

## Untersuchungen zur Regulierung von Apfelsägewespe und Blutlaus im ökologischen Obstbau

Control of the apple sawfly *Hoplocampa testudinea* Klug, side effects and some studies on the biology of *Aphelinus mali* Haldeman in organic fruit growing

**FKZ: 02OE084**

**Projektnehmer:**

Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen  
Institut für Biologischen Pflanzenschutz  
Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt  
Tel.: +49 6151 407-230  
Fax: +49 6151 407-290  
E-Mail: [bi@jki.bund.de](mailto:bi@jki.bund.de)  
Internet: <http://www.jki.bund.de>

**Autoren:**

Kienzle, J.; Zimmer, J.; Klopp, K.; Maxin, P.; Yamada, K.; Bathon, H.; Zebitz, C.P.W.; Ternes, P.; Vogt, H.

**Herausgeberin:**

Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau  
in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)  
53168 Bonn  
Tel.: +49 228 6845-3280 (Zentrale)  
Fax: +49 228 6845-2907  
E-Mail: [geschaeftsstelle-oekolandbau@ble.de](mailto:geschaeftsstelle-oekolandbau@ble.de)  
Internet: [www.bundesprogramm-oekolandbau.de](http://www.bundesprogramm-oekolandbau.de)

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

**Zuwendungsempfänger:  
Biologische Bundesanstalt für Landwirtschaft und Forsten  
Institut für biologischen Pflanzenschutz  
Dr. H. Bathon  
Heinrichstr. 243  
64287 Darmstadt**

## **Forschungsprojekt Nr. 02OE084**

# **Regulierung von Apfelsägewespe und Blutlaus im Ökologischen Obstbau**



**Laufzeit 01.05.2002 bis 31.12.2003**

**Berichtszeitraum Mai 2002 bis Dezember 2003  
Abschlussbericht**

### **Zusammenarbeit im Projekt mit folgenden Stellen:**

- Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, 70593 Stuttgart
- Institut für Pflanzenschutz im Obstbau der BBA, 69221 Dossenheim
- SLVA Ahrweiler, 53474 Ahrweiler
- Öko-Obstbaugruppe Norddeutschland (ÖON), Versuchs- und Beratungsring e.V.  
Obstbau Versuchs- und Beratungszentrum, 21635 Jork
- Beratungsdienst Ökologischer Obstbau e.V., 75184 Weinsberg
- Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V., 75184 Weinsberg
- Trifolio-M GmbH, Sonnenstr. 22, 35633 Lahnau

