

Entomopathogene Pilze – ein faszinierendes Forschungsgebiet

Siegfried Keller

Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon ART

Abstract: Entomopathogenic fungi – a fascinating field of research.

More than 800 species of fungi are described as pathogens of insects and other arthropods. Many of them play a significant role in the natural regulation of insect and mite populations. The best known representatives belong to the anamorphic fungi (Deuteromycota), to the Clavicipetales (Ascomycetes) and to the Entomophthorales (Zygomycota). Some of the anamorphic fungi are used as biocontrol agents but also as indicators to assess soil and farm management. Most entomopathogenic fungi are specialised and have a narrow host range. The highest degree of specialisation exists with the Entomophthorales which are not only closely adapted to their hosts but able to alter their behaviour in order to maximise their own reproductive potential.

Key words: Entomopathogene Pilze, anamorphe Pilze, Entomophthorales, Biologie, Wirt-Pathogen-Interaktion, Ökologie, mikrobielle Schädlingsbekämpfung.

Dr. S. Keller, Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Reckenholzstrasse 191, CH-8046 Zürich, Schweiz; siegfried.keller@art.admin.ch

Mehr als 800 Arten von Pilzen sind als Pathogene von Insekten und anderen Arthropoden beschrieben (Tab. 1). Ohne Zweifel stellen diese Arten erst einen Bruchteil der tatsächlich existierenden Arten dar. Das zunehmende Interesse an diesen Pilzen und die um genetische Methoden erweiterten Identifikationsmöglichkeiten lassen ein rasches Ansteigen der Artenzahlen erwarten. Im Gegensatz zu den meisten anderen insektenpathogenen Organismen infizieren sie ihre Wirte durch die Kutikula. Sie sind weltweit verbreitet und spielen eine wichtige Rolle als natürliche Regulierungsfaktoren.

Tab. 1: Artenzahlen der wichtigsten Gruppen von entomopathogenen Pilzen.

Taxon	Anzahl Arten	Referenz
Coelomomyces (Chytridiomycetes)	69	http://fruit.naro.affrc.go.jp
Entomophthorales (Zygomycetes)	234	Keller 2006
<i>Cordyceps</i> (Acomycetes)	>320	http://fruit.naro.affrc.go.jp
<i>Torrubiella</i> (Acomycetes)	>60	http://fruit.naro.affrc.go.jp
Deuteromycetes (anamorphe Acomycetes)	>180	diverse

Ursprünglich interessierten sich hauptsächlich Pflanzenschützer für sie in der berechtigten Annahme, entomopathogene Pilze als Alternative zum chemischen Pflanzenschutz nutzen zu können. Mittlerweile sind zahlreiche Produkte im Handel, hauptsächlich basierend auf Arten der Gattungen *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* und *Paecilomyces*. Es handelt sich bei diesen Arten ausschliesslich um Vertreter der Hyphomyceten, die heute dank molekularer Techniken den Ascomyceten zugeordnet werden können. Es sind meist wenig spezialisierte und leicht kultivierbare Pilze, die hauptsächlich im Boden und an anderen geschützten Orten vorkommen. Die oberirdisch lebenden, hochspezialisierten und sehr virulenten Arten aus der Ordnung der Entomophthorales dagegen sind noch weit von einer Anwendung als Pflanzenschutzmittel entfernt. Doch wurden Erfolge mit der klassischen biologischen Bekämpfung (inoculation strategy) sowie mit Habitatveränderungen (conservation strategy) erzielt. Feld- und Laborstudien haben unsere Kenntnisse über entomopathogene Pilze stark erweitert und das Interesse an diesen Pilzen auch bei Vertretern der Grundlagenforschung geweckt, insbesondere bei Mykologen, Ökologen und Populationsdynamikern. Zu den faszinierendsten Erscheinungen gehören die Wirt-Pilz-Interaktionen, die auch für physiologisch interessierte Biologen eine Herausforderung darstellen.

Pilz-Wirt-Interaktionen

Die Pilz-Wirt-Interaktionen sind unter dem Aspekt der Optimierung des Reproduktionspotenzials sowohl des Wirtes wie des Pilzes zu betrachten. Potentielle Wirte sind bestrebt, der Infektion durch Pilze mit Hilfe verschiedener Strategien zu entgehen, die im weitesten Sinne als Resistenz zusammengefasst werden können. Andererseits versuchen die Pilze, möglichst viele Wirte zu infizieren, wozu sie ihrerseits ein erstaunliches Arsenal von Mechanismen entwickelt haben. Diese Ko-Evolution von Angriff und Abwehr („Wettrüsten“) hat zu erstaunlichen Strategien sowohl seitens der Wirte wie seitens der Pilze geführt.

