wurde kurz vor Ernte der späten Sorte Goldrush im September. Pro Parzelle wurden 11 Bäume in der mittleren Reihe komplett ausgewertet (ca. 1000 Früchte pro Parzelle).

Im Modell (Abb. 2.61) ist eine Eiablage vom 29.7. bis Mitte August prognostiziert, in der Realität hielt die Eiablage wahrscheinlich etwas länger an, da auch bei der Erntebonitur noch L1 und L2 gefunden wurden.

In Abb. 2.62 ist die Anzahl frischer Einbohrungen in den einzelnen Wiederholungen und im Durchschnitt über die Wiederholungen dargestellt. Es zeigt sich eine sehr starke Variabilität der Ergebnisse. Während bei der 1. und 2. Wiederholung eine gewisse Wirkung feststellbar war, ergab sich bei der dritten Wiederholung ein negativer Wirkungsgrad. Offensichtlich reichte auch der kurze Abstand der beiden Ausbringungen (14 Tage) und die relativ konzentrierte Eiablage nicht aus, um einen verlässlichen Effekt zu erzielen. Nur in einer Wiederholung (WH 1) wurde der Wirkungsgrad von 50 % erreicht, der für eine Praxisempfehlung als Minimum unerlässlich wäre.

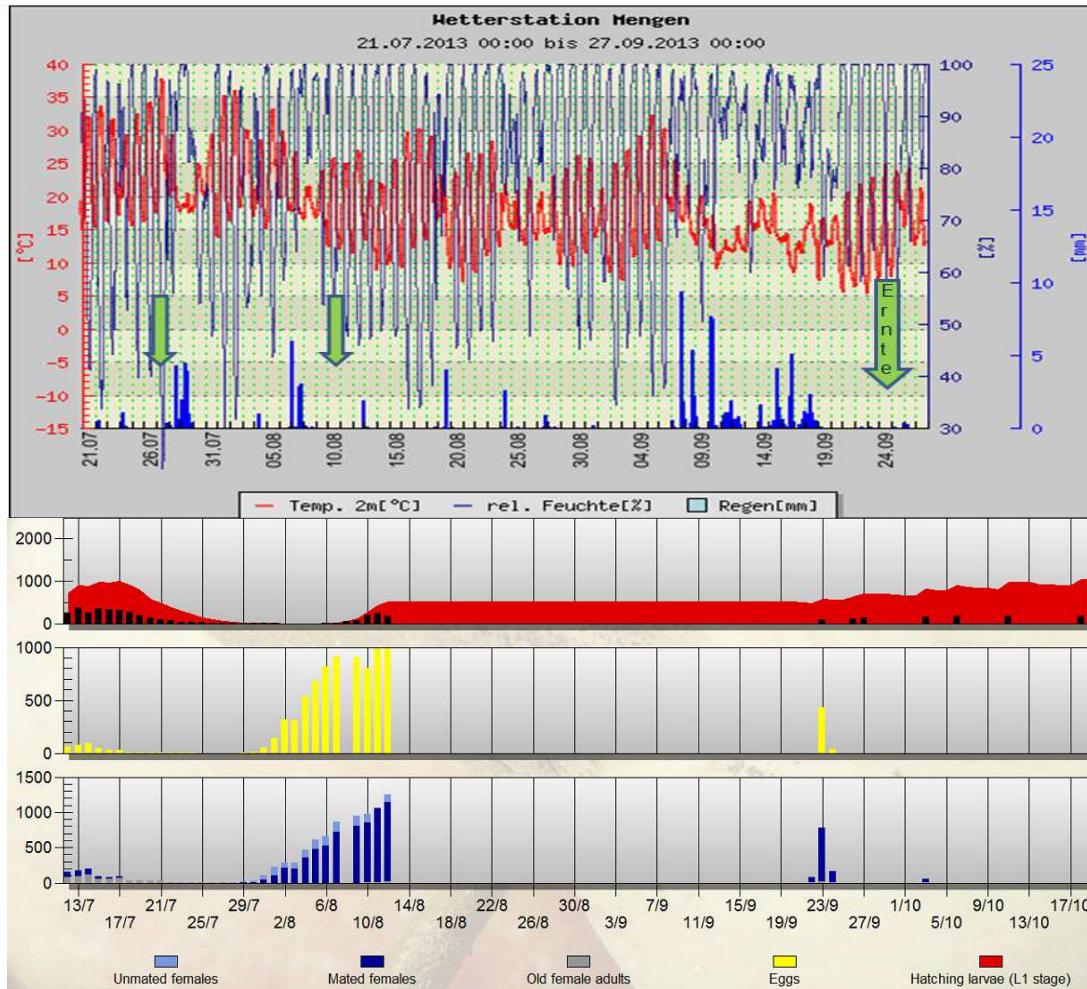


Abb. 2.61: Witterungsverlauf und Applikationstermine für die Tricho-Karten (grüne Pfeile) und Erntetermin sowie simulierte Termine der Eiablage und des Larvenschlupfs nach RIMProCydia am Standort Süddeutschland im Jahr 2013

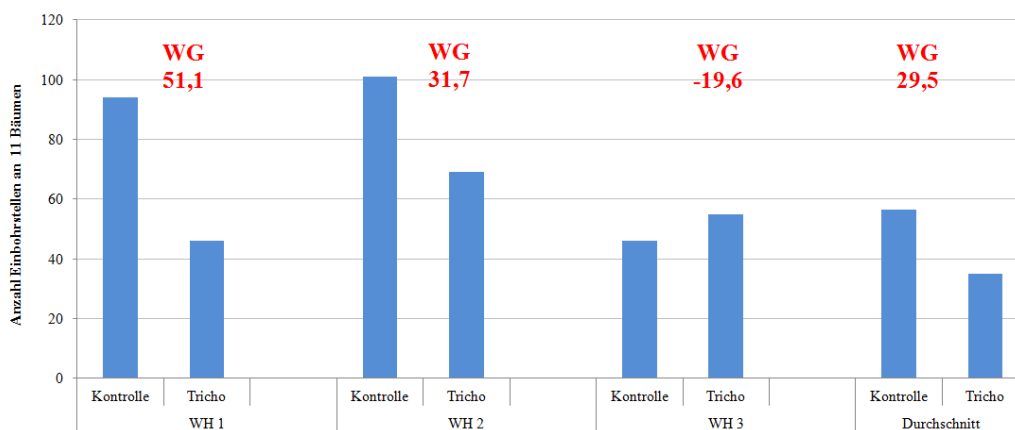


Abb. 2.62: Anzahl Einbohrstellen an 11 Bäumen pro Parzelle (jeweils alle Früchte ausgewertet) in der Variante mit Tricho-Karten (Tricho) und der unbehandelten Kontrolle sowie Wirkungsgrade nach Abbott in den einzelnen Wiederholungen und im Gesamtversuch (Durchschnitt) am Standort Süddeutschland im Jahr 2013.

2.6.4 Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von *Trichogramma evanescens* im Jahr 2011

Ziel dieser Versuche war es, die Dispersion in der Reihe und die „Wirkungsdauer“ von *Trichogramma evanescens* an klein- und großkronigen Bäumen bei Ausbringung mit Kärtchen und durch Spritzung zu untersuchen, um eine erste Einschätzung für eine Praxisempfehlung zu erarbeiten.

Der Versuch wurde in einer Obstanlage in Südbaden durchgeführt. In großkronigen Bäumen der Sorte Cybele wurde eine Parzelle gespritzt (86 g/ha), eine Parzelle wurde mit *Trichogramma*-Kärtchen á 3.000 Puppen jeden 8. Baum bestückt. In beiden Fällen handelte es sich um Material in unterschiedlichen Entwicklungsstadien. Eine Parzelle blieb unbehandelt. In einer angrenzenden Anlage mit der Sorte Cybele auf M9 mit kleinkronigen Bäumen wurde derselbe Versuch nochmals aufgebaut.

Da auch in der Kontrolle kein Befall zu verzeichnen war, konnte die Wirkung der Behandlungen auf den Apfelwicklerbefall nicht erfasst werden.

Um die Verteilung innerhalb der Reihe zu erfassen und die „Wirkungsdauer“ abzuschätzen wurden nach der Spritzung am 12.7.2011, am 22.7.2011 (nach 12 Tagen) und am 28.7.2011 (nach 19 Tagen) an jeweils 16 Bäumen in einer Reihe jeweils 2 Köderkärtchen pro Baum, eines im oberen und eines im mittleren Kronenbereich, ausgebracht, die mit frischen Mehlmotteneiern bestückt waren.

Um Prädation an Eiern durch Ameisen und Ohrwürmer zu verhindern, wurden die Eintrittsöffnung der Kärtchen so gering wie möglich gehalten. Nach einigen Tagen wurden die Köderkärtchen gewechselt und ins Labor verbracht. Die Anzahl Köderkärtchen, an denen parasitierte Eier gefunden wurden, wurde bei der Fa. AMW Nützlinge von den dortigen Fachkräften ausgewertet.

Da eine Prädation nicht vollständig vermieden werden konnte, wurden auch die Fraßschäden erfasst. In die Auswertung gingen nur Köderkärtchen ein, bei denen die Fraßschäden geringer als 50 % der ursprünglich vorhandenen Eier betragen. Von den 32 ausgebrachten Köderkärtchen pro Versuch waren dies meist nur wenige.

Ergebnisse und Diskussion

Von den 32 ausgebrachten Köderkärtchen pro Termin und Versuch wurden trotz der geringen Eintrittsöffnung viele stark parasitiert. Daher ist der Versuch nur begrenzt interpretierbar. Es zeigt sich aber auf jeden Fall, dass sowohl bei der Spritzung als auch bei den Kärtchen ca. zwei Wochen nach der Ausbringung noch *Trichogrammen* vorhanden waren während drei Wochen nach der Ausbringung keine Parasitierung mehr beobachtet werden konnte. Dies zeigt, dass auch bei Ausbringung unterschiedlicher Stadien sowohl bei Kärtchen als auch bei der Spritzung eine Wirkungsdauer von maximal drei Wochen angenommen werden kann. In den großkronigen Bäumen war die Auffinderate bei der Spritzung beim zweiten Termin eher

etwas schlechter, was ggf. auf eine verminderte Individuenzahl hinweisen könnte (Tab. 2.23). In beiden Varianten wurden innerhalb der ganzen Reihe Kärtchen parasitiert. Bei der Ausbringung in Kärtchen war keine auffällige Konzentration auf die Bäume, die mit Kärtchen behangen waren, festzustellen. Dies bestätigt das bereits in anderen Versuchen beobachtete gute Dispersionsverhalten von *T. evanescens*.

Tab. 2.23: Anzahl und Prozentualer Anteil gefundener Köderkärtchen bei klein- und großkronigen Bäumen zu verschiedenen Zeitpunkten (Tagen nach Applikation) nach Ausbringung von *T. evanescens* mittels Spritzung oder mit Köderkärtchen.

TnA	Aus- bringung	Kleinkronige Bäume			Großkronige Bäume		
		Anzahl gefundene Kärtchen	Anzahl Kärt. mit weniger als 50 % Prädations- schäden	Prozentsatz gefundene Kärtchen	Anzahl gefundene Kärtchen	Anzahl Kärt. mit weniger als 50 % Prädations- schäden	Prozentsatz gefundene Kärtchen
1-11	Kärtchen	4,0	11,0	36,4	8,0	26,0	30,8
	Spritzung	8,0	19,0	42,1	11,0	27,0	40,7
12-18	Kärtchen	11,0	27,0	40,7	7,0	26,0	26,9
	Spritzung	14,0	26,0	53,8	2,0	27,0	7,4
19 ff	Kärtchen	0,0	26,0	0,0	0,0	16,0	0,0
	Spritzung	0,0	18,0	0,0	0,0	16,0	0,0

Die verwendete Methode war weniger arbeitsaufwändig als ein künstlich herbeigeführter Befall mit Apfelwicklern. Allerdings war durch die hohe Prädation die Auswertung stark beeinträchtigt, so dass nur sehr begrenzt in zwei von vier bestückten Versuchen überhaupt Aussagen möglich waren. Die Versuche wurden daher mit künstlich herbeigeführtem Befall im Jahr 2012 wiederholt.

2.6.5 Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von *Trichogramma evanescens* im Jahr 2012

An der Universität Hohenheim wurden Versuche mit künstlichem Befall aufgebaut, um genaue Aussagen zu erhalten. Im Vordergrund stand der Vergleich zwischen Spritzung und Kartenausbringung der Trichogrammen an unterschiedlichen Baumformen sowie die Wirkungsdauer. Ausgebracht wurde in allen Fällen wie in den anderen Versuchen eine Mischung aus verschiedenen Altersstufen der *Trichogramma*-Puppen. Dabei sollte auch geklärt werden, wie lange die Wirkungsdauer einer solchen Mischung sein kann.

Der Versuch wurde im Versuchsquartier der Universität Hohenheim parallel an zwei Sorten durchgeführt: während es bei der Sorte Jonagold um grosse, sehr triebige und ausladende Kronen handelte, war die Sorte RubINETTE etwas kleiner und schwachwüchsiger. Allerdings waren auch hier viele Langtriebe zu beobachten (Abb. 2.63).



Abb. 2.63: Versuchsanlage in Hohenheim mit Rubinette (links) und Jonagold (rechts)

Das Versuchsdesign ist in Abb. 2.66 dargestellt. Die Anlagen wurden jeweils quer zu den Reihen in eine gespritzte und eine Parzelle mit Karten aufgeteilt. Die Karten wurden jeden 6. Baum ausgehängt.

Am 18.7.2012 wurden Trichogrammen gespritzt und die Karten ausgebracht.

Danach wurden an drei Terminen an jeweils 16 Bäumen an einer grösseren Astpartie je 2 Apfelwicklerpaare ausgebracht und mit Moskitotüll eingenetzt (Abb. 2.64). Die Apfelwickler wurden 1-3 Tage im Netz belassen, bis genügend Eier gelegt wurden. Anschliessend wurden sie freigelassen und der Tüll entfernt. Die Auswertung der Parasitierung erfolgte am Ast sobald die parasitierten Eier sich schwarz verfärbten.