## INHALT

<b>1</b>	<b>Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Darstellung des mit der Fragestellung verbundenen Entscheidungshilfe-/Beratungsbedarfs im BMVEL .....</b>	<b>3</b>
1.1	Planung und Ablauf des Projekts .....	3
1.2	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde .....	4
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>7</b>
2.1	<b>Regulierung der Apfelsägewespe .....</b>	<b>7</b>
2.1.1	<i>Untersuchungen von Holzproben auf Inhaltsstoffe .....</i>	<i>7</i>
2.1.2	<i>Optimierung der Anleitung zur Selbstherstellung von Quassiaauszügen .....</i>	<i>8</i>
2.1.3	<i>Untersuchungen zu den Effekten der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe von Quassia auf verschiedene Stadien der Sägewespe .....</i>	<i>9</i>
2.1.4	<i>Freilandversuche zur Wirkung von Quassiaextrakten mit verschiedenen Aufwandmengen / Terminen / Kombinationen mit NeemAzal-T/S .....</i>	<i>14</i>
2.1.5	<i>Freilandversuche zur Langzeitwirkung von NeemAzal-T/S .....</i>	<i>16</i>
2.1.6	<i>Evaluierung eines temperatursummengesteuerten Erstmodells von GRAF auf Tauglichkeit zum Einsatz in der Beratung bei der Bestimmung des optimalen Spritztermins .....</i>	<i>16</i>
2.2	<b>Nebenwirkungen der Strategie gegen die Sägewespe auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge .....</b>	<b>16</b>
2.2.1	<i>Testsubstanzen und Kontrolle .....</i>	<i>17</i>
2.2.2	<i>Zucht und Herkunft der Versuchstiere .....</i>	<i>17</i>
2.2.3	<i>Versuche mit <i>Aphelinus mali</i> und <i>Aphidius rhopalosiphi</i> .....</i>	<i>18</i>
2.2.4	<i>Versuche mit Entwicklungsstadien von <i>A. mali</i> .....</i>	<i>19</i>
2.2.5	<i>Versuche mit <i>Forficula auricularia</i> .....</i>	<i>19</i>
2.2.6	<i>Versuche mit <i>Coccinella septempunctata</i> .....</i>	<i>20</i>
2.2.7	<i>Versuche mit <i>Chrysoperla carnea</i> .....</i>	<i>21</i>
2.2.8	<i>Berechnungen und Statistik .....</i>	<i>21</i>
2.3	<b>Förderung der Blutlauszehrwespe .....</b>	<b>22</b>
2.3.1	<i>Untersuchungen zur Möglichkeit/Notwendigkeit der Entnahme von Material zur Überwinterung der Blutlauszehrwespe vor Saisonende .....</i>	<i>22</i>
2.3.2	<i>Untersuchungen zur Möglichkeit der Diapauseinduktion, Lagerung und Wiederausbringung von Freilandmaterial bei einem professionellen Nützlingszüchter .....</i>	<i>23</i>
2.3.3	<i>Untersuchungen zu den Nebenwirkungen von im Ökologischen Obstbau verwendeten Pflanzenbehandlungsmitteln auf die Blutlauszehrwespe .....</i>	<i>26</i>
2.3.4	<i>Erste Untersuchungen zur Darlegung der genetischen Diversität unterschiedlicher Populationen der Blutlauszehrwespe .....</i>	<i>27</i>

<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1</b>	<b>Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Regulierung der Apfelsägewespe</b> .....	<b>30</b>
3.1.1.1	Untersuchungen von Holzproben auf Inhaltsstoffe .....	30
3.1.1.2	Optimierung der Anleitung zur Selbstherstellung von Quassiaauszügen... 31	
3.1.1.3	Untersuchungen zu den Effekten der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe von Quassia auf verschiedene Stadien der Sägewespe .....	33
3.1.1.4	Freilandversuche zur Wirkung von Quassiaextrakten mit verschiedenen Aufwandmengen / Terminen / Kombinationen mit NeemAzal-T/S .....	36
3.1.1.5	Auswertung der Praxiserfahrungen im Jahr 2003 .....	47
3.1.1.6	Evaluierung eines temperatursummengesteuerten Erstmodells von GRAF auf Tauglichkeit zum Einsatz in der Beratung bei der Bestimmung des optimalen Spritztermins .....	48
3.1.1.7	Freilandversuche zur Langzeitwirkung von NeemAzal-T/S .....	49
3.1.1.8	Diskussion Regulierung der Apfelsägewespe .....	49
<b>3.1.2</b>	<b>Nebenwirkungen der Strategie gegen die Sägewespe auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge</b> .....	<b>50</b>
3.1.2.1	Versuche mit <i>Aphelinus mali</i> und <i>Aphidius rhopalosiphi</i> .....	50
3.1.2.2	Versuche mit <i>Forficula auricularia</i> .....	53
3.1.2.3	Versuche mit <i>Coccinella septempunctata</i> .....	53
3.1.2.4	Versuche mit <i>Chrysoperla carnea</i> .....	55
3.1.2.5	Zusammenfassung Nebenwirkungen auf Nützlinge.....	55
<b>3.1.3</b>	<b>Förderung der Blutlauszehrwespe</b> .....	<b>55</b>
3.1.3.1	Untersuchungen zur Möglichkeit/Notwendigkeit der Entnahme von Material zur Überwinterung der Blutlauszehrwespe vor Saisonende.....	55
3.1.3.2	Untersuchungen zur Möglichkeit der Diapauseinduktion, Lagerung und Wiederausbringung von Freilandmaterial bei einem professionellen Nützlingszüchter .....	57
3.1.3.3	Untersuchungen zu den Nebenwirkungen von im Ökologischen Obstbau verwendeten Pflanzenbehandlungsmitteln auf die Blutlauszehrwespe.....	65
3.1.3.4	Erste Untersuchungen zur Darlegung der genetischen Diversität unterschiedlicher Populationen der Blutlauszehrwespe .....	65
<b>3.2</b>	<b>Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse</b> .....	<b>70</b>
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>70</b>
<b>5</b>	<b>Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; ggf. mit Hinweisen auf weiterführende Fragestellungen</b> .....	<b>72</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>72</b>