Infektionsverlauf

Entomopathogene Pilze infizieren ihre Wirte durch die Kutikula. Der Infektionsprozess beginnt mit dem Auskeimen der Spore. An der Keimhyph von Hyphomyceten bildet sich in der Regel ein Appressorium, an dem die Penetrationshyph gebildet wird. Mit Hilfe von Enzymen und mechanischem Druck werden die verschiedenen Schichten der Kutikula durchwachsen. Die Kutikula spielt bei der Infektionsabwehr eine wichtige Rolle. Auf ihrer Oberfläche werden die Faktoren vermutet, die für die Wirtserkennung seitens des Pilzes und zu seiner Spezifität beitragen. Die Kutikula und ihre Oberflächenstrukturen bieten nicht nur mechanischen Schutz; in ihr sind Substanzen mit fungistatischer bis fungizider Wirkung eingelagert.

Im Haemocoel angelangt werden von der Penetrationshyph Zellen abgeschnürt (Blastosporen), die sich nach Art der Hefen vermehren und mit der Haemolymphe im Körper verbreiten werden. Entomophthorales haben wesentlich grössere Konidien und ihre kräftigen Penetrationshyphen dringen ohne Appressorium durch die Kutikula. Bei diesen Pilzen erfolgt die Vermehrung und Ausbreitung im Wirtskörper durch Protoplasten oder Hyphenkörper, die sich durch Teilung oder Sprossung vermehren. Ist der Pilz in der Haemolymphe angelangt, gilt die Infektion als geglückt und der Tod des Wirtes als besiegelt.

Optimierung des Reproduktionspotenzials seitens der Wirte

- Resistenz: Resistenzentwicklungen gegen pilzliche Krankheitserreger sind bei Insekten unbekannt. Jedoch konnte gezeigt werden, dass Maikäfer-Engerlinge aus einer seit über 50 Jahren nachgewiesenen Population etwa 100 bis 1000 mal höhere Sporenkonzentrationen brauchten, um die selbe Wirkung zu erzielen wie bei Engerlingen aus einer Population, die sich nach etwa 20-jähriger Latenz zu einer Gradation entwickelte (KELLER et al. 1999).
- Erkennen pathogener Pilze: *Beauveria bassiana* ist ein natürlicher Feind der Blumenwanze *Anthrenorhynchus nemorum*. Untersuchungen haben gezeigt, dass *A. nemorum* in der Lage ist, mit *B. bassiana* kontaminierte Blätter oder *B. bassiana* infizierte Insekten zu erkennen und diese Stellen zu meiden (MEYLING und PELL, 2006).
- „Verhaltensfieber“: Mit *Entomophthora muscae* infizierte Stubenfliegen, *Musca domestica*, und mit *Metarhizium anisopliae* oder *B. bassiana* infizierte Heuschrecken bevorzugen Orte mit hohen Temperaturen, die von gesunden Artgenossen gemieden werden. Mit der dadurch erhöhten Körpertemperatur können die Wirte den Pilz in ihrem Körper schädigen oder gar töten, so dass die Lebenserwartung steigt und die Mortalität sinkt (ROY et al. 2006)

Optimierung des Reproduktionspotenzials seitens der Pilze

Diese Strategie ist besonders ausgeprägt bei wirtsspezifischen Pilzen, wie sie zum Beispiel die Entomophthorales darstellen.

- Vom Pilz induzierte Verhaltensänderungen. Zahlreiche solitär lebende, von einer Entomophthoraceen-Art infizierte Insekten werden vom Pilz kurz vor dem Tod veranlasst, hoch gelegene Pflanzenteile oder exponierte Stellen aufzusuchen (Abb. 1). Diese Erscheinung ist bekannt als Wipfelsucht oder summit disease (ROY et al. 2006). Das Wipfeln erfolgt vorwiegend in den späten Nachmittags- oder Abendstunden. Der Pilz muss dazu in der Lage sein, den zirkadianen Rhythmus zu erkennen. Für den Pilz hat das zwei Vorteile: Der Tod erfolgt in den Abendstunden. Durch die Taubildung kann der Pilz rasch und genügend Feuchtigkeit aufnehmen, um zu sporulieren. Durch die exponierte Lage verteilen sich die aktiv abgeschleuderten Sporen über eine grosse Fläche, sie sind zudem dem Wind ausgesetzt und können von diesem verfrachtet werden.