Abb. 2.64: Ausbringung der Apfelwickler

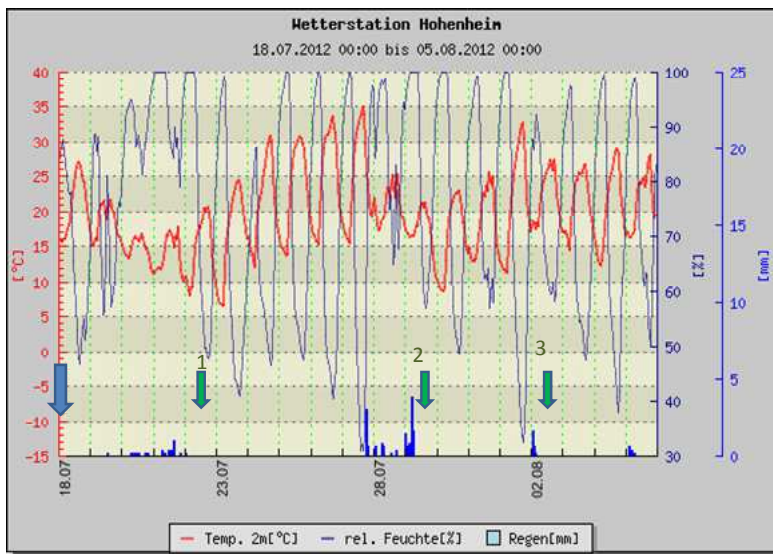
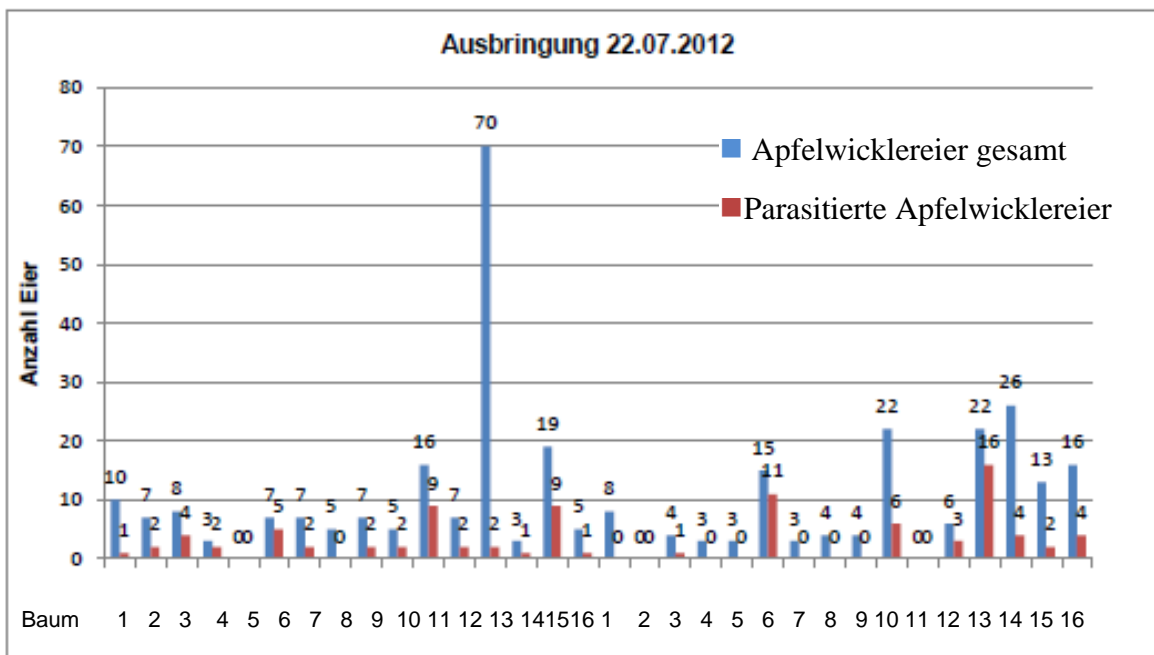


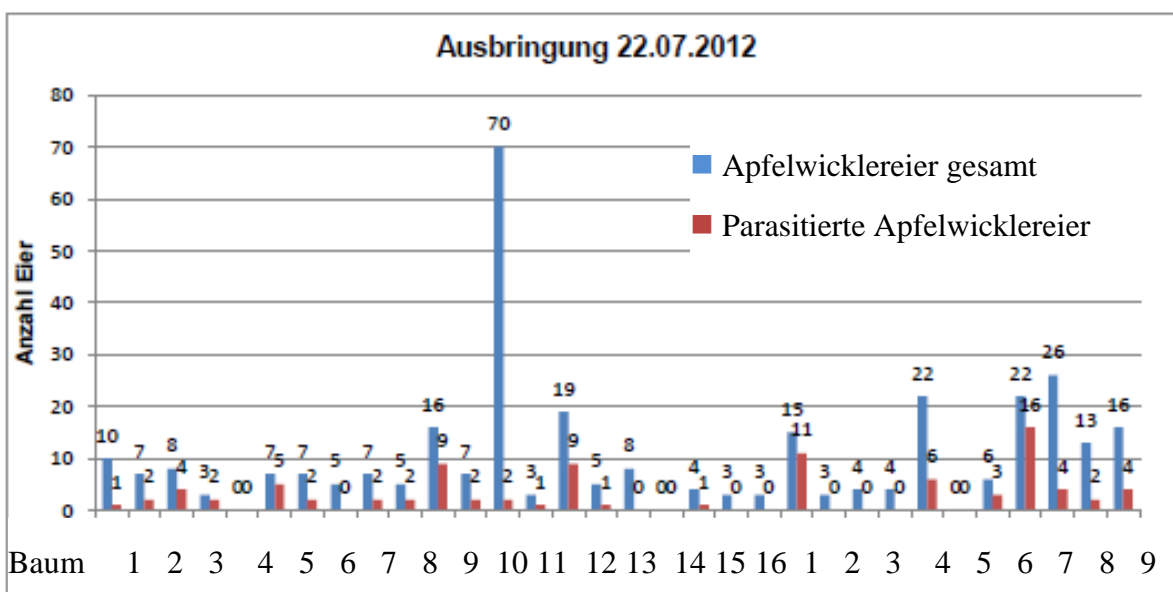
Abb. 2.65: Termine Ausbringung der Trichogrammen (blauer Pfeil, 18.7.2012) und der Apfelwickler (grüne Pfeile) sowie Niederschläge und Temperaturen im Versuch am Standort Hohenheim

		Block 2				Block 1				
		Merose	Rubinette	topaz	topaz	Jonagold	Jonagold	Jonagold	Jonagold	Isenepsch
Spritzung		64	64	64	64	32	32	32	32	32
		63	63	63	63	31	31	31	31	31
		62	62	62	62	30	30	30	30	30
		61	61	61	61	29	29	29	29	29
		60	60	60	60	28	28	28	28	28
		59	59	59	59	27	27	27	27	27
		58	58	58	58	26	26	26	26	26
		57	57	57	57	25	25	25	25	25
		56	56	56	56	24	24	24	24	24
		55	55	55	55	23	23	23	23	23
		54	54	54	54	22	22	22	22	22
		53	53	53	53	21	21	21	21	21
		52	52	52	52	20	20	20	20	20
Karten		51	51	51	51	19	19	19	19	19
		50	50	50	50	18	18	18	18	18
		49	49	49	49	17	17	17	17	17
		[50]	[50]	[50]	[50]	[18]	[18]	[18]	[18]	[18]
		[49]	[49]	[49]	[49]	[17]	[17]	[17]	[17]	[17]
		48	48	48	48	16	16	16	16	16
		47	47	47	47	15	15	15	15	15
		46	46	46	46	14	14	14	14	14
		45	45	45	45	13	13	13	13	13
		44	44	44	44	12	12	12	12	12
		43	43	43	43	11	11	11	11	11
		42	42	42	42	10	10	10	10	10
		41	41	41	41	9	9	9	9	9
	40	40	40	40	8	8	8	8	8	
	39	39	39	39	7	7	7	7	7	
	38	38	38	38	6	6	6	6	6	
	37	37	37	37	5	5	5	5	5	
	36	36	36	36	4	4	4	4	4	
	35	35	35	35	3	3	3	3	3	
	34	34	34	34	2	2	2	2	2	
	33	33	33	33	1	1	1	1	1	
	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.	Baum Nr.

Abb. 2.66: Versuchsdesign für den Hohenheimer Versuch. Die Pfeile markieren die Reihen, in denen Apfelwicklereier ausgebracht wurden.



Sorte Jonagold

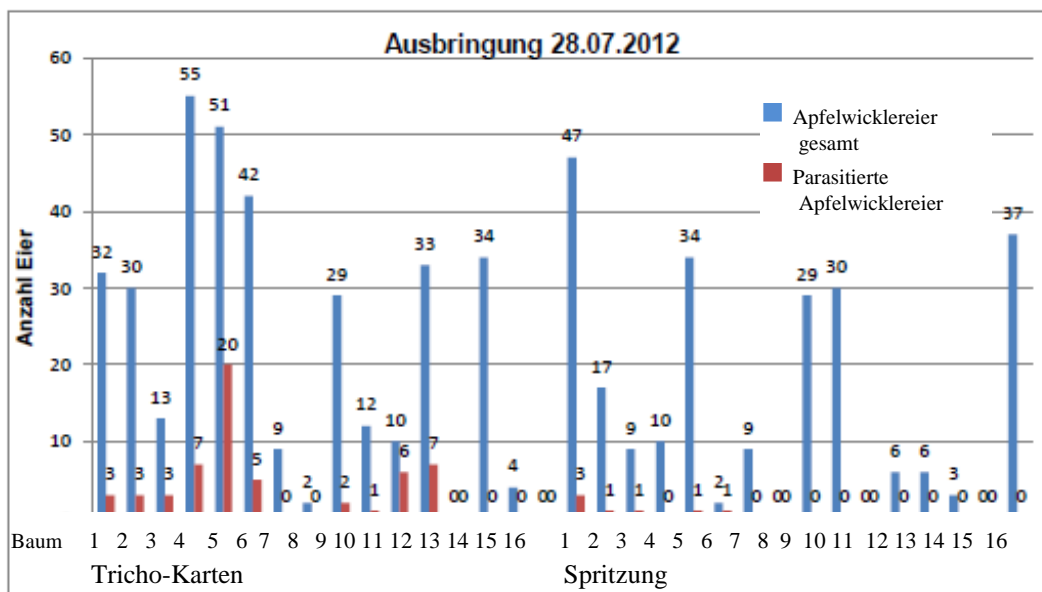


Sorte Rubinette

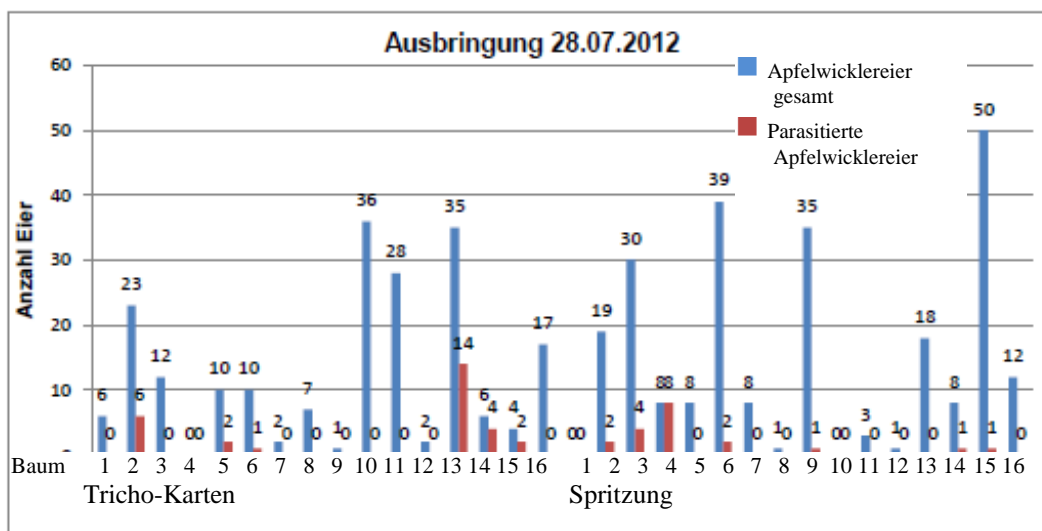
Abb. 2.67: Parasitierte und unparasitierte Apfelwicklereier an den beiden Sorten und den beiden Varianten am ersten Ausbringtermin (TnA 4-6) an jeweils 16 Bäumen an den Sorten Jonagold und Rubinette.

Während der Spritzung kam es zu einer kurzfristigen ungewollten Druckerhöhung bis auf ca. 10 bar in der Spritze. Dadurch wurde das Schlupfergebnis stark reduziert (nur ca. 20 % geschlüpfte Tiere) so dass der Vergleich der beiden Verfahren nur sehr bedingt erfolgen kann. Vier bis sechs Tage nach der Ausbringung wurden daher in der Karten-Variante deutlich mehr Eier parasitiert (Abb. 2.67). Die Ergebnisse ermöglichen trotzdem Aussagen über die Wirkungsdauer und auch die Verteilung der Parasitierung in der Parzelle mit den Karten.

Diese war über die ganzen 16 Bäume relativ gleichmässig verteilt und wies keine auffällige Konzentration auf die Bäume mit Karten (1, 6, 12) auf.



Sorte Jonagold



Sorte Rubinette

Abb. 2.68: Parasitierte und unparasitierte Apfelwicklereier an den beiden Sorten und den beiden Varianten am zweiten Ausbringungstermin (TnA 12-14) an jeweils 16 Bäumen an den Sorten Jonagold und Rubinette.

Etwa zwei Wochen nach der Ausbringung war in beiden Varianten nur noch eine recht geringe Parasitierung zu beobachten (Abb. 2.68). Diese konzentrierte sich aber bei der Kartenvariante nicht auf die Bäume mit Karten woran sich wiederum die gute Verteilung zeigt. Am dritten Ausbringstermin (TnA 16-18) konnte fast keine Parasitierung mehr gefunden werden.

Diskussion

Ein Vergleich von Karten zu Spritzung des geringen Schlupferfolgs durch die Druckerhöhung bei der Spritzung nicht möglich. Der Versuch zeigt jedoch eine sehr gute Verteilung der Trichogrammen bei der Kartenausbringung. Die Wirkungsdauer war jedoch auch bei Karten mit unterschiedlichen Stadien der Trichogrammen auf ca. 2 Wochen begrenzt. Da die Eiablageperiode des Apfelwicklers in der zweiten Generation im allgemeinen deutlich länger dauert, bedeutet dies zwei, ggf. sogar drei Ausbringungen. Dies ist aus Kostengründen völlig inakzeptabel.

Beim Projekttreffen wurde daher diskutiert, zur Verlängerung der Wirkung unparasitierte Eier der Dörrobstmotte in die Karten einzubringen, die dann von den ersten schlüpfenden Trichogrammen wiederum parasitiert werden. Dadurch könnte ggf. die Wirkungsdauer verlängert werden.

2.6.6 Untersuchungen zur Verteilung und „Wirkungsdauer“ von *Trichogramma evanescens* im Jahr 2013

Der Schwerpunkt der Versuche an der Universität Hohenheim lag im Jahr 2013 auf der Prüfung, ob eine Verlängerung der „Wirkungsdauer“ von *T. evanescens* durch Einlegen eines mit sterilisierten, unparasitierten *Sitotroga*-Eiern belegten Kärtchens in das Ausbringungskärtchen möglich ist. Die eingelegten Eier sollen von den ersten schlüpfenden Trichogrammen parasitiert werden, so dass die Schlupfperiode durch die aus diesen Eiern schlüpfenden Wespen verlängert wird.

Im Rahmen einer Bachelorarbeit an der Universität Hohenheim wurde die Parasitierung der *Sitotroga*-Eier untersucht.