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

Ziel des Projekts war es, wesentliche Informationen über die Regulierung der Apfelsägewespe und der Blutlaus im ökologischen Kernobstanbau zu erarbeiten. Die zum Zeitpunkt der Antragstellung bestehenden großen Unsicherheiten bezüglich Qualität und Terminierung, Kombinationsmöglichkeit mit anderen Präparaten sowie Nebenwirkungen auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge des traditionell zur Regulierung der Sägewespe eingesetzten Quassiaholzauszuges sollten ausgeräumt werden.

Des weiteren sollten mögliche Managementstrategien für eine Förderung der Blutlauszehrwespe auf ihre Praxistauglichkeit überprüft und optimiert werden.

Die Ergebnisse zu den Effekten der aktiven Substanzen in Quassia können einerseits bei der Weiterentwicklung der VO (EWG) 2092/91 mittelfristig die pflanzenbauliche Grundlage für Entscheidungen über eine eventuelle Aufnahme einer weiteren Stamm-pflanze für Quassiaholz in Anhang II darstellen, die in einigen EU-Ländern bereits andiskutiert wird. Gleichzeitig wurde ein Ansatz für eine wirksame Strategie zur Regulierung der Sägewespe mit vertretbarem Kostenaufwand und möglichst geringen Nebenwirkungen auf relevante Nützlinge (Blutlauszehrwespe, andere Nützlinge) für die Praxis des Ökologischen Obstbaus bereitgestellt.

Auf der Grundlage der Ergebnisse zur Förderung der Blutlauszehrwespe konnte entschieden werden, dass dieses Verfahren keinen Lösungsansatz für die Praxis des Ökologischen Obstbau darstellen kann. Demzufolge soll ein Verfahren zur Freilassung von Blutlauszehrwespen aus Massenzucht erarbeitet werden. Die erhobenen Daten zur Blutlauszehrwespe können auch als Grundlage für dieses Projekt verwendet werden.

## **1.1 Planung und Ablauf des Projekts**

In den meisten Bereichen wurde der Arbeitsplan eingehalten und das Projektziel erreicht.

Die Labor- und Freilandversuche zur Apfelsägewespe wurden im ersten Projektjahr weitgehend wie geplant durchgeführt. Aufgrund der überraschenden Ergebnisse der Versuche mit den Stadien der Eireifung wurden noch zahlreiche Versuche mit älteren Larven zusätzlich durchgeführt. Außerdem wurde das Projekt aufgrund der spezifischen Witterungsbedingungen in 2002 um einen weiteren Bereich erweitert: In Süddeutschland erfolgten noch ein Freiland- und ein Laborversuch zur Regenbeständigkeit von Quassia, die diese Frage zufriedenstellend beantworten konnten.

Im zweiten Versuchsjahr stand daher die Fragestellung der Differenzierung der Wirkung zwischen Eiern und Larven im Vordergrund der Laborversuche. Mit den durchgeführten Versuchen konnte dies vollständig geklärt werden. Die offenen Fragen zu den Qualitätskriterien sind mit diesen Versuchen weitgehend beantwortet. Bei den Freilandversuchen stand ebenfalls die Terminierung sowie die Wirkung der Reinsubstanzen im Vordergrund. Aufgrund diverser Probleme bei den Versuchen konnten die offenen Fragen hier im Versuchsjahr 2003 nicht ausreichend beantwortet werden. Probleme bei der Anwendung in der Praxis führten zusätzlich noch zu neuen offenen Fragen bezüglich der notwendigen Aufwandmenge, dem optimalen Applikationstermin und der Anzahl der Behandlungen bei lang andauernder Blüte.