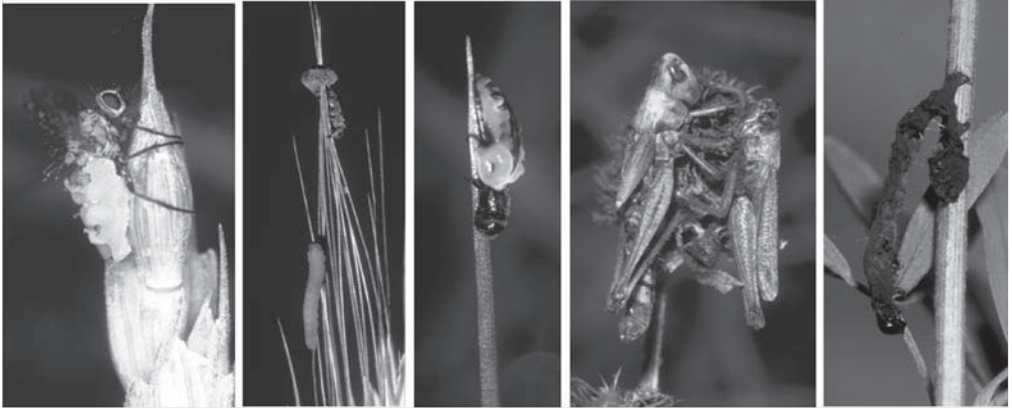


Abb. 1. Beispiele von „Wipfelsucht“ v.l.n.r.: Wurzelfliege (*Delia* sp., Anthomyiidae) infiziert mit *Entomophthora schizophorae*, Getreideblattwespenlarven infiziert mit *Entomophaga tenthredinis* (die untere Larve klettert zur Spitze), Schnellkäfer (*Agriotes sputator*) infiziert mit *Zoophthora elateridiphaga*, Heuschrecken infiziert mit *Entomophaga grylli*, Gammaeule infiziert mit *Pandora gammaeae*.

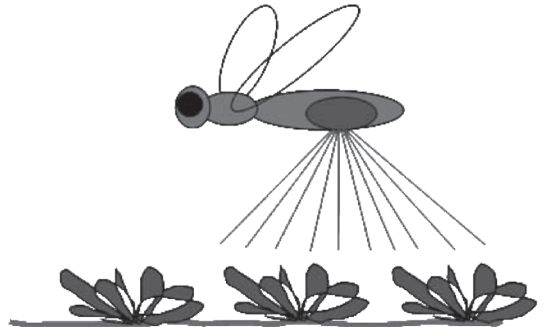


Abb. 2. Wurzelfliege (*Delia* sp.) infiziert mit *Strongwellsea castrans*. Links: Bei der für die Aufnahme getöteten Fliege ist deutlich das Loch im Abdomen sichtbar, durch das der Pilz die Sporen aktiv abschleudert. Rechts: Die nur im Abdomen infizierten Fliegen verteilen die Sporen im arttypischen Lebensraum und verschaffen dadurch dem Pilz maximale Infektionsmöglichkeiten.

Die Manipulierung des Wirtes durch den Pilz erreicht ihren Höhepunkt bei jenen Arten, die den Wirt nicht abtöten, sondern ihn zur Verbreitung der Sporen nutzen. Diese Pilze besiedeln in der Regel nur das Abdomen ihrer Opfer und lassen die zur Fortbewegung dienenden Strukturen unbeeinflusst. So bewegt sich der Wirt im arttypischen Lebensraum und verstreut während etwa ein bis drei Tagen die Sporen des Pilzes. Damit sind für diesen spezifischen Pilz die Voraussetzungen zur Infektion artgleicher Wirte optimal. Typische Beispiele für diese Lebensweise sind alle Arten der Gattung *Strongwellsea*, die verschiedene Fliegenarten infizieren (Abb. 2).