In zwei Versuchsdurchgängen wurden jeweils 100 Trichokarten der Firma AMW Nützlinge in einer kleinen Apfelanlage an der Universität Hohenheim ausgehängt. Die Trichokarten waren jeweils mit 3.000 Getreidemotteneiern (*Sitotroga cerealella*) befüllt, die von *T. evanescens* so parasitiert wurden, dass diese verschiedene Altersstufen aufwiesen. Für den separaten Einschub wurde eine Vorlage auf DIN – A 4 Papier gedruckt, die später sowohl für die Trichokärtchen als auch für die Köderkärtchen verwendet wurde. Auf der Vorlage waren in gleichmäßigen Abständen jeweils gleichgroße Kreise abgebildet, die auf die passende Anzahl an Kreisen zurechtgeschnitten werden mussten. Für die Bestückung der Einschubkärtchen wurden frische unparasitierte *Sitotroga*-Eier verwendet, die von AMW Nützlinge geliefert wurden (Abb. 2.69).



Abb. 2. 69: Tricho-Karte mit Einlage von unparasitierten *Sitotroga*-Eiern

Nach dem Versuchsstart wurden 18 Tage lang, jeden Tag, fünf der bearbeiteten Karten von fünf verschiedenen Bäumen eingeholt. Der Versuch bestand aus zwei identischen Wiederholungen. Der erste Versuchsdurchgang wurde am 13.06.2013 vorbereitet und am 01.07.2013 beendet. Die Vorbereitung des zweiten Durchgangs fand am 04.07.2013 statt und endete am 01.08.2013. Die entnommenen Kärtchen wurden ins Labor gebracht, mit Hilfe einer Pinzette geöffnet, die Einschübe vorsichtig herausgelöst und unter dem Mikroskop auf schon geschlüpfte *Trichogrammen* untersucht. Falls geschlüpfte *Trichogrammen* vorhanden waren, wurden die Eier mit Schlupfloch gezählt und lebende Tiere entfernt. Danach erfolgte die Verbringung der Einschübe in Glasröhrchen mit Deckelverschluss, wo sie einzeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, verbracht. In diesen wurden sie bei Zimmertemperatur warm gelagert bis eine Parasitierung sichtbar wurde bzw. der Schlupf der ersten *Trichogramma* aus den parasitierten Eiern zu erwarten war oder erfolgte. Durch eine erneute Parasitierung durch schon geschlüpfte Insekten wäre der Parasitierungswert nicht aussagekräftig, daher erfolgte die Auswertung jeweils zum Zeitpunkt des Schlupfs der ersten *Trichogramma*. Dabei wurden die einzelnen Felder jeweils auf „gelbe“ unparasitierte und „schwarze“ parasitierte Eier ausgezählt. Im späteren Versuchsverlauf erfolgte noch eine Schlupfkontrolle der parasitierten Eier.

In der Versuchsanlage der Universität Hohenheim wurde ein Freilandversuch mit künstlichem Befall aufgebaut. Ziel des Versuchs war der Vergleich der „Wirkungsdauer“ von Trichogrammen mit und ohne Einschübe sowie weitere Beobachtungen zur Verteilung der Trichogrammen in der Baumreihe. Beobachtet werden sollte dies an verschiedenen Sorten mit simuliertem hohem und niedrigem Befall. Eine Versuchsanlage mit jeweils 60 Bäumen pro Reihe wurde dafür mittig in die beiden Varianten unterteilt.



Abb. 2.70: Simulation von starkem Befall (links) durch Aufhängen von 6 Früchten mit Apfelwicklereiern sowie von schwachem Befall durch Ausbringung von zwei Früchten pro Baum (Mitte) und Aufhängung und Markierung der Köderfrüchte (rechts) .

Für den künstlichen Befall wurden Köderfrüchte verwendet, die aus der Anlage entnommen und im Labor mit Apfelwicklereiern belegt wurden. Sie wurden mit Blumendraht am Baum befestigt und mit Wäscheklammern aus Holz markiert. Um starken bzw. niedrigen Befall zu simulieren wurden pro Baum jeweils 6 Früchte bzw. zwei Früchte aufgehängt. Die 6 Früchte wurden jeweils in der rechten und linken Baumhälfte in der oberen, mittleren und unteren Zone verteilt. Die beiden Früchte beim „schwachen Befall“ wurden an einer Seite des Baumes mittig und an einer Seite des Baumes oben aufgehängt (Abb. 2.70)

An der Sorte „Pinova“ wurde schwacher Befall simuliert und pro Variante (mit und ohne Einschübe) jeweils 16 Bäume ausgewertet (32 Köderfrüchte). Derselbe Versuch wurde an der Sorte Boskoop aufgebaut. An dieser Sorte erfolgte zusätzlich noch ein Versuch mit simuliertem starkem Befall. Dafür wurden jeweils 8 Bäume pro Variante mit insgesamt 48 Köderfrüchten bestückt.

Ergebnisse

Im Rahmen der Bachelorarbeit wurde beobachtet, dass die Parasitierung der Einschübe vor allem von Tag 2 bis Tag 4 nach Versuchsbeginn erfolgte und später nur noch wenig anstieg. Nicht alle Eier wurden parasitiert, die Parasitierungsrate lag um 60 %. Der Schlupf aus den Einschüben begann jeweils zwischen dem 12. und dem 14. Tag nach Versuchsbeginn (Abb. 2.71).

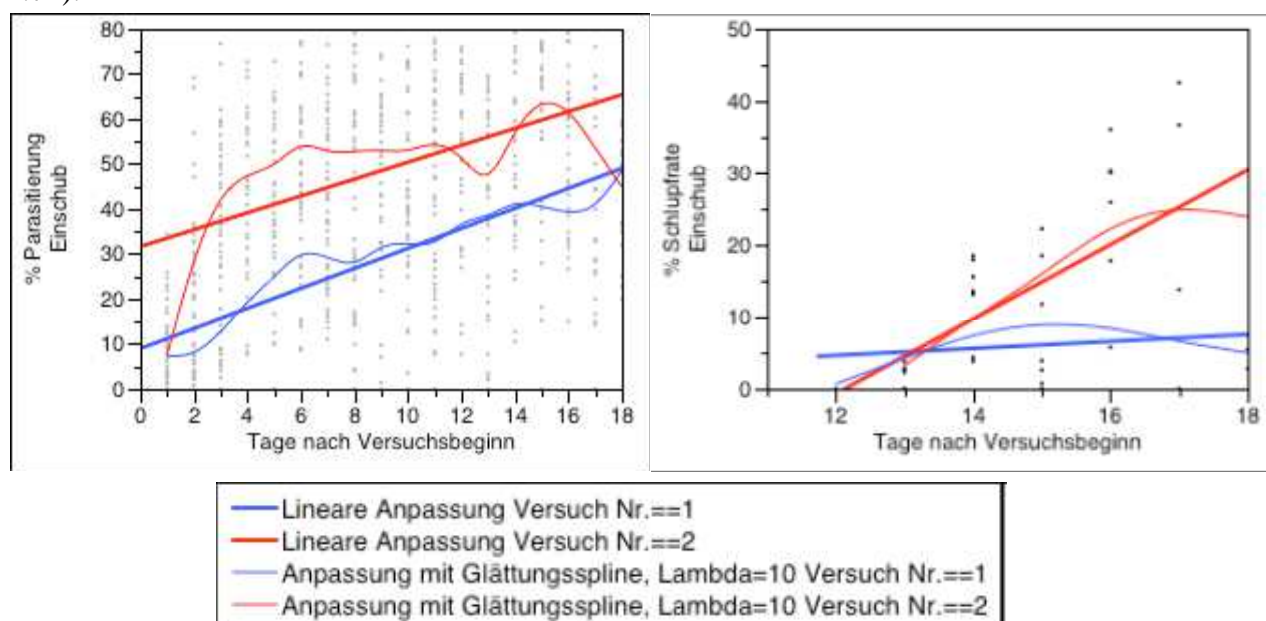


Abb. 2.71: Verlauf der Parasitierung (links) und des Schlupfes aus dieser Parasitierung in den Einschüben in den beiden Versuchen

Beim Freilandversuch mit künstlichem Befall wurden in den Varianten mit niedrigem simuliertem Befall zum ersten Ausbringungstermin der Köderfrüchte fünf Tage nach Ausbringung der Kärtchen fünf Tagen ungefähr gleichviele Köderfrüchte von den Trichogrammen gefunden (Abb. 2.72). In der Variante mit hohem Befall wurde in der Variante mit Einschüben bereits zu diesem Termin das 1,6 fache der Köderfrüchte wie in der Variante ohne Einschübe gefunden. Zwölf Tage nach Ausbringung ging die Auffinderate

bereits sehr stark zurück. In der Variante mit Einschüben wurde beim niedrigen Befall ungefähr doppelt so viele Köderfrüchte gefunden wie in der Variante ohne, mit 22 % war die Auffinderate jedoch insgesamt relativ gering. Auch beim hohen Befallsdruck wurde die insgesamt recht niedrige Auffinderate durch die Einschübe ungefähr verdoppelt (37 %) und lag damit etwas höher. Zu berücksichtigen sind hier allerdings die bereits am Anfang sichtbaren Unterschiede. 19 Tage nach Ausbringung der Kärtchen war die Auffinderate insgesamt sehr niedrig, in den Varianten mit Einschüben jedoch ungefähr doppelt so hoch wie in den Vergleichsvarianten.

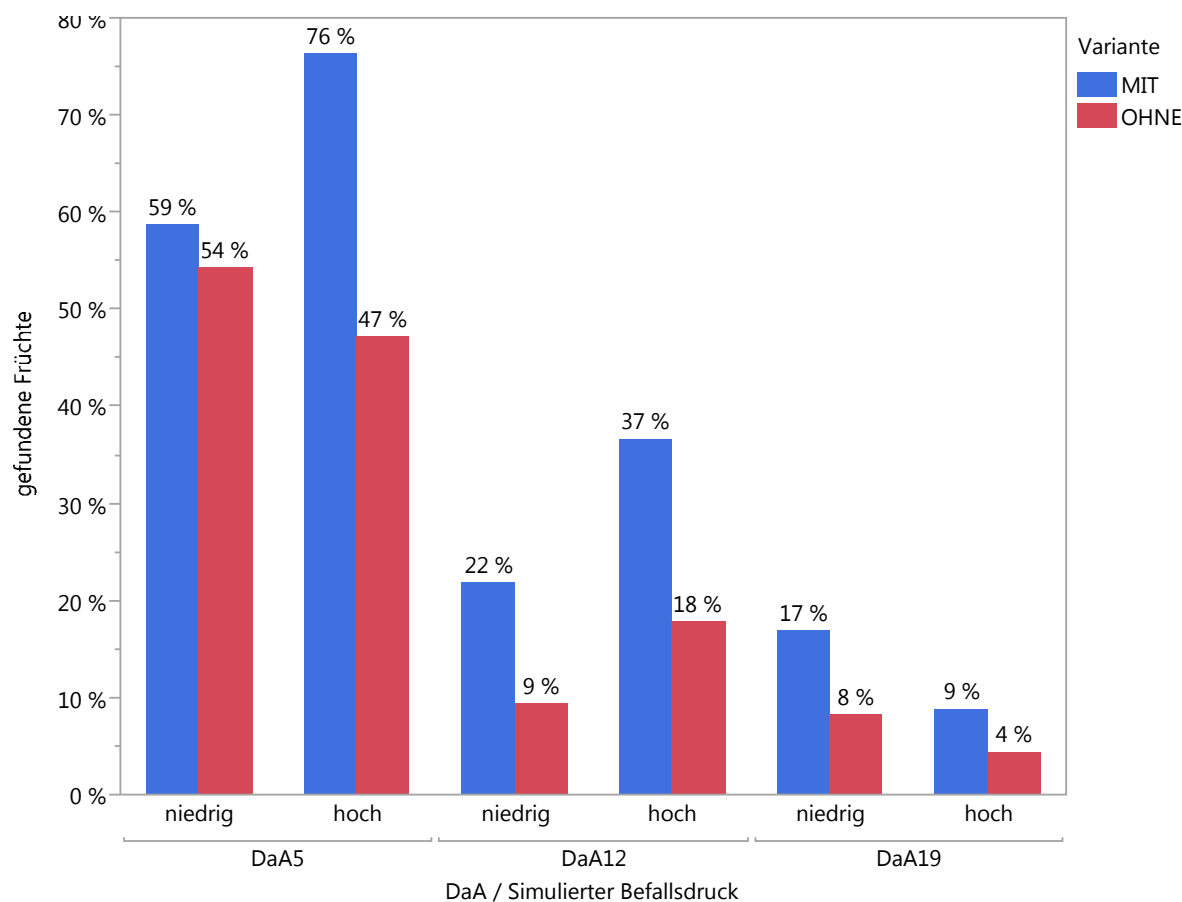


Abb. 2.72: Wirkungsgrad und Wirkungsdauer in Abhängigkeit vom simulierten Befallsdruck von tricho-Karten mit und ohne Einschübe.

Sowohl für den Freilandversuch als auch für die exakte Schlupfbeobachtung im Rahmen der Bachelorarbeit wurden die Temperatursummen für die Schwelle 10 ° C und 8 ° C berechnet (Tab. 2.24). Der Schlupfbeginn aus den Einschüben erfolgte bei der exakten Schlupfbeobachtung jeweils etwa nach 135 Gradtagen über 8 ° C bzw. 115 Gradtagen über 10 ° C. Ein vergleichbarer Wert wurde im Feldversuch an Tag 14 nach Ausbringung erreicht, so dass es plausibel ist, dass der Effekt der Einschübe beim zweiten Ausbringungstermin der Köderfrüchte an Tag 12 nach Versuchsbeginn sichtbar wurde.

Tab. 2.24: Vergleich der Temperatursummen zum Schlupfbeginn der Trichogrammen aus den Einschüben in der exakten Schlupfbeobachtung mit den Temperatursummen im Freilandversuch während des zweiten Ausbringungstermins der Köderfrüchte

Versuch	Tage nach Ausbringung (DaA)	T-summe > 8 °C	T-summe > 10 °C
V1 Exakte Schlupfbeobachtung, Schlupfbeginn	12	137	115
V2 Exakte Schlupfbeobachtung, Schlupfbeginn	12-13	134	112
Feldversuch HOH Termin 2 (Tag 12)	12	118	94,4
Feldversuch HOH Tag 14	14	134	108,6

In diesem Versuch wurden gleichzeitig auch verschiedene Parameter zur Verteilung der Trichogrammen untersucht.

Der Einfluss des **simulierten Befallsdrucks** auf die Auffinderate war am ersten Termin bei hoher Parasitierung nicht sichtbar, beim zweiten Termin war der Erfolg in der Variante mit hohem Befall höher, beim dritten Termin war es – allerdings bei sehr geringer Gesamtparasitierung – umgekehrt (Abb.2.73).