Ergebnisse zur Mortalität der Sägewespenlarven während der Überwinterung und Verpuppung nach Neem-Behandlung konnten 2002 nicht vorgelegt werden, da die Tiere in der Hitzeperiode im Juni abstarben. 2003 konnten aufgrund der unerwartet guten Wirkung geringer Aufwandmengen von Quassia nur wenige Larven gesammelt werden, die sich derzeit in der Überwinterung befinden und im Frühjahr ausgewertet werden.

Bei der Untersuchung auf Nebenwirkungen auf Nützlinge zeigte sich bereits in den Laborversuchen, dass keine Effekte auf die Blutlauszehrwespe zu erwarten waren. Da daher keine Halbfreilandversuche notwendig waren, wurden noch die Nebenwirkungen von Quassia auf andere Nützlinge wie Florfliege und Ohrwurm untersucht.

Die Versuche zur Praktikabilität der Überwinterung von bereits im Spätsommer gesammelten mit Blutlauszehrwespen besetzten Zweigen wurden 2002 wie geplant durchgeführt. Da die Ergebnisse klar negativ waren, wurde der Versuch 2003 nicht wie geplant wiederholt.

Bedingt durch die extremen und untypischen Witterungsverhältnisse in beiden Versuchsjahren konnte der Versuch zur „Verfrühung“ der Blutlauszehrwespe im Sommer nicht durchgeführt werden.

Seitens der Praxis wurde dann 2003 die Frage gestellt, ob die Möglichkeit besteht, Material aus dem Freiland im August bei einem professionellen Nützlingszüchter in Diapause zu versetzen und zu lagern, um so einen Teil der Kosten für das Aussetzen von Zehrwespen im Folgejahr einzusparen. Hierzu wurden dann im Rahmen einer Umwidmung der für die o.g. Versuche nicht verbrauchten Mittel weitere Versuche durchgeführt. Des Weiteren wurde diskutiert, ob es bei den Blutlauszehrwespen unterschiedlicher Herkünfte besser an die in Deutschland herrschenden klimatischen Verhältnisse angepasste Biotypen gibt. Demzufolge erfolgten erste Untersuchungen zur Darlegung der genetischen Diversität unterschiedlicher Populationen der Blutlauszehrwespe.

Die ebenfalls von der Praxis gestellte Frage, ob ein gewisser Teil der Probleme mit der Blutlauszehrwespe nicht auch auf Nebenwirkungen anderer Präparate als Quassia-Auszüge, die im ökologischen Obstbau verwendet werden, zurückzuführen sein könnten, wurde mittels Untersuchungen zu Schwefel, Schwefel-Kalk und Kupferpräparaten ebenfalls im Rahmen der Umwidmung zumindest ansatzweise geklärt.

## **1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

Die Apfelsägewespe, *Hoplocampa testudinea*, ist ein bekannter Schädling im Apfelanbau, der erhebliche Ertragsverluste verursachen kann (ALFORD, 1986; ZIMMER, 2001). In den letzten Jahren hat sie sich in den meisten deutschen Obstbauregionen zu einem der wichtigsten Problemschädlinge im Ökologischen Obstbau entwickelt.

Die Adulten schlüpfen im Frühjahr bei Blühbeginn. Das Weibchen legt mit der charakteristischen Säge das Ei in den Blütenboden ab. Die Larve (Afterraupe) schlüpft und bohrt sich sofort in den Apfel ein. Später verlässt sie den ersten Apfel, um die zweite Frucht und evtl. bis zu vier weitere Früchte zu befallen. Die ausgewachsene Larve lässt sich zu Boden fallen und gräbt sich in den Boden ein, wo sie in Diapause eintritt. Die Verpuppung erfolgt im darauffolgenden Frühjahr.