- b. Bildung spezifischer Strukturen und Optimierung der eigenen Strategie. Das Wipfeln ist verbunden mit der Bildung spezifischer Strukturen, den Rhizoiden oder Haftfasern. Damit fixiert der Pilz sein noch lebendes Opfer an die Unterlage. Werden keine Rhizoide gebildet, veranlasst der Pilz den Wirt, sich an der Unterlage festzubeissen oder sie mit den Beinen zu umklammern. Bei infizierten Fliegen mit sporulierendem Pilz ist bekannt, dass artgleiche Männchen angelockt werden. Die Lockwirkung geht aber nicht vom infektiionsbedingt vergrößerten und weiss gefärbtem Abdomen aus, sondern der Pilz selber bildet Lockstoffe. Vertreter der Neozygitaceae, die vor allem als Pathogene von kleinen Insekten und von Milben bekannt sind, bilden am Ende einer langen Kapillare Sekundärkonidien. Diese haben an der Spitze ein klebriges Sekret, das sich an vorbeikommende Wirte heftet. Dabei bricht das Konidium von der Kapillare. Sofort bildet sich der Keimschlauch, der durch die anhaftende Spitze in den Wirt eindringt. Die so genannten

aquatischen Entomophthoraceen-Arten bilden in Kontakt mit Wasser sternförmige Konidien, von denen angenommen wird, dass sie in diesem Lebensraum bessere Infektionsmöglichkeiten haben.

- c. Anpassung an die Lebensweise des Wirtes. In infizierten Blattläusen werden die Embryonen nicht siedelt. Die Blattläuse sind in der Lage, bis kurz vor dem Tod gesunde Junge zu gebären. Da diese in unmittelbarer Umgebung ihrer sterbenden Mutter bleiben, werden sie bald von den abgeschleuderten Konidien getroffen und infiziert. Sie tragen so zur Erhaltung der Infektionskette und zur Verbreitung der Krankheit bei. *Zoophthora aphidis* bildet in infizierten, oviparen Blattlaus-Weibchen Dauersporen. Die Blattläuse sterben an den Eiablageplätzen und werden dort vom Pilz mit Rhizoiden befestigt. Als Dauersporenkruste sind sie auch in der kommenden Saison noch dort. Im Gegensatz dazu verflüssigen *Neozygites*-Arten infizierte Blattläuse, wenn sie Dauersporen bilden. Die Dauersporen werden vom Regen auf die Bodenoberfläche gewaschen, wo sie überwintern. An der Pflanzenbasis in ihrer Nähe überwintern auch ihre Wirte. Mücken sterben oft in Massen an ihren bevorzugten Eiablageplätzen. In unmittelbarer Umgebung der Gelege befinden sich riesige Sporenmengen. Allerdings ist unbekannt, ob die Pilze auch Mückenlarven infiziert.

Wichtige Forschungslücken

Zahlreiche entomopathogene Hyphomyceten sind als Pflanzenschutzmittel im Einsatz. Im Gegensatz dazu ist das enorme Potenzial der Entomophthorales noch praktisch ungenutzt. Hier gilt es, die Grundlagen für Kultivierung, Massenproduktion, Formulierung und Applikation zu erforschen. Eine immer wieder auftauchende Frage gilt der Resistenz. Können Arthropoden gegen ihre pilzlichen Antagonisten resistent werden und wenn ja, auf welche Weise? Kann der Pilz im Gegenzug durch genetische Rekombination oder andere Mechanismen seine pathogenen Eigenschaften der neuen Situation anpassen?

In der Grundlagenforschung sind zahlreiche Wissenslücken in den Bereichen Systematik, Biologie und Genetik der Entomophthorales, der adaptiven und evolutiven Mechanismen sowie der Wirt-Pathogen Interaktionen sowohl auf Individuums- wie auf Populationsebene vorhanden. Wieso sind Entomophthorales derart erfolgreich? Worauf beruht ihre hohe Wirtsspezifität? Werden Seuchenzüge von bestimmten Pathotypen verursacht? Führen sie zu genetischer Umstrukturierung der Wirtspopulationen? Wie reagieren Arthropoden auf ihre pilzlichen Antagonisten? Die Liste der Fragen ist keinesfalls vollständig, soll aber dazu anregen, unsere Kenntnisse über die entomopathogenen Pilze und ihre Interaktionen mit ihren Wirten zu verbessern sowie die Grundlagen für eine praktische Nutzung der Entomophthorales zu erarbeiten.

Literatur

- KELLER, S., C. SCHWEIZER & P. SHAH (1999): Differential susceptibility of two *Melolontha* populations to infections by the fungus *Beauveria brongniartii*. - *Biocontrol Sci. Techn.* **9**: 441-446.
- MEYLING N.V. & J.K. PELL (2006): Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecol. Entomol.* **31**, 162-171.
- ROY, H.E., D.C. STEINKRAUS, J. EILENBERG, A.E. HAJEK & J.K. PELL (2006): Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Ann. Rev. Entomol.* **51**: 331-357.