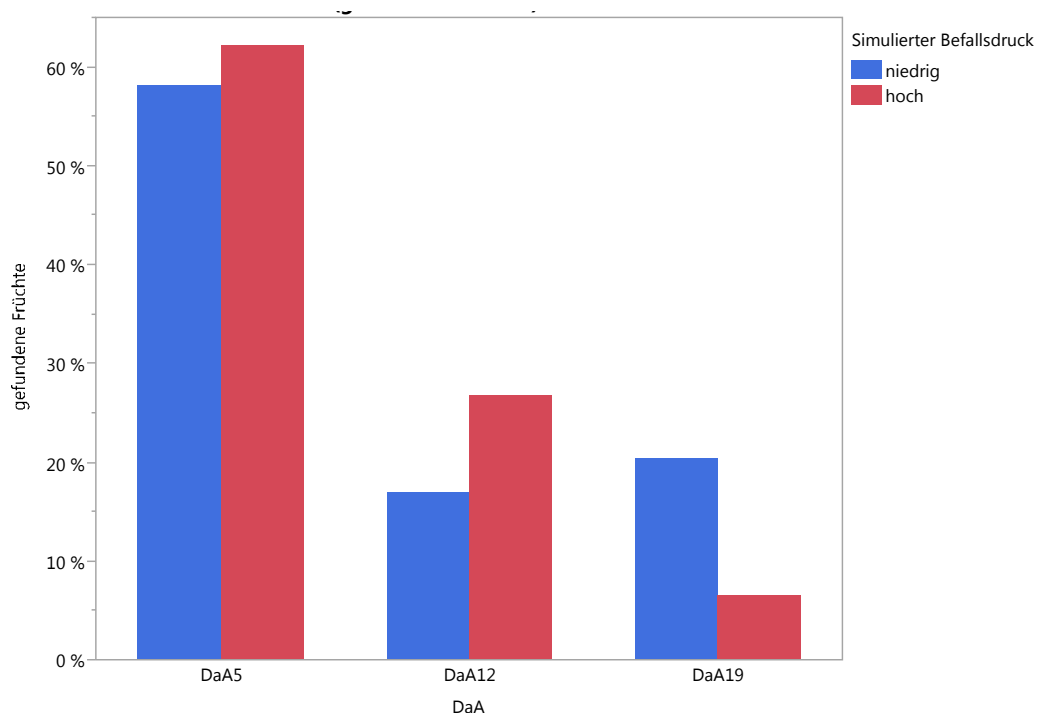


Abb. 2.73: Einfluss des simulierten Befallsdrucks auf den Prozentsatz der gefundenen Köderfrüchte an der Sorte Boskoop

Der Einfluss der Sorte konnte nur bei niedrigem Befallsdruck verglichen werden, war hier jedoch sehr gering (Abb. 2.74). Die Bäume der Sorte Pinova hatten eine etwas lichtere Krone als die Boskoop-Bäume, was jedoch von untergeordneter Bedeutung schien.

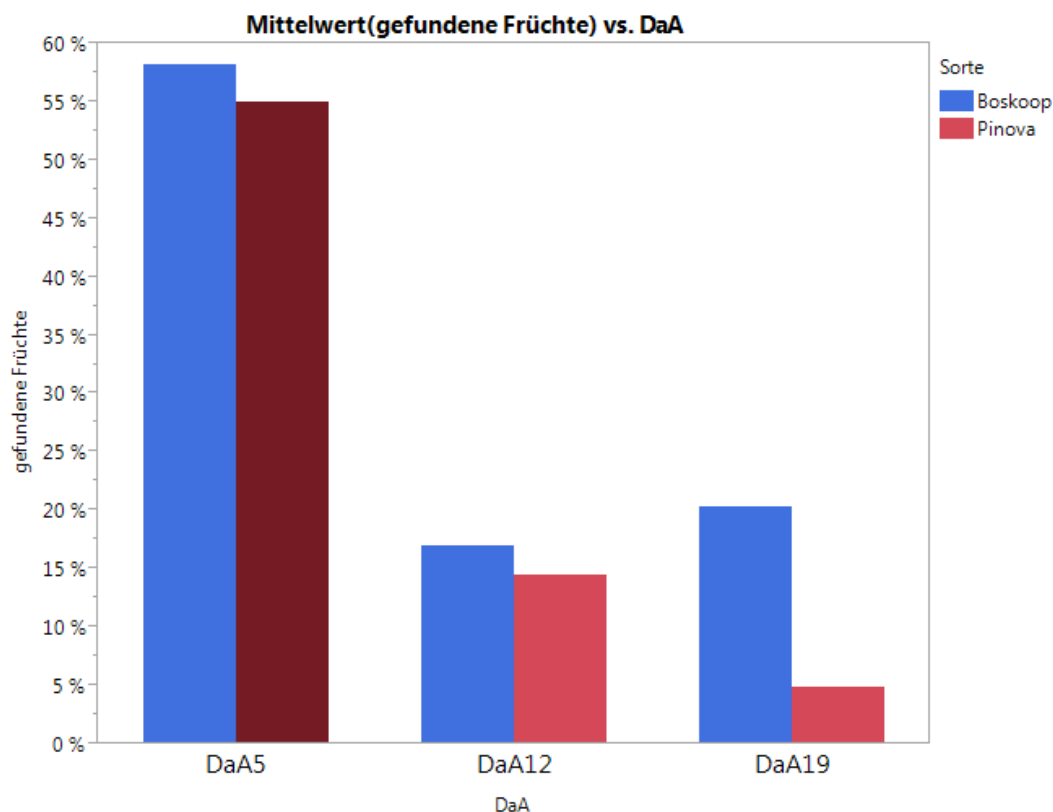


Abb. 2.74: Sortenunterschiede in der Anzahl der gefundenen Früchte zwischen Boskoop und Pinova bei niedrigem Befallsdruck

Die Verteilung in der Baumreihe ist in Abb. 2.74 dargestellt. In diesem Fall wurden am Ausbringungsbaum der Kärtchen durchschnittlich die meisten Köderfrüchte aufgefunden (Baum 0), dann kam es zu einem relativ starken Abfall der Auffinderate am Nachbarbaum. In der Mitte zwischen den Ausbringungsbäumen stieg die Parasitierung wieder an. Dies wurde auch schon in anderen Versuchen beobachtet (Wührer, 2010) und scheint wohl darauf zurückzuführen zu sein, dass die Kärtchen in der gegenüberliegenden Reihe alternierend aufgehängt werden, so dass den mittleren Bäumen in einer Reihe rechts und links jeweils Ausbringungsbäume gegenüberliegen. Beim ersten Ausbringungstermin der Köderfrüchte, wo wirklich einigermaßen hohe und daher auch aussagefähige Parasitierungsraten zu verzeichnen waren, fällt die Auffinderate der gefundenen Früchte von Baum 0 bis Baum 3 nur relativ wenig ab (Abb. 2.75).

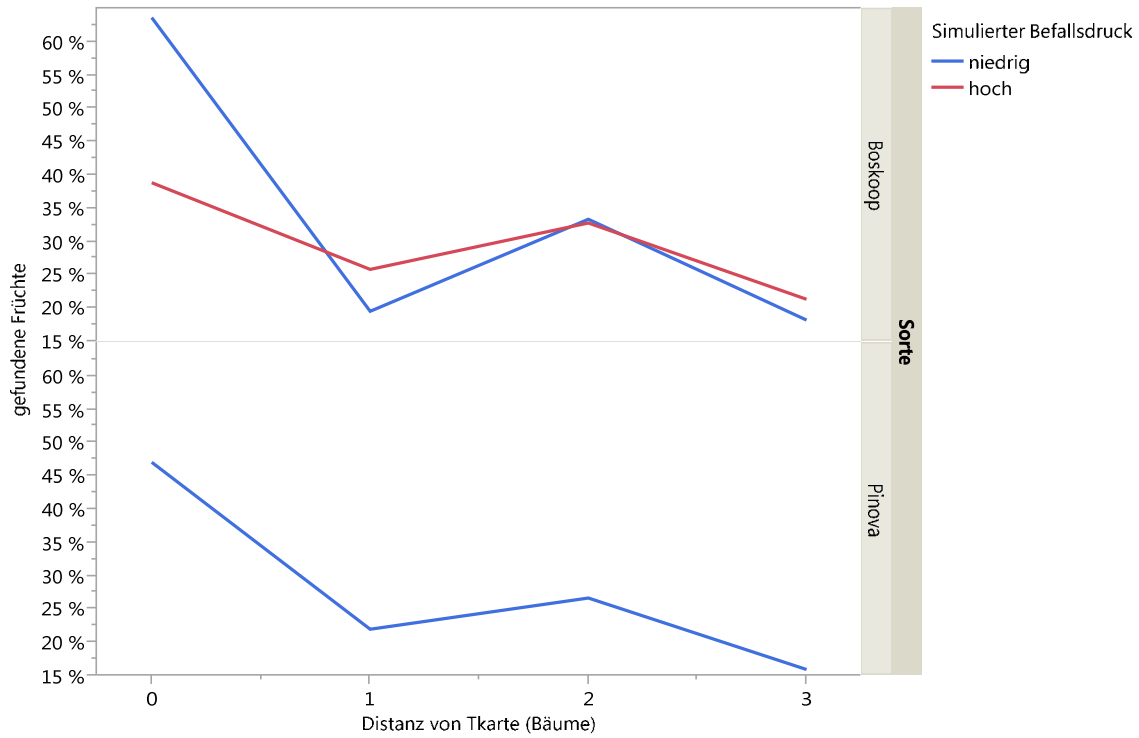


Abb. 2.75: Verteilung in der Baumreihe in Abhängigkeit von der Sorte und Befallsdruck

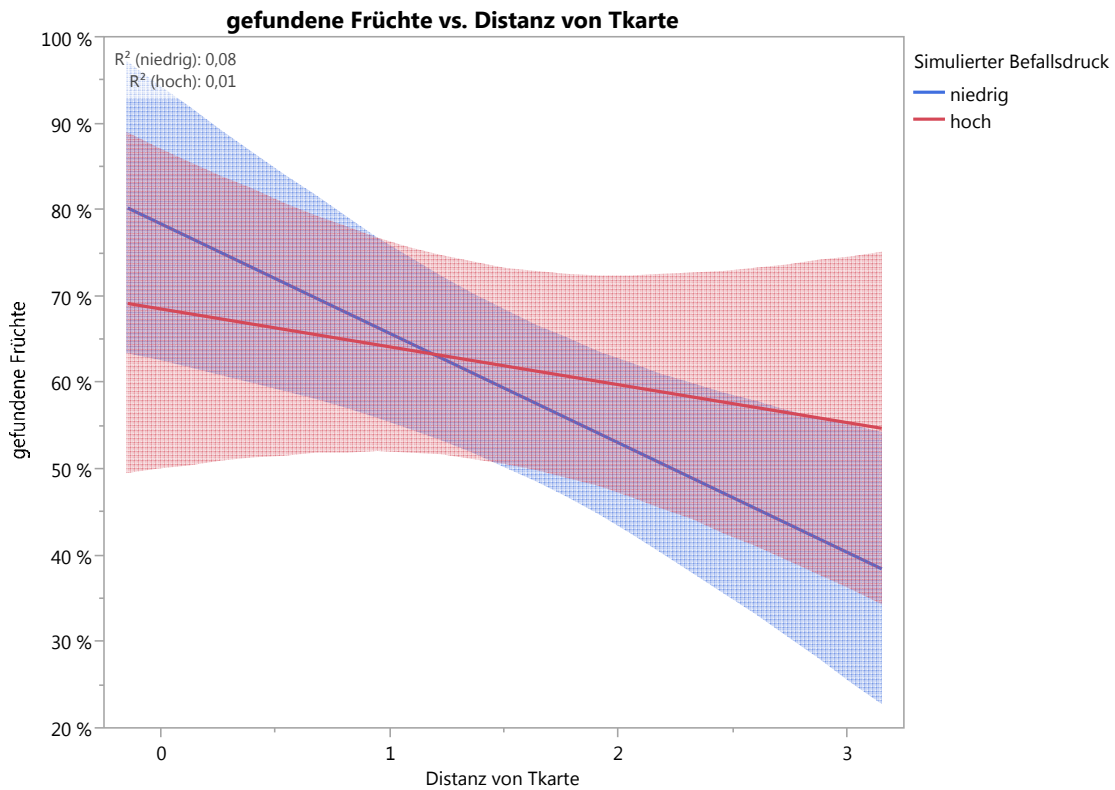


Abb. 2.76: Geradenanpassung für die Anzahl gefundener Früchte in Abhängigkeit von der Distanz vom Ausbringungsbäum der Tricho-Karten für den ersten Ausbringungstermin der Köderfrüchte (5 Tage nach Ausbringung der Karten) für die Varianten mit niedrigem und hohem simuliertem Befallsdruck

2.6.7 Diskussion und Schlußfolgerungen zum Potential von *Trichogramma*-Schlupfwespen

Der Einsatz von *Trichogramma*-Schlupfwespen würde prinzipiell einen sehr attraktiven zusätzlichen Baustein bei Befallsgefahr in der zweiten Generation darstellen. *Trichogramma*-Schlupfwespen sind Eiparasitoide, d.h. aus den parasitierten Apfelwicklereiern schlüpfen keine Larven mehr. Dadurch wird der Fruchtbefall effektiv verhindert. Auch wenn die möglichen Wirkungsgrade wohl nur um die 50 % liegen, ist dies bei einem späten Fruchtbefall immer noch attraktiv. Die Umstellung der Fungizidstrategie auf Mittel, die keinen Schwefel enthalten, der die Trichogrammen schädigt, wäre in den meisten Anlagen im August durchaus machbar.

Sowohl die Ausbringung mit dem Spritzverfahren als auch die Ausbringung mit Trichokarten an jedem 8. Baum in der Reihe waren grundsätzlich praktikabel und erbrachten meist vergleichbare Resultate. Da der Befallsdruck des Apfelwicklers insgesamt stark zurückgegangen ist, war das Verfahren vor allem für eine Herdbekämpfung interessant.. Versuche zur Verteilung der Trichogrammen in der Baumreihe zeigten für *T. evanescens* auch bei Kartenausbringung eine relativ gleichmäßige Parasitierung. In diesen Versuchen mit künstlichem Befall (Ausbringung von Apfelwicklereiern als Köder in verschiedenen Zeitabständen nach der Ausbringung) konnten jedoch auch die Schwierigkeiten des Verfahrens gezeigt werden: Auch wenn *Trichogramma*-Puppen unterschiedlichen Alters ausgebracht werden, sinkt die Parasitierung nach den ersten Tagen schnell. Die „Wirkungsdauer“ mit Wirkungsgraden um 50 % beträgt somit nur etwa eine knappe Woche und fällt danach stark ab. Damit erklärt sich auch die mangelnde Wirkungssicherheit in den Freilandversuchen. Im Jahre 2013 wurden erste interessante Ansätze zur Verlängerung der Wirkungsdauer untersucht. Diese müssen jedoch von der Firma noch weiter entwickelt und zur wirklichen Praxisreife gebracht werden bevor das Verfahren in der Praxis als Baustein empfohlen werden kann.