Die Apfelsägewespe ist normalerweise relativ ortstabil (GRAF et al., 1996). Daraus ließe sich ableiten, dass eine längerfristige Strategie zur Reduzierung der Folgepopulation sehr erfolgreich sein müsste. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass die Larve wahlweise auch einen zweiten oder dritten Winter im Boden verbringen kann (sogenannte Überlieger). Nach Untersuchungen von GRAF et al. (1994) ist dieses Verhalten zusammen mit der Parasitierung wesentlicher Grund für die sehr charakteristischen starken Schwankungen der Populationsdichte bei diesem Insekt. Eine Reduzierung der Folgepopulation muss also mehrjährig angelegt werden. Außerdem kann das Massenaufreten damit wohl nicht vollständig verhindert sondern bestenfalls reduziert werden.

Traditionell werden gegen diesen Schädling im Öko-Obstbau Quassiaauszüge eingesetzt. Dies ist nach §6a Pfl.Sch.Ges. zulässig. Die Wirkung von Quassiaauszügen auf die Apfelsägewespe wird durch Literaturangaben (BLOKSMA, 1994) und die Versuche von NOACK (2001, mündl. Mitteilung) und HOEHN et al. (1996) bestätigt. In fast allen Versuchen zur Apfelsägewespe in neuerer Zeit wurde allerdings ein sogenanntes standardisiertes Quassiapräparat verwendet, das erst von der Fa. Finzelberg, später dann von Fa. Bionomic bzw. noch später Fa. Agricounsel vertrieben wurde. Das Präparat galt zwar als standardisiert, es wurde allerdings lediglich über den Gehalt an „Bitterstoffen“ definiert. Eine genauere Analyse oder Definition der Inhaltsstoffe lag nicht vor. In den Jahren 1999 und 2000 zeigte Quassia jedoch kaum Wirkung. Auch in früheren Jahren waren bereits öfters Probleme aufgetreten, die vor allem auf Unsicherheiten bei der Terminierung zurückgeführt wurden.

Nachdem jedoch flächendeckend 1999 und 2000 kein Effekt der Quassia-Behandlung beobachtet wurde, initiierten FÖKO und ÖON Biotests an Blattläusen in Verbindung mit einer ersten quantitativen Analytik auf den Inhaltsstoff Quassin. Diese Tests zeigten, dass erhebliche Qualitätsprobleme bei dem im Handel befindlichen Quassiamaterial bestehen. Die Festlegung von Qualitätskriterien anhand der Inhaltsstoffe konnte bis jetzt nur ansatzweise auf der Basis von Quassin erfolgen (KIENZLE & SCHULZ, 2001). Erste eigene Versuche hierzu (KIENZLE et al., 2002) erbrachten noch keine abgesicherten Ergebnisse über die Aufwandmenge an Quassin, die zur Regulierung der Apfelsägewespe benötigt wird.

Das ebenfalls für den Ökologischen Obstbau zugelassene NeemAzal-T/S wies keine ausreichende Wirkung zur Kontrolle der Apfelsägewespe bei hohem Befall auf, da es den Primärbefall kaum beeinflusste (KIENZLE, 2001). Interessante Effekte waren dagegen beim Sekundärbefall zu beobachten (KIENZLE et al., 2002). Diese wiesen auf ein Absterben der Larven in jüngeren Larvenstadien hin. Zur weiteren Reduzierung der Kosten bzw. zur Optimierung der Wirkung der Strategie gegen die Sägewespe schien es sinnvoll, die Blattlausbehandlung mit diesem Präparat zu splitten (statt einer Behandlung vor der Blüte zwei Behandlungen: eine vor der Blüte, eine in der abgehenden Blüte). Erste Versuchsergebnisse wiesen allerdings darauf hin, dass bei der Kombination mit Quassiaauszügen der Antifeedant-Effekt beider Präparate berücksichtigt werden musste. Anhand dieser ersten Versuche konnte noch keine abschließende Beurteilung einer möglichen Kombination von Quassiaauszügen mit NeemAzal-T/S zur Reduzierung der Aufwandmenge und Erhöhung der Sicherheit erfolgen. Außerdem war zu untersuchen, ob in späteren Larvenstadien bzw. bei der Verpuppung noch eine Mortalität der Larven zu beobachten ist. Aufgrund der Biologie der Sägewespe (Überliegen, oft überraschendes Auftreten trotz Standorttreue) könnte dies zwar keinen kurzfristigen Lösungsansatz, mittelfristig aber einen Teil einer längerfristigen Strategie darstellen. Dies bedeutet, dass hinsichtlich zeitlicher Abfolge (gleichzeitig, NeemAzal-T/S später) und optimaler Aufwandmenge beider Komponenten zur Kombination noch Untersuchungsbedarf bestand.