2.7 Zusätzliche Möglichkeiten für *Trichogramma evanescens* im Einsatz zur Regulierung des Pflaumenwicklers

Für eine erfolgreiche Praxiseinführung von *Trichogramma* ist es sehr wichtig, dass ein ausreichendes Marktsegment aufgebaut wird, das die Produktion von *T. evanescens* für die Firma attraktiv macht. Das Segment im Erwerbsobstbau würde sich für den Apfelwickler auf die zweite Generation, also den Zeitraum Juli/August konzentrieren. Um eine höhere Produktion über einen längeren Zeitraum möglich zu machen, wäre eine weitere Anwendung im Erwerbsobstbau im Juni/Juli sinnvoll. Hier bietet sich die zweite Generation des Pflaumenwicklers an. Im Projekt Nr 06OE198 wurden hierzu erste Versuche durchgeführt, die sehr unausgeglichene Ergebnisse zeigten. Von einzelnen Praxisbetrieben wird das Verfahren auch praktiziert. Um hier den Datenpool an Versuchen zu erhöhen und mehr Sicherheit in der Beurteilung der Eignung des Verfahrens zu gewinnen sollten weitere Freilandversuche durchgeführt werden. Getestet werden sollte die Ausbringung der Karten, da die momentane Nachfrage der Betriebe sich auf hot-spot-Management auf kleineren

Parzellen, wo die Verwirrungsmethode nur unzureichend wirksam ist, beschränkt. Hier ist eine Spritzung meist zu arbeitsaufwändig. Im Jahr 2013 wurden daher an den Standorten Rheinland-Pfalz und Süddeutschland zusätzlich Versuche zur Regulierung des Pflaumenwicklers mit *T. evanescens* durchgeführt. Am Standort Rheinland-Pfalz wurden Anwendungen gegen die erste und zweite Generation getestet und zusätzlich ein Vergleich mit *Trichogramma cacoeciae* durchgeführt. In Süddeutschland wurden drei Versuche zur Ermittlung der Wirkung gegen die zweite Generation aufgebaut.

Standort Rheinland-Pfalz

Versuch 1 (Vergleich Anwendung gegen eine Generation und gegen beide) wurde in einer Zwetschenanlage mit verschiedenen Sorten in Grafschaft durchgeführt. Die unbehandelte Kontrolle wurde mit einer Kartenaufhängung zur ersten und zweiten (sechs Termine) bzw. nur zur zweiten Generation (drei Termine) verglichen (Tab. 2.25, Abb.2.77).

Tab. 2.25:: Varianten im Versuch 1 zur Regulierung des Pflaumenwicklers am Standort Rheinland-Pfalz

Variante	
1	Kontrolle
2	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte 1. und 2. Generation
3	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte 2. Generation

Für den Versuch stand eine Anlage mit elf Reihen und verschiedenen Sorten zur Verfügung (Abb. 2.76). Die Varianten wurden zufallsverteilt angeordnet und vierfach wiederholt. Es wurden jeweils immer drei Reihen gleichbehandelt (Abb. 2.77). Um Randeinflüsse auszuschließen wurden nur die mittleren Reihen ausgewertet (Reihe 3 und 7, Sorte: 'Ortenauer'). Pro Baum wurde eine TrichoKarte ausgehängen. Insgesamt erfolgten 6 Aushängungen in der Variante 2 bzw. 3 in der Variante 3 (Tab. 2.26).

Tab. 2.26: Ausbringungstermine der TrichoKarten im Versuch 1 am Standort Rheinlad Pfalz

Variante 2	Variante 3
12.06.2013	---
27.06.2013	---
11.07.2013	---
25.07.2013	25.07.2013
07.08.2013	07.08.2013
23.08.2013	23.08.2013



Abb. 2.77: Versuchsanlage in Versuch 1 am Standort Rheinland-Pfalz

Abb. 2.77 und 2.78 zeigen die Versuchsanlage sowie die Lage der einzelnen Varianten innerhalb der Anlage.

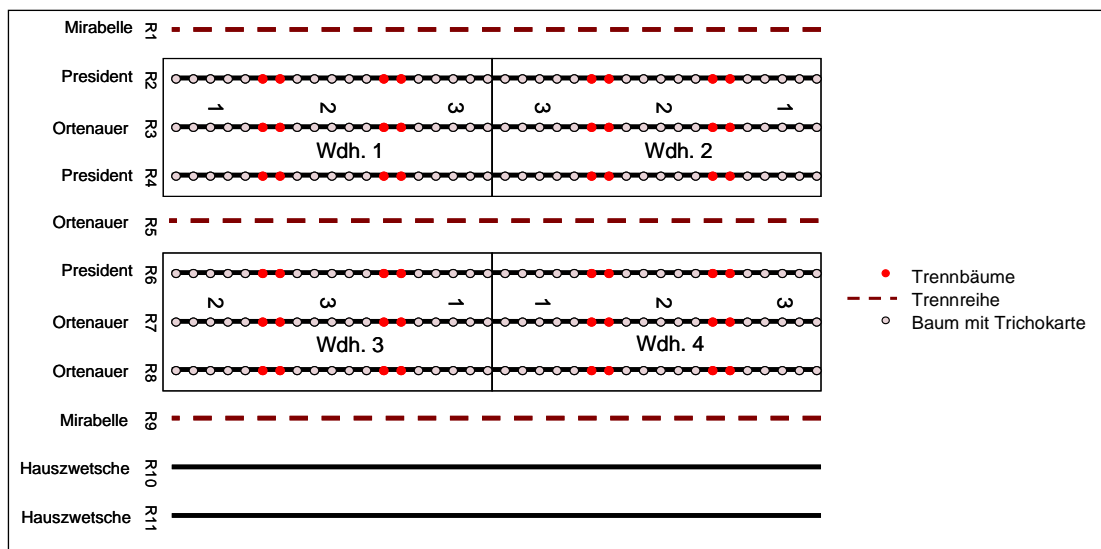


Abb. 2.78: Lage der Versuchsvarianten in Versuch 1 am Standort Rheinland-Pfalz: 1. Kontrolle, 2. *Trichogramma evanescens* 1. + 2. Generation, 3. *Trichogramma evanescens* 2. Generation

Zur Ermittlung des Fruchtbefalls wurden am 06.09.2013 pro Variante ca. 1000 Früchte aufgeschnitten und auf das Vorhandensein von Pflaumenwicklerlarven kontrolliert.

Versuch 2 (Vergleich von *T. vanescens* und *T. cacoeciae* gegen die 2. Generation des Pflaumenwicklers) wurde in der Sorte Hauszwetsche ebenfalls in Grafschaft durchgeführt. (Tab. 2.27, Abb. 2.79).

Tab. 2.27: Versuchsvarianten im Versuch 2 am Standort Rheinland-Pfalz

Variante	
1	Kontrolle
2	<i>Trichogramma evanescens</i> Karte 2. Generation
3	<i>Trichogramma cacoeciae</i> Karte 2. Generation

Für den Versuch stand eine Anlage mit elf Reihen der Sorte 'Hauszwetsche' zur Verfügung. Abb. 2.78 gibt die genaue Lage der Varianten wieder. Insgesamt wurden die TrichoKarten in fünf Reihen ausgehängt. Die mittleren drei Reihen standen für die Auswertung zur Verfügung. Sowohl Kontrolle als auch die behandelten Varianten wurden dreifach wiederholt, wobei eine Reihe als eine Wiederholung zählte. In den Variante 2 und 3 erfolgten insgesamt drei Ausbringungen der TrichoKarten am 25.07., 07.08. und 23.08.2013.

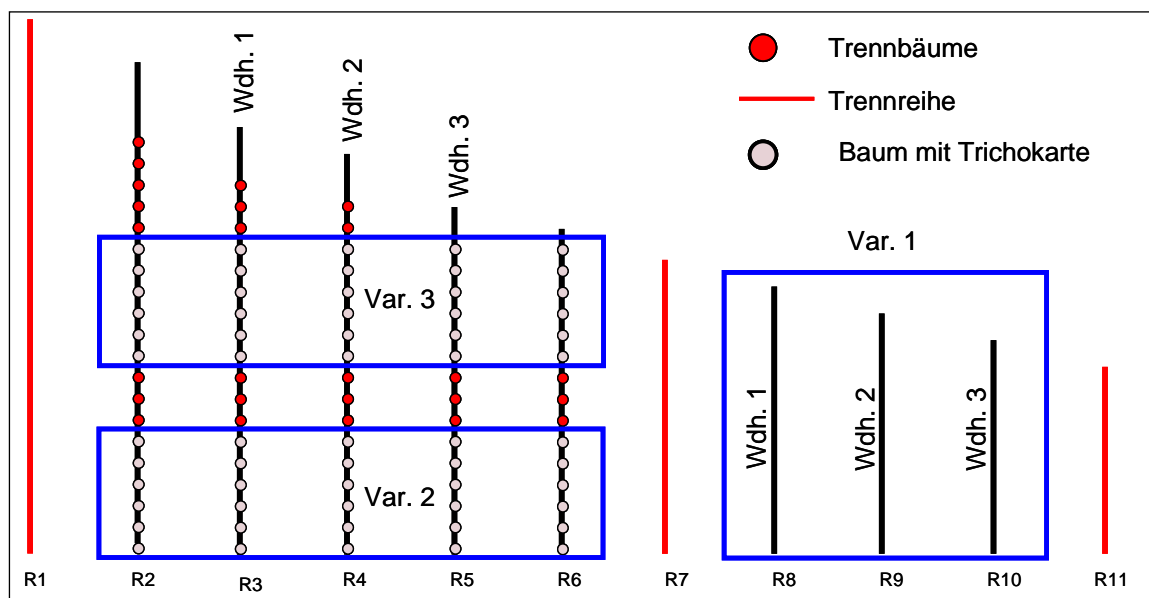


Abb. 2.79: Lage der Versuchsvarianten in Versuch 2 am Standort Rheinland-Pfalz: Kontrolle (Var. 1), *Trichogramma evanescens* (Var. 2) und *Trichogramma cacoeciae* (Var. 3)

Die Befallsbonitur fand am 17.09.2013 statt. Pro Variante wurden ca. 2000 Früchte geerntet, aufgeschnitten und auf Vorhandensein von Larven kontrolliert.

Ergebnisse

Der Flugverlauf des Pflaumenwicklers fiel in 2013 in der Versuchsanlage insgesamt sehr gering aus (Abb.2.80). Die erste Generation erreichte um den 10. Juni zum Flughöhepunkt der 1. Generation lediglich einen Falterfang von max. 5 Pflaumenwicklern. Zur zweiten Generation stieg der Falterflug zum Flughöhepunkt um den 04.08. auf 18 Pflaumenwickler an.

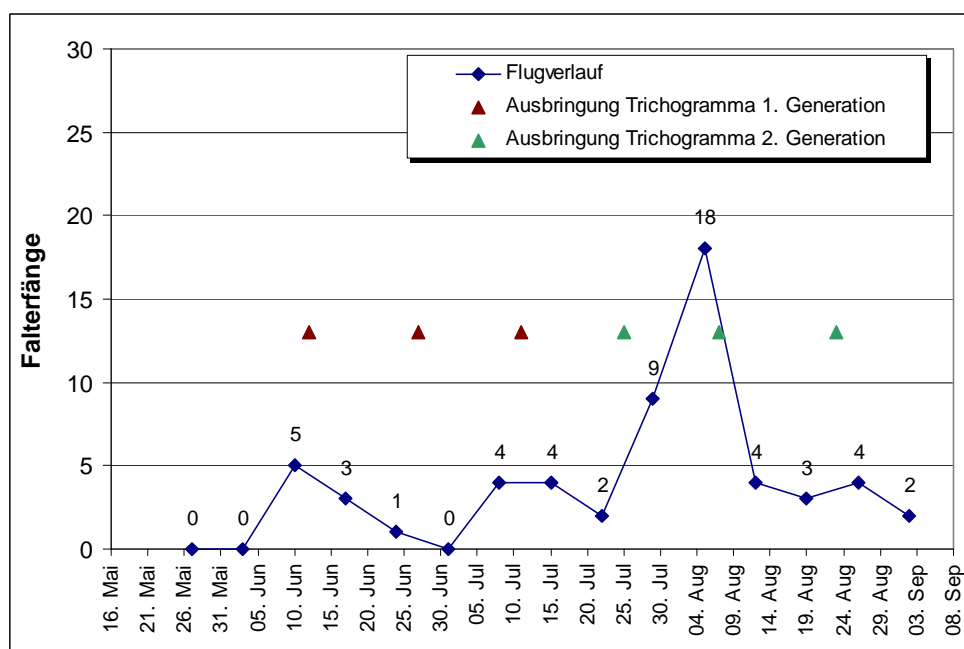


Abb. 2.80: Flugverlauf des Pflaumenwicklers und Ausbringungstermine der TrichoKarten am Standort Rheinland-Pfalz in Versuch 1.

Bei der Erntebonitur in Versuch 1 am 06.09.2013 wies die Kontrolle einen Befall von 9,89 % auf (Abb. 2.81). Eine sechsmalige Aufhängung der Karten mit *T. evanescens* zur ersten sowie zweiten Generation konnte den Befall auf 7,03 % reduzieren. Die dreimalige Kartenaushängung zur zweiten Generation zeigte keine Befallsreduktion sondern eher einen Befallsanstieg (auf 10,76 %). Aufgrund der geringen Unterschiede zur unbehandelten Kontrolle kann keine sichere Aussage darüber getroffen werden, ob die tendenzielle Befallsreduktion in Variante 2 (Aufhängung 1. + 2. Generation) auf den Einsatz von *Trichogramma* zurückzuführen ist oder der natürlichen Variabilität geschuldet ist.

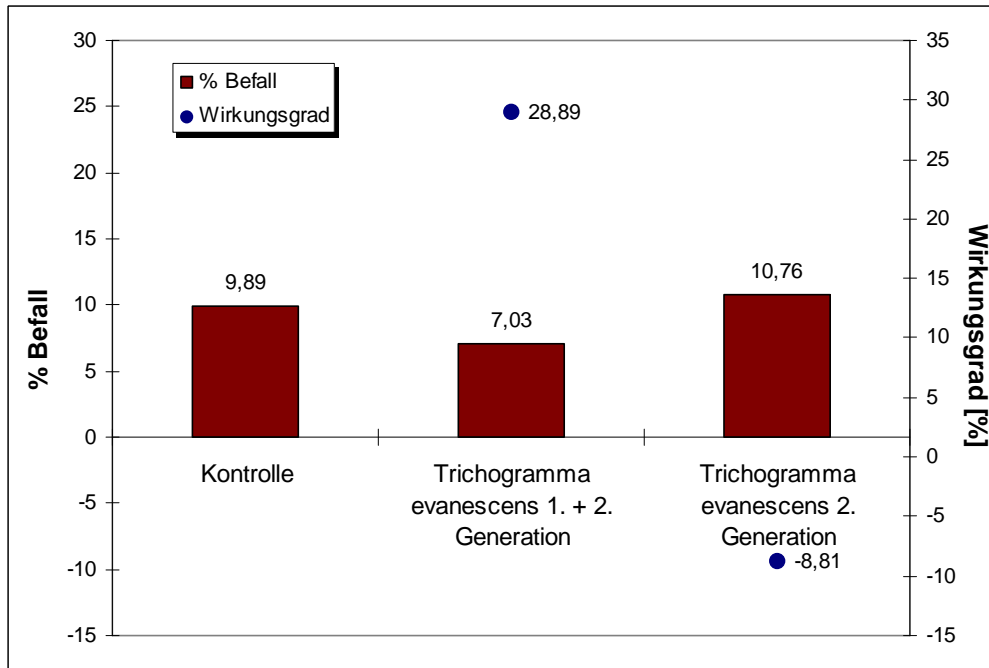


Abb. 2.81: Prozentualer Befall und Wirkungsgrad bei der Ernte am 06.09.2013 in Versuch 1.

Auch in der Versuchsanlage von Versuch 2 war keine deutliche erste Generation des Pflaumenwicklers zu erkennen (Abb. 2.82). Erst ab dem 20.07. baute sich langsam eine zweite Generation auf, die zwischen dem 30.07. und 20.08. Falterfänge von 21 bis 43 Pflaumenwicklern erreichte. Während diesem Zeitraum fand auch die Aufhängung der verschiedenen TrichoKarten statt.

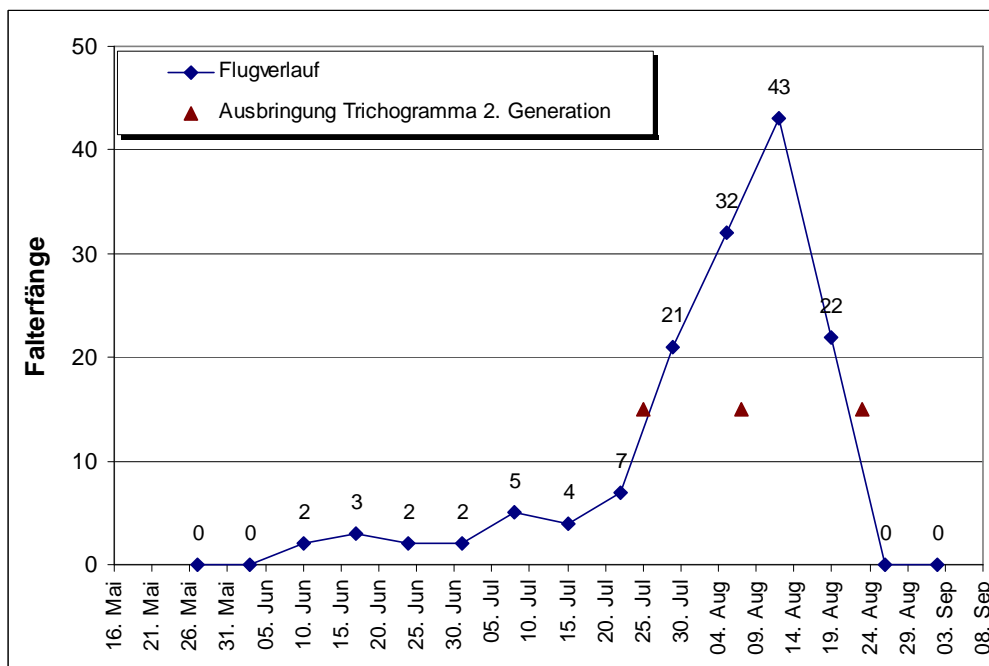


Abb. 2.82: Flugverlauf des Pflaumenwicklers und Ausbringungstermine der TrichoKarten am Standort Rheinland-Pfalz in Versuch 2.

Bei der Befallsbonitur am 17.09.2013 konnte zwischen der Kontrolle und den behandelten Varianten keine Unterschiede im Befall ermittelt werden (Abb.2.83). Trotz eines Anstieg des Falterfluges zur zweiten Generation auf 43 Falter blieb der Befall in allen Varianten unter 1 %, so dass hier keine Aussage über die Wirkung der Trichogrammen getroffen werden kann.

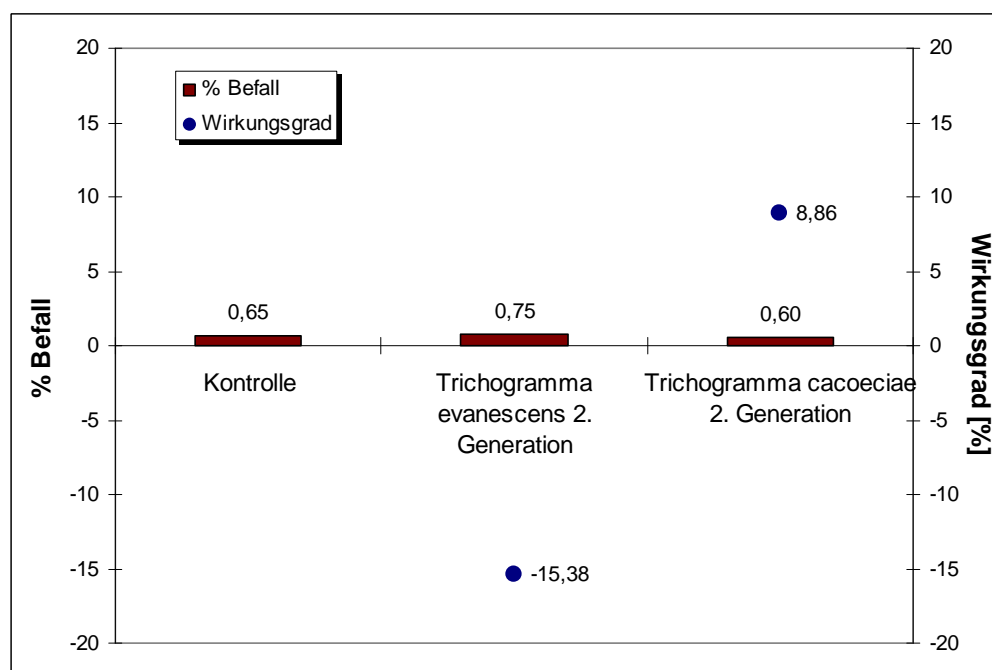


Abb. 2.83: Prozentualer Befall und Wirkungsgrad bei der Ernte am 17.09.2013 in Versuch 2

Standort Süddeutschland

Auf zwei Betrieben im Neckarraum wurden kurz nach Flugbeginn der 2. Generation Pflaumenwickler am 22.07. in Versuch 1 und am 23.07. in Versuch 2. und am 01.08.2013 an beiden Standorten ein zweites Mal in den nachfolgend beschriebenen drei Anlagen jeweils 1 Kärtchen (3.000 *T. evanescens*) pro Baum ausgehängt.

Alle Anlagen waren mit Isomate OFM Rosso verwirrt. Zur Ermittlung des Flugs des Pflaumenwicklers diente eine wöchentlich kontrollierte, in einem Privatgarten in Heilbronn aufgehängte Pheromonfalle des Beratungsdienstes Ökologischer Obstbau e.V..

Für die Auswertung wurde an 1.000 Früchten pro Variante der Pflaumenwicklerbefall durch Begutachtung der Früchte am Baum ermittelt. Die Ermittlung des Vorbefalls erfolgte 3 Wochen vor der 1. Ausbringung der Tricho-Karten in Versuch 2 und zur 1. Ausbringung der Tricho-Karten in Versuch 1. Die Wirkung der Tricho-Karten wurde jeweils kurz vor der Ernte der jeweiligen Sorten anhand Kontrolle von 1.000 Früchten ermittelt.

Bei der Versuchsfläche (Abb. 2.85. und 2.83) in **Versuch 1** handelte es sich um 3 Reihen Zwetschgen (Pflanzjahr 2001) angrenzend an Flächen mit Süßkirschen, Rhabarber, Tafeltrauben und Weintrauben (Reihenabstand 5 m, Pflanzabstand 2,5 bis 3 m). Da es sich um drei verschiedene Sorten Zwetschgen handelte, konnte der Versuch nur im Block angeordnet werden (Abb. 2.84). Über alle 3 Reihen wurden die ersten 20 Bäume mit jeweils einer

Trichokarte abgehängt. Darauf folgten 36 (20 + 16) Bäume ohne Abhängung (Kontrolle) und anschließend weitere 16 Bäume mit Tricho-Karten. Die mittlere Reihe mit 40 Bäumen (Abb. 2.84, 2.85) der Sorte Top 2000 (Spindeln ca. 2 m hoch und 32 Bäumen der Sorte Presenta (Spindeln ca. 2,5 m hoch) wurde ausgewertet. Die Bonitur des Vorbefalls wurde am 22.07.2013 bei beiden Sorten durchgeführt. Am 29.08.2013 erfolgte bei der Sorte Top 2000 und am 19.09.2013 bei der Sorte Presenta die Auswertung, jeweils kurz vor der Ernte.



Abb. 2.84: Versuchsanlage Versuch 1 in Süddeutschland, links Sorte "Top 2000, rechts Sorte 'Presenta'

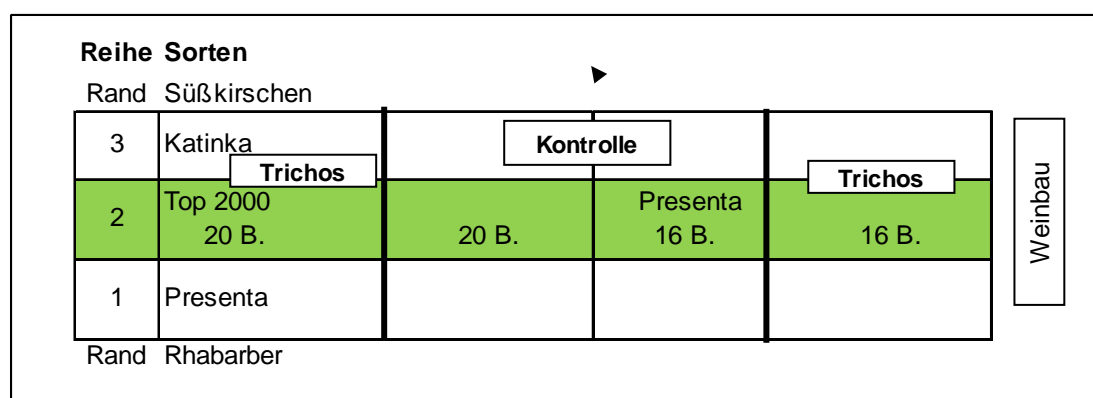


Abb. 2.85: Versuchsfläche im Versuch 1, Ausbringung der *Trichogramma evanescens* in Reihe 1-3, Anzahl ausgebrachter Trichokarten 108 St. (60 + 48), Auswertung in Reihe 2 (grün);

In Versuch 2 gab es zwei Versuchsflächen: Die Versuchsfläche 1 (Abb. 2.86) waren 3 Reihen Zwetschgen der Sorte 'Hanita' (Pflanzjahr 1999, Pflanzabstand 3 m, Reihenabstand 4,6 m)

begrenzt von Zwetschgen auf der einen und Birnen auf der anderen Seite. Zu obengenannten Terminen wurden 36 Kärtchen (3 x 12) ausgehängt, weitere 12 Bäume je Reihe dienten als Kontrolle. Befallsbonituren wurden am 04.07. und 27.08.2013 der mittleren Reihe durchgeführt.

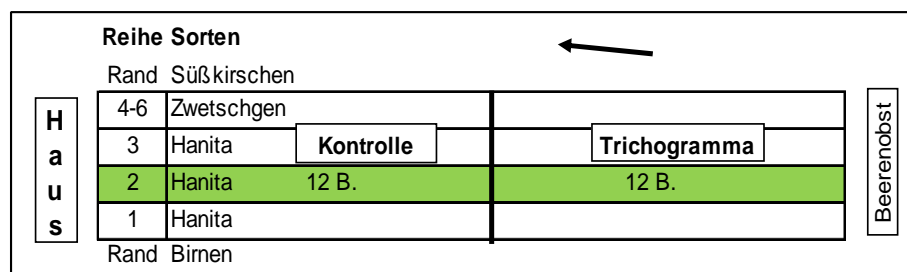


Abb. 2.86: Versuch1, Fläche 1, Ausbringung der *Tricho*-Karten in Reihe 1-3, Auswertung in Reihe 2 (grün);

Die Versuchsfläche 2 (Abb. 2.87) waren insgesamt 8 Reihen (5 Reihen der Sorte Hanita, 2 Reihen Presenta, eine Reihe mit diversen Sorten, Pflanzjahr 2006, Pflanzabstand 2,5 m, Reihenabstand 4,4 m) begrenzt von Äpfeln auf der einen und einem landwirtschaftlich genutzten Grundstück auf der anderen Seite. Zu obengenannten Terminen wurden 192 Kärtchen (8 x 24) ausgehängt, weitere 24 Bäume je Reihe dienten als Kontrolle. Der Befall mit Pflaumenwickler wurde in der Sorte Hanita (Reihe 2 bis 6) am 05.07. und 27.08.2013 ermittelt.

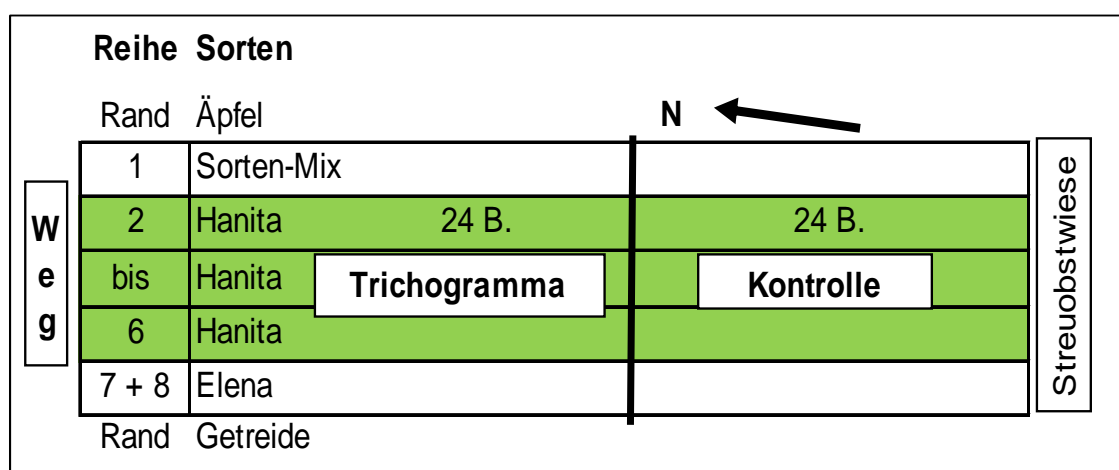


Abb. 2.87: Versuch2 Fläche 2, Ausbringung der *Tricho*-Karten in Reihe 1-7, Auswertung in Reihe 2 - 6 (grün);

Ergebnisse

Der Flug der 1. Generation des Pflaumenwicklers setzte erst im letzten Drittel des Mai ein und erreichte Mitte Juni mit knapp über 30 gefangenen Faltern einen ersten Höhepunkt.