Bei Quassia schien es wahrscheinlich, dass zumindest ein bis zwei weitere Aktivsubstanzen bei Qualitätskriterien berücksichtigt werden müssen. Es lagen nur wenige Literaturangaben über die Aktivsubstanzen von Quassiaholz vor. Als Hauptbestandteile wurden sowohl Quassin (Nigakilacton D) als auch Neoquassin genannt. Aus *Quassia amara* wurde unter anderem noch 18-Hydroxyquassin als weiterer nennenswerter Bestandteil isoliert (DOU et al., 1996; HAGER 1977 in WICHTL 1997). Die Effekte dieser Aktivsubstanzen sind zum Teil unterschiedlich (DAIDO et al., 1993), so dass nicht nur der Mangel an Wirkstoffen sondern auch eine unterschiedliche Zusammensetzung für die Probleme mit Quassiaholz in den letzten Jahren verantwortlich sein dürften. Um definitive quantitative Qualitätskriterien für die Inhaltsstoffe und Empfehlungen zur optimalen Aufwandmenge, zur Terminierung und zur Dauer der Wirkung zu erarbeiten, waren Versuche mit definierten Extrakten bzw. in kleinerem Umfang mit möglichst reinen Einzelsubstanzen notwendig. Stammpflanzen von Quassia sind *Quassia amara* und *Picrasma excelsa*, wobei nur *Quassia amara* in der VO 2092/91 (EWG) aufgeführt ist.

Bisherige Analysen vor Projektbeginn ergaben bei *Picrasma excelsa* einen weit höheren Wirkstoffgehalt als bei *Quassia amara*, vor allem hinsichtlich Neoquassin. Dies könnte einen wesentlichen Kostenfaktor für die Betriebe darstellen. Für eine Beurteilung waren aber vorher die Effekte der einzelnen Inhaltsstoffe zu prüfen.

Für die Terminierung der Spritzungen sind genaue Kenntnisse über die Wirkung der verschiedenen Inhaltsstoffe von Quassia auf die einzelnen Embryonalstadien der Sägewespe-Larven (frisch abgelegte Eier, Eier kurz vor dem Schlupf, geschlüpfte Larve) erforderlich. Das Vorhandensein dieser Stadien ist nur mittels eines Stereomikroskops in sehr aufwendigen Kontrollen zu ermitteln. Diese Untersuchungen können auf vielen Betrieben aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden, so dass die Terminierung oft sehr vage aufgrund des Vegetationsstadiums oder des Flugendes erfolgt. Für die Prognose des Flugbeginns und damit des optimalen Termins zur Ausbringung der Fallen wurden bereits Temperatursummenmodelle auf der Basis von Luft- und Bodentemperaturen vorgestellt (GRAF et al., 1996; ZIJP & BLOMMERS, 1997). GRAF (FAW Wädenswil; mündl. Mitteilung, 2001 und 2002) entwickelt zur Zeit auch ein Modell zur Simulation der Embryonalentwicklung der Sägewespe anhand von Temperatursummen. Die Eignung dieses Modells zur Terminierung der Behandlungen speziell für den sehr engen Bereich (Larve kurz vor dem Schlupf), der für die in ökologisch wirtschaftenden Betrieben angewandten Präparate in Frage kommt, wurde jedoch noch nicht überprüft. GRAF plant, das Modell nach erfolgter Entwicklung im Internet allen Benutzern zugänglich zu machen. Dies bedeutete, dass das Modell später von allen Beratungseinrichtungen genutzt werden kann.