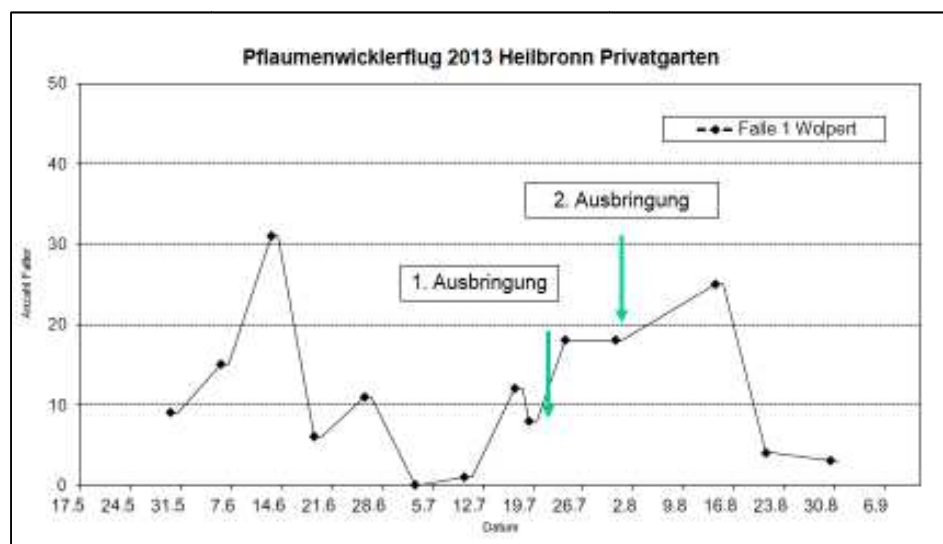


Abb. 2.88: Flugverlauf Pflaumenwickler in Heilbronn, 2013; Termine Ausbringung Tricho-Karten am 23.07. und 01.08.2013

Danach reduzierten sich die Fangzahlen, um dann ab Mitte Juli mit Beginn des Fluges der 2. Generation wieder anzusteigen. Wie in Abb. 2.88 zu sehen ist, wurde die 1. Ausbringung am 23.07. und die 2. am 01.08. durchgeführt.

In **Versuch 1** war der Befall mit Pflaumenwickler bei der Sorte Top 2000 zur Ausgangsböschung am 22.07.2014 mit 0,7 % in der Kontrolle und 0,1 % in der *Trichogramma* Variante recht niedrig. Bei der Böschung des Befalls durch die zweite Generation kurz vor der Ernte am 29.08. wurde ein Befall von 0,3 % sowohl in der *Trichogramma*-Variante als auch in der Kontrolle ermittelt. Diese niedrigen Zahlen müssen vor dem Hintergrund eines sehr guten Behangs betrachtet werden. Da der Ausgangsbefall in der Kontrolle höher lag, könnte dies unter Umständen auf eine gewisse Wirkung der Tricho-Karten hinweisen. Die Zahlen sind aber für eine definitive Aussage insgesamt zu gering.

Bei der Sorte Presenta ergab die Ausgangsböschung einen Befall von 0,1 % in der Kontrolle und von 0,3 % in der *Trichogramma*-Variante. Zur Auswertung am 19.09. war der Befall mit 1,2 % in der Kontrolle und 0,8 % in der *Trichogramma*-Variante jeweils höher.

Der Anstieg des Befalls fiel jedoch in der Kontrolle mit 1,1 % ausgeprägter aus, als in der *Trichogramma*-Variante mit 0,5 %.

In **Versuch 2** war der Ausgangsbefall am 5.7.2014 in Fläche 1 an der Sorte Hanita mit 3,1 % in der *Trichogramma*-Variante gleich wie in der Kontrolle. Zur Auswertung am 27.08. war der Befall in der *Trichogramma*-Variante mit 3,7 % um 0,6 % höher als in der Ausgangsbonitur. In der Kontrolle ergab sich ein Befallswert von 1,0 %, ein um 2,1 % niedriger Wert als in der Ausgangsbonitur. Der Behang war gut.

Einzelne Bäume der in der Fläche 2 zur Ausgangsbonitur am 05.07. 2014 stark mit der Mehligigen Plaugenflaume befallen. Zur 1. Aushängung der Tricho-Karten am 23.07.2014 war dieser weitgehend verschwunden, jedoch wiesen die mit Läusen befallenen Blätter starke Verunreinigungen mit Honigtau und demzufolge auch mit Schwärzepilzen auf. Insgesamt war der Behang der Sorte Hanita nur mittel und in den Bäumen sehr ungleich verteilt.

Die Ausgangsbonitur am 5.07.2014 ergab einen Befall von 0,9 % in der Kontrolle und 1,0 % in der *Trichogramma*-Variante. Zur Auswertung am 27.08. war der Befall in der Kontrolle um 2,0 % auf 2,9 % gestiegen, in der *Trichogramma*-Variante um 0,8 % auf 1,8 %.

Schlußfolgerungen und Diskussion

Am Standort Rheinland-Pfalz konnte trotz einer Verringerung des Abstandes zwischen der Kartenaushängung mit *T. evanescens* von drei auf zwei Wochen im Vergleich zu den Versuchen im Rahmen des Projekts 06OE198 eine reduzierende Wirkung auf den Pflaumenwicklerbefall festgestellt werden. Anstatt die TrichoKarten wie in 2012 nur zweimal aufzuhängen, erfolgte im Jahr 2013 die Ausbringung der Karten jeweils zu drei Terminen. Allerdings führte auch dies nicht zu der erhofften Befallsreduzierung. Über die Wirkung von *T. cacoeciae* im Vergleich zu *T. evanescens* kann aufgrund des geringen Befalls in der Kontrolle keine Aussage gemacht werden.

Die in den drei Anlagen am Standort Süddeutschland ermittelten Befallswerte in einem Bereich von 0,1 bis maximal 3,7 % waren als eher niedrig einzuschätzen. Der im Vergleich zur Kontrolle geringere Anstieg des Befallswertes zwischen Ausgangsbonitur und Auswertung in der *Trichogramma*-Variante im Versuch 1 an der Sorte Presenta und im Versuch 2 in der Fläche 2 könnte auf einen Einfluss des *Trichogramma*-Einsatzes schließen lassen. Allerdings ergaben sich im Versuch 1 an der Sorte Top 2000 und im Versuch 2 in der Fläche 1 keine Reduzierungen des Befalls zwischen Ausgangsbonitur und Auswertung in der *Trichogramma*-Variante, sondern nur in der Kontrolle.

Eine abschließende Aussage bzgl. einer Reduzierung des Pflaumenwicklerbefalls durch die Ausbringung von *Trichogramma* zur 2. Generation ist auch hier aufgrund der niedrigen Befallsraten und der inhomogenen Ergebnisse nicht möglich.

Da eine sichere Wirkung aber keineswegs beobachtet werden konnte, soll auf eine Empfehlung des Einsatzes von *T. evanescens* gegen den Pflaumenwickler an die Praxis verzichtet werden.

2.8 Optimale Prognose für die Strategien im ökologischen Obstbau

Die Anforderungen an ein Prognosemodell sind für den integrierten Anbau etwas anders als für den ökologischen Obstbau. Während in der IP zu Beginn der Saison meist mit einem Ovizid gearbeitet und anschließend Larvizide bzw. Ovi-Larvizide mit längerer Wirkungsdauer eingesetzt werden, kommt im ökologischen Obstbau nur CpGV zum Einsatz. Dieses hat eine relativ geringe Wirkungsdauer und wird normalerweise jeweils beim Fungizideinsatz zugesetzt sofern die Mischbarkeiten dies erlauben. Wichtig für die Bewarnung ist es daher, jeweils den erwarteten Larvenschlupf im Zeitraum bis zur nächsten zu erwartenden Fungizidspritzung zu prognostizieren.

Dies war zu Projektbeginn mit der Darstellung im Modell RIMPro-Cydia schwierig, da es nur die Eiablagetermine und dann das Vorhandensein (und nicht den Schlupftermin) der Larven im L1-Stadium anzeigte. In der Diskussion mit dem Programmierer von RIMPro-Cydia an die Anpassung des Modells an die Bedürfnisse des Ökologischen Obstbaus konnte dieses bereits im für das Jahr 2011 geändert werden: Die Prognose für den konkreten Schlupfzeitpunkt der Larven wurde in das Modell als Einzelbalken integriert (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

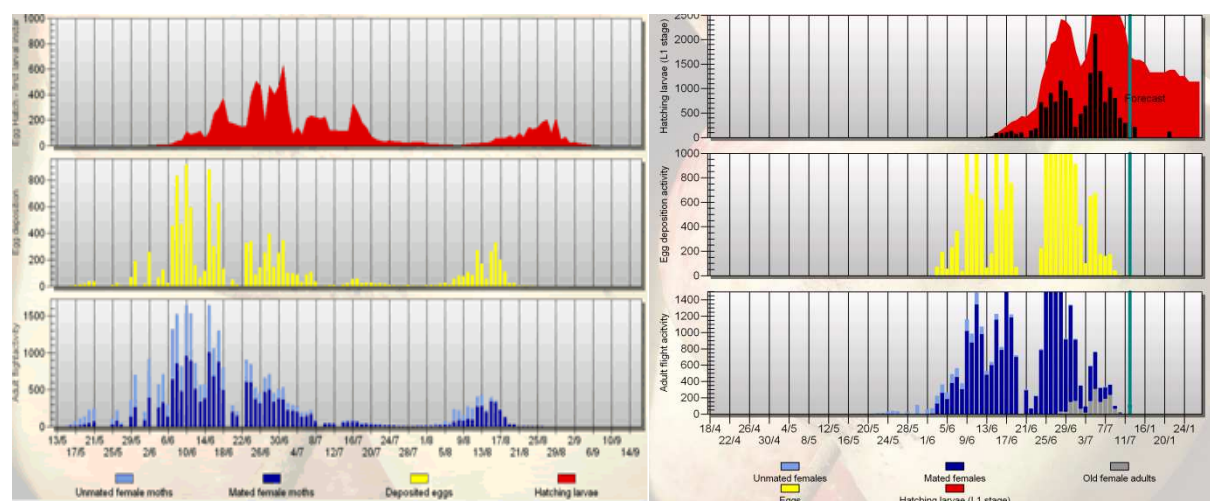


Abb. 2.89: Modell RIMProCydia vor (links) und nach (rechts) der Anpassung an die Anforderungen des Ökologischen Obstbaus. Im Modell rechts sind oben die Schlupftermine der Larven als Balken dargestellt. Die rote Kurve stellt die Präsenz von L1-Larven dar, die nicht zwangsläufig mit dem Schlupftermin zusammenfällt, der für die Bekämpfung von grosser Bedeutung ist.

Geplant war auch eine Validierung des Modells in den verschiedenen Regionen. Dabei lag der Schwerpunkt der Fragestellung vor allem auf dem Beginn des Larvenschlupfs in der ersten Generation. Es wurden zwar in allen Regionen Larven gesammelt, aufgrund des sehr niedrigen Befallsdrucks konnten aber keine wirklich aussagefähigen Daten ermittelt werden.

Die Beobachtungen sowie die Erfahrungen der letzten Jahre weisen aber darauf hin, dass es besonders beim Beginn des Larvenschlupfes im Frühsommer anlagen- bzw. populationspezifische Unterschiede gibt. In Anlagen mit Cp-GV resistenten Populationen sind sehr häufig bereits zu einem frühen Zeitpunkt starke Eiablagen beobachtet worden. Dies ist nach Erfahrungen anderer auch von Populationen mit anderen Resistenzen berichtet worden.

An der Beratertagung im März 2013 wurde daher diskutiert, dass nicht das Modell sondern seine Interpretation verändert werden muss: Bei hohen und/oder resistenten Apfelwicklerpopulationen muss ggf. früher als das Modell anzeigt, zumindest für niedrige Aufwandmengen bewarnt werden. Ebenso sind die Schlupfperioden zu Saisonbeginn sorgfältiger abzudecken selbst wenn das Modell sie als vernachlässigbar gering anzeigt.

2.9 Zusammenfassung

Ziel des Projekts war die Erarbeitung einer langfristig tragfähigen Bausteinstrategie zur Regulierung des Apfelwicklers im ökologischen Obstbau in Zusammenarbeit von Forschung, Beratung und Praxis. Teile dieser Strategie sollte sowohl ein Virulenzmanagement des Apfelwicklergranulovirus als auch andere ökotaugliche Verfahren sein, um eine größtmögliche Maßnahmendiversifizierung zu erreichen.

In einem Betrieb waren 2009 Resistenzen auch gegenüber den neuen Isolaten aufgetreten (siehe TP 1). Im März 2010 war es der Firma Andermatt Biocontrol (Schweiz) gelungen, aus der Population aus dieser Anlage, die in Zucht genommen worden war, ein neues Präparat zu selektieren (ABC-V15). Dieses wurde in der Saison 2010 in dem Betrieb mit Erfolg geprüft. In den folgenden Jahren wurde in diesem Betrieb geprüft, ob bei Langzeitanwendung wieder Probleme auftreten. Ausserdem wurde in den wenigen Betrieben, bei denen während der Projektlaufzeit eine Minderwirkung der neuen Isolate festgestellt worden war, die Langzeitanwendung von CpGV V15 geprüft sowie Larven gesammelt, um die Empfindlichkeit gegenüber diesem Isolat zu testen (siehe Teilprojekt 1).

Die Betriebe, bei denen eine geringere Wirkung von Madex Max im Labor nachgewiesen werden konnte, befanden sich alle in der nördlichen Hälfte von Deutschland (Niederelbe, Niederrhein). In diesen Betrieben und auf zwei Betrieben in Rheinland-Pfalz kam von 2011 bis 2013 an das CpGV-Isolat CpGV-V15 der Firma Andermatt zum Einsatz. In den Versuchsanlagen wurde gleichzeitig die Pheromon-Verwirrungsmethode ausgebracht. Ausserdem wurden in den Anlage an der Niederelbe ausserhalb der im Versuch ausgewerteten Parzellen auch befallene Früchte abgesammelt, um den Befallsdruck zusätzlich zu reduzieren. In allen Betrieben zeigte das Isolat über den gesamten Versuchszeitraum eine gute Wirksamkeit so dass der Befall in allen Betrieben wieder auf ein niedriges Niveau zurückgeführt werden konnte, bei dem die Wirkung der Verwirrungsmethode wieder besser genutzt werden kann. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass die Witterungsbedingungen in den Jahren 2011 bis 2013 für den Aufbau der Apfelwicklerpopulationen recht ungünstig waren. Dies hat mit Sicherheit dazu beigetragen, dass die Populationen durch den Einsatz von CpGV-V15 so schnell reduziert werden konnten. Im Betrieb NRW-WE, wo die Versuche mit sehr hohem Befall (30 – 40 % und mehr) begonnen wurden, wird das Isolat jetzt seit 4 Jahren mit Erfolg eingesetzt ohne dass es Hinweise auf erneute Probleme gibt. Die vorher eingesetzten neuen Isolate zeigten dagegen nie eine wirklich ausreichende Wirksamkeit und wurden innerhalb von 1-2 Jahren mehr oder weniger komplett unwirksam. Im Betrieb HH-CR wird das CpGV-V15 jetzt seit 3 Jahren ebenfalls mit Erfolg eingesetzt. Dies gibt Anlass zur Hoffnung, dass dieses Isolat bei entsprechend sorgsamem Einsatz eine längerfristige Lösung

für diese Betriebe darstellt. Es ist aber sehr wichtig, diesen Langzeitversuch fortzuführen und die Entwicklung weiterhin zu beobachten.