Hinsichtlich der Wirkungsdauer des Spritzbelages und der genauen Terminierung bestanden zu Projektbeginn noch erhebliche Unsicherheiten (KIENZLE, 2001; QUAST, 2001). In den meisten Regionen gibt es zur Zeit zwei Schlupfhöhepunkte der Erstlarven der Apfelsägewespe, die etwa eine Woche bis zehn Tage auseinander liegen. Zu Projektbeginn wurden zwei Behandlungen mit Quassiaextrakten empfohlen. Dies führte zu Kosten von bis zu € 600/ha für die Regulierung. Erste Versuche wiesen darauf hin, dass eventuell eine Behandlung ausreichen könnte. Um hier sichere Empfehlungen geben zu können, sollten genauere Untersuchungen zu den Effekten der Quassiaauszüge auf Eier bzw. Larven der Sägewespe sowie zur Wirkungsdauer des Belages erfolgen.

Bei den Effekten der einzelnen Inhaltsstoffe von Quassiaholz waren besonders auch die Nebenwirkungen auf relevante Nützlinge zu berücksichtigen. Die Blutlaus hat in den letzten Jahren in Öko-Anlagen wieder erhebliche Schäden verursacht. Als Ursache dafür wurde eine Nebenwirkung der Quassia-Behandlungen auf die Blutlauszehrwespe diskutiert. Entsprechende Beobachtungen aus früheren Versuchen lagen vor (NOACK, 2001, mündl. Mitteilung). Nach eigenen Untersuchungen erwies sich Quassia als nicht schädigend für Florfliegen (VOGT & JUST, 2001 und 2002). VOGT (2000) zeigte aber auch, dass Schlupfwespen meist empfindlicher als andere Nützlinge auf Pflanzenschutzmittel reagieren.

Gegebenenfalls waren auch noch die Nebenwirkungen auf den Ohrwurm, der bei der Begrenzung der Blutlaus nachweislich eine wichtige Rolle spielt (MUELLER et al. 1988, LENFANT et al. 1992, RAVENSBERG, 1981), zu berücksichtigen.

Für die mangelnde Eindämmung der Blutlauspopulation durch die Blutlauszehrwespe wurden aber auch andere Ursachen diskutiert als die einer Schädigung des Nützlings durch die Quassiaauszüge. Es ist bekannt, dass die Blutlauszehrwespe in Europa nur bedingt an den Zyklus der Blutlaus angepasst ist: Im Frühjahr schlüpfen die Tiere oft viel zu früh und werden dann von der nasskalten Witterung stark dezimiert. Der Entwicklungsnullpunkt der Blutlaus (ca 5 °C) liegt wesentlich niedriger als der der Zehrwespe (8,3-9 °C) (BONNEMAISON, 1965, ASANTE & DANTHANARAYANA, 1992).

Dies führt in kühlen Frühsommern dazu, dass sich die Blutlauspopulation wesentlich schneller entwickelt als die der Zehrwespe. Im August ist dann meist eine sehr hohe Parasitierung zu beobachten, die Schädigung der Pflanzen ist dann aber bereits erfolgt.

Die Zehrwespe überwintert als Larve in parasitierten Blutläusen.

Zum Zeitpunkt des Beginns des Kälteeintritts im Herbst sind allerdings nur wenige Zehrwespen im geeigneten Stadium für eine Überwinterung (ältere Larvenstadien) (BONNEMAISON, 1965). Die meisten sind zu diesem Zeitpunkt adult und können den Winter nicht überstehen.