Um gesicherte Empfehlungen für die Anzahl der Behandlungen und die Jahresaufwandmenge an CpGV geben zu können, wurde der Nutzen des Einsatzes von neuen CpGV-Isolaten gegen die zweite Generation des Apfelwicklers in verschiedenen Anlagen mit nachgewiesener CpGV-M-Resistenz untersucht. Die CpGV-Behandlungen zeigten zwar Effekte auf die Folgepopulation aber nur eine relativ geringe Wirkung auf den Fruchtschaden. Die Empfehlung zur Reduktion der Anzahl der Behandlungen lautet daher, dass dann auf weitere Behandlungen verzichtet werden kann, wenn nicht mehr zu erwarten ist, dass die Larven vor der Ernte noch das letzte Larvenstadium erreichen. Werden die befallenen Früchte sauber abgeerntet, tragen die darin enthaltenen Larven nicht mehr zum Aufbau der Population für das Folgejahr bei. Der Termin, ab wann das der Fall ist, kann aus dem Modell mittels Berechnung der Temperatursummen für die Larvalentwicklung und dem möglichen Erntetermin der jeweiligen Sorte abgeschätzt werden. Die Empfehlung an die Praxis lautet allerdings auch, auf keinen Fall in der zweiten Generation auf CpGV zu verzichten, solange davon auszugehen ist, dass die Larven sich noch voll entwickeln und in Diapause gehen können bevor die Früchte abgeerntet werden.

Als weiterer Baustein für die Maßnahmendiversifizierung wurde das Potential von NeemAzal-T/S zur Reduktion des Risikos einer Resistenzbildung bei CpGV untersucht. In Fällen, wenn hohe Populationen wieder auf ein regulierbares Niveau zurückgeführt werden müssen, wäre die Kombination mit einem weiteren Präparat bei der Regulierung der ersten Generation in dieser Hinsicht sinnvoll. Da Spinosad aufgrund der Bienengefährlichkeit und der Nebenwirkungen auf systemrelevante Nützlinge (Blutlauszehrwespe, Ohrwurm) als Baustein ausscheidet, wurde getestet, inwiefern NeemAzal-T/S, bei dem Effekte auf die Larvenentwicklung beobachtet werden konnten, für einen solchen Einsatz geeignet ist.

Ein gewisser Effekt von Neem-Azal-T/S auf die Mortalität der Apfelwicklerlarven während ihrer Entwicklung konnte immer wieder beobachtet werden. Sowohl bei Freilandversuchen als auch bei Versuchen im Labor oder mit künstlichem Befall wurde durchaus ein Effekt festgestellt. Dieser war jedoch immer relativ gering und schwankte so stark, dass eine Empfehlung zum Einsatz des Präparats in der ersten Generation als Baustein für eine Strategie zur Reduktion von hohen Populationen nicht erfolgen soll.

Der Einsatz von *Trichogramma*-Schlupfwespen würde prinzipiell einen sehr attraktiven zusätzlichen Baustein bei Befallsgefahr in der zweiten Generation darstellen. *Trichogramma*-Schlupfwespen sind Eiparasitoide, d.h. aus den parasitierten Apfelwicklereiern schlüpfen keine Larven mehr. Dadurch wird der Fruchtbefall effektiv verhindert. Auch wenn die möglichen Wirkungsgrade wohl nur um die 50 % liegen, ist dies bei einem späten Fruchtbefall immer noch attraktiv. Die Umstellung der Fungizidstrategie auf Mittel, die keinen Schwefel enthalten, der die Trichogrammen schädigt, wäre in den meisten Anlagen im August durchaus machbar.

Daher sollte das Potenzial von Behandlungen mit *Trichogramma evanescens* in der Strategie zur Regulierung der zweiten Generation des Apfelwicklers im Vergleich und in Kombination mit CpGV Behandlungen ausgelotet werden.

Sowohl die Ausbringung mit einem Spritzverfahren als auch die Ausbringung mit Trichogrammen an jedem 8. Baum in der Reihe waren grundsätzlich praktikabel und erbrachten meist vergleichbare Resultate. Da der Befallsdruck des Apfelwicklers insgesamt stark zurückgegangen ist, war das Verfahren vor allem für eine Herdbekämpfung interessant. Versuche zur Verteilung der Trichogrammen in der Baumreihe zeigten für *T. evanescens* auch bei Kartenausbringung eine relativ gleichmäßige Parasitierung. In diesen Versuchen mit künstlichem Befall (Ausbringung von Apfelwicklereiern als Köder in verschiedenen Zeitabständen nach der Ausbringung) konnten jedoch auch die Schwierigkeiten des Verfahrens gezeigt werden: Auch wenn *Trichogramma*-Puppen unterschiedlichen Alters ausgebracht werden, sinkt die Parasitierung nach den ersten Tagen schnell. Die „Wirkungsdauer“ mit Wirkungsgraden um 50 % beträgt somit nur etwa eine knappe Woche und fällt danach stark ab (Abb. 1). Damit erklärt sich auch die mangelnde Wirkungssicherheit in den Freilandversuchen. In 2013 wurden erste interessante Ansätze zur Verlängerung der Wirkungsdauer untersucht. Diese müssen jedoch von der Firma noch weiter entwickelt und zur wirklichen Praxisreife gebracht werden bevor das Verfahren in der Praxis als Baustein empfohlen werden kann.

Der Einsatz gegen die zweite Generation des Apfelwicklers im Juli/August stellt ein relativ kleines Zeitfenster dar, in dem *Trichogramma* vermarktet werden kann. Ein Einsatz gegen die zweite Generation des Pflaumenwicklers im Juni/Juli würde dieses Zeitfenster vergrößern und die Zucht für die Firma attraktiver gestalten. Aufbauen auf die Versuche aus dem Projekt 06OE198 wurde im Jahr 2013 der Einsatz von *T. evanescens* gegen Pflaumenwickler weiter untersucht. Eine abschließende Aussage bzgl. einer Reduzierung des Pflaumenwicklerbefalls durch die Ausbringung von Trichogrammen zur 2. Generation ist aufgrund der niedrigen Befallsraten und der inhomogenen Ergebnisse nicht möglich. Da aber eine sichere Wirkung keineswegs beobachtet werden konnte, soll auf eine Empfehlung des Einsatzes von *T. evanescens* gegen den Pflaumenwickler an die Praxis verzichtet werden.

Auf der Basis der Projektergebnisse wurde abschließend eine Strategieempfehlung zur Regulierung des Apfelwicklers an die Praxis des Ökologischen Obstbaus gegeben.

2.10 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen (Teilprojekt 2)

Ziel des Projekts war die Erarbeitung einer langfristig tragfähigen Bausteinstrategie zur Regulierung des Apfelwicklers im ökologischen Obstbau in Zusammenarbeit von Forschung, Beratung und Praxis. Teile dieser Strategie sollte sowohl ein Virulenzmanagement des Apfelwicklergranulovirus als auch andere ökotaugliche Verfahren sein, um eine größtmögliche Maßnahmendiversifizierung zu erreichen.

Im Rahmen des Teilprojekts 2 wurde dieses Ziel erreicht. Sowohl das Monitoring und die Langzeitversuche zum Virulenzmanagement auf den betroffenen Betrieben als auch die Überprüfung des Potentials der verschiedenen möglichen Bausteine wurden durchgeführt.

Durch den Erfolg der Strategien und den Witterungsverlauf ging jedoch der Befall mit Apfelwickler in den Betrieben in den letzten Jahren stark zurück. Dies erschwerte den Aufbau aussagefähiger Versuche und war ein wesentlicher Grund für die Projektverlängerung. Teilweise musste auf Versuche mit künstlichem Befall zurückgegriffen werden. Zum Einsatz von *Trichogramma* konnte keine definitive Empfehlung gegeben werden. Hier ist muss firmenseitig noch eine Weiterentwicklung erfolgen.

2.11 Zitierte Literatur

Benduhn, B., Heyne, P., Fieger-Metag, N. & Maxin, P (2007). Versuche zur Regulierung des Apfelwicklers *Cydia pomonella* in Norddeutschland. In: Zwischen Tradition und Globalisierung (ed. Zikeli, S., Claupein, W., Dabbert, S., Kaufmann, B., Müller, T. & Valle Zárate, A.), pp. 293-296. Berlin: Verlag Dr. Köster.

Caruso, S.; Casera, C.; Kelderer, M.; Vergnani, S. (2012) : Limitation of Codling moth (*Cydia pomonella*) with different paraffin and plant oils. Proceedings of the 15th International Conference on Organic Fruit-Growing (Ecofruit), February 20 – 22, 2012, Hohenheim (Germany), Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.): 98-105

Volk, F. (2010): Erarbeitung einer Kombinationsstrategie mit verschiedenen biologischen Verfahren zur Reduktion des Insektizideinsatzes gegen den Apfelwickler. Verbundprojekt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt Az 23940, Abschlußbericht.

Wührer, B. (2010): Einsatz von *Trichogramma*-Schlupfwespen gegen den Apfelwickler *Cydia pomonella*. Verbundprojekt im Rahmen der Innovationsförderung im Pflanzenschutz Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung FKZ 2814202106. Abschlußbericht

III. Übersicht aller Veröffentlichungen zum Projekt

Publikationen:

Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2012): Effect of mixtures with other products on the efficacy of codling moth granulovirus (CpGV). In: Proceedings of 15th International Conference on Organic Fruit-Growing (Ecofruit), February 20 – 22, 2012, Hohenheim (Germany), Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.), 332-337.

Kienzle, J.; Zimmermann, O.; Wührer, B.; Triloff, P.; Morhard, J.; Landsgesell, E.; Zebitz, C. P. W. (2012): New species and new methods of application – a new chance for *Trichogramma* in codling moth control? In : Proceedings of 15th International Conference on Organic Fruit-Growing (Ecofruit), February 20 – 22, 2012, Hohenheim (Germany), Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO) (Ed.), 317-321.

Mettenmeyer, N. (2012): Untersuchungen zur Resistenz von Apfelwicklerpopulationen gegen das *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV). Diplomarbeit, Universität Kassel (FB 10 - Mathematik und Naturwissenschaften).

Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Jehle, J. A.; Kienzle, J. (2011): Mischbarkeit verschiedener Präparate mit Apfelwickler-Granuloviren. *Öko-Obstbau* 2/2011, 24-26.

Kienzle, J.; Zimmer, J.; Schult, T.; Brockamp, L.; Zebitz, C.P.W.; Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Jehle, J. A.; Strategie zur Regulierung des Apfelwicklers und zum Virulenzmanagement für das Apfelwicklergranulovirus im Ökologischen Obstbau. *Öko-Obstbau* 2/2014 *in press*

Vorträge:

Jehle, J. A.:

2014

Resistance to *Cydia pomonella* granulovirus: Novel findings on its distribution and diversity. Ecofruit 2014, 18.2.2014, Hohenheim.

2013

Resistenz des Apfelwicklers gegen das *Cydia pomonella* Granulovirus: neue Erkenntnisse zur Verbreitung und Vererbung, DPG-AK Nutzarthropoden, Darmstadt, 9.12.2013.

Resistance to baculoviruses – a new challenge to biological control. 4th International Participated Conference on Entomopathogens and Microbial Control Symposium, Artvin (Türkei), 12.09.2013.

Trait stability and improvement in entomopathogenic viruses: lessons learnt from baculoviruses. 46th Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology, Pittsburgh (USA), 14.08.2013.

Biologischer Pflanzenschutz mit Insektenviren - Herausforderungen und Perspektiven. IGZ Großbeeren, Großbeeren, 17.4.2013.

Insektenviren – die Lizenz zum Töten. Naturwissenschaftlicher Verein Darmstadt, Darmstadt, 26.2.2013.

2012

The use of *Cydia pomonella* granulovirus in organic and integrated pest management. SIP Meeting, Buenos Aires (Argentinien), 07.08.2012.

Baculoviruses in Biological Control. Wageningen University, Wageningen (Niederlande), 21.6.2012

Kenntnisstand zur Resistenz des Apfelwicklers gegen das Apfelwicklergranulovirus (CpGV). Arbeitssitzung des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, Saarbrücken, 27.2.2012.

2011

Recent developments in biological control using insect viruses. Czech Plant Protection Institute, Prag(Tschechien), 29.09.2011.

Resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus – are there two types of resistance? European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group "Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes", Innsbruck (Österreich), 19.-23.06.2011.

Kienzle, J.:

2014

Apfelwickler: Aktuelle Befallssituation und Stand des Resistenzmonitorings - Potential des Einsatzes von *Trichogramma*. Ökologische Obstbautagung 2014, Ahrweiler, 31.1.2014

2013

Aktuelles zur Regulierung des Apfelwicklers: Ökologische Obstbautagung 2013, Weinsberg, 26.01.2013.

2012

Aktuelles zum Apfelwickler. Ökologische Obstbautagung 2012, Jork, 27.-28.01.2012.

2011

Langfristig tragfähige Strategie zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau. Ökologische Obstbautagung 2011, Weinsberg, 29.01.2011.

2010

Aktuelle Empfehlungen zur Regulierung des Apfelwicklers. Ökologische Obstbautagung 2010, Jork.

Poster:

Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Huber, J.; Jehle, J. A. (2012): Effect of mixtures with other products on the efficacy of codling moth granulovirus (CpGV). 15th International Conference on Organic Fruit-Growing (Ecofruit), Hohenheim, 20.-22.02.2012.

Kienzle, J.; Zimmermann, O.; Wührer, B.; Triloff, P.; Morhard, J.; Landsgesell, E.; Zebitz, C. P. W. (2012): New species and new methods of application – a new chance for *Trichogramma* in codling moth control? 15th International Conference on Organic Fruit-Growing (Ecofruit), Hohenheim, 20.-22.2012.

IV. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die erzielten Ergebnisse bilden die Grundlage für die jeweiligen Beratungsempfehlung zur Regulierung des Apfelwicklers im Ökologischen Obstbau in den einzelnen Regionen. Ein Teil der Ergebnisse wurde bereits in Praktikerzeitschriften (z. B. Öko-Obstbau) publiziert und steht damit der Praxis zur Verfügung. Zudem wurden von 2011 bis 2014 auf der Ökologischen Obstbautagung sowie der Internationalen Wissenschaftstagung zum Öko-Obstbau Ecofruit sowie weiteren Tagungen und Arbeitssitzungen Teilergebnisse der Praxis und Beratung vorgestellt. Für die Saison 2014 wird eine abschließende Strategieempfehlung in der Öko-Obstbau veröffentlicht.

Als wichtigstes wissenschaftliches Ergebnis des Teilprojektes 1 ist die Entdeckung eines zweiten Resistenztyps mit unterschiedlichem Vererbungsmodus zu erwähnen. Diese Ergebnisse sind von grundlegender Bedeutung für das Verständnis der Virus-Insekt-Interaktion und haben Modellcharakter für andere Baculoviren, die als biologische Pflanzenschutzmittel eingesetzt werden. Daher haben diese Arbeiten eine große internationale Sichtbarkeit erlangt und mehrere Kooperationen mit Arbeitsgruppen in Argentinien, Japan und Thailand angestoßen. Die Ergebnisse sollen in den kommenden Monaten in ein bis zwei einschlägigen international erscheinenden Zeitschriften publiziert werden.