Es ist ein bekanntes Verfahren, die mit parasitierten Blutläusen besetzten Triebe zu schneiden und im Kühllager zu überwintern. Das Schlupfverhalten von im Frühwinter entnommenen Mumien unter künstlichen Überwinterungsbedingungen wurde bereits untersucht (TRIMBLE et al., 1990) und ähnelt dem bei Überwinterung im Freiland. Ausgebracht werden die Triebe wenn die Schlechtwetterperiode im Frühjahr vorüber ist. Mit diesem Verfahren kann zumindest das Problem im Frühjahr reduziert werden. Es wird auf Öko-Betrieben auch praktiziert, scheiterte in den letzten Jahren aber meistens daran, dass im Spätherbst kaum mit Zehrwespen besetzte Blutläuse vorhanden waren. Dies entspricht den Untersuchungen von BONNEMAISON (1967) für das französische Gebiet. Im Rahmen eines 1999 gegründeten AK Blutlaus der FÖKO wurden erste eigene Tastversuche zur Lösung dieses Problems durchgeführt. Es schien sinnvoll, die Tiere für die Überwinterung bereits im August zu entnehmen, wo reichlich mit Zehrwespen besetzte Blutlauskolonien vorhanden sind. Geprüft werden muss jedoch, inwiefern und unter welchen Umständen diese Zehrwespen die Lagerung über den Winter überstehen. Hierzu gehört neben Temperatur und Feuchte bei der Lagerung auch die Bestimmung des Stadiums der Zehrwespe in den Mumien, das für die Lagerung am besten geeignet ist. Daher müssen zu verschiedenen Terminen Proben gezogen und vor der Lagerung auf vorhandene Stadien untersucht werden.

Aufgrund von Berechnungen mittels der Entwicklungsnullpunkte von Blutlauszehrwespe und Blutlaus wäre interessant gewesen, zu testen, ob ein „Warmstellen“ entnommener zehrwespenbesetzter Zweige und damit eine Verfrühung des Schlupfs der Zehrwespen in kühlen Frühsommern ein erfolversprechendes Verfahren zur Lösung dieses klimabedingten Problems böte. Diese Untersuchung war leider aufgrund der durchgehend heißen Sommer im Versuchszeitraum nicht möglich.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Regulierung der Apfelsägewespe

#### 2.1.1 Untersuchungen von Holzproben auf Inhaltsstoffe

Holz von unterschiedlicher Herkunft war auf seinen Gehalt an Quassin und an Neoquassin zu testen. Zu diesem Zweck konnten Holzproben von *Quassia amara* und *Picrasma excelsa* von diversen Lieferanten aus verschiedenen mittel- und südamerikanischen Ländern sowie der Karibik bezogen werden. Zusätzlich wurde eine Holzprobe aus China erhalten (*Picrasma quassioides*). Teilweise wurde Holz über einen europäischen Großhändler bezogen. Hier konnte die genaue Herkunft nicht geklärt werden.

Zum größten Teil wurde das Holz in Form von Chips angeliefert. Diese Chips wurden je nach Größe direkt extrahiert, mussten zum Teil aber noch stärker zerkleinert werden. Teilweise wurden auch ganze Aststücke geliefert. Diese wurden dann zunächst grob zerkleinert und von verschiedenen Aststücken Proben entnommen, anschließend in eine extraktionsfähige, kleinere Form gebracht. Die Probennahme erfolgte jeweils an verschiedenen Stellen einer Probe, um eine Mischprobe zu erhalten.

Zur **vollständigen** Extraktion der Metaboliten Quassin und Neoquassin wurden die vorbereiteten Holzproben jeweils in Erlenmeyerkolben eingewogen, wobei für jedes Holz zwei Wiederholungen angefertigt wurden.

Man versetzte dann jede Probe mit einem Methanol/Wassergemisch. Holz und Lösungsmittel wurden im Verhältnis 1:10 (Gewichtsanteile) eingesetzt. Es wurde unter Rückfluss auf 60-70°C erhitzt und der Kolbeninhalt gerührt.

Nach 4stündiger Extraktionszeit wurde das Lösungsmittel mittels Büchnertrichter unter Vakuum abfiltriert, der Filtrerrückstand gewaschen und die flüssigen Phasen vereinigt. Dieses Prozedere wurde noch je zweimal wiederholt und schließlich alle gesammelten Extrakte eines Ansatzes vereinigt. Die Extrakte wurden am Rotationsverdampfer im Vakuum bis zu einem wässrigen Rest eingeeengt, dieser Rest in einen Messkolben überführt und bis zu einem definierten Volumen aufgefüllt. Nach der Aufarbeitung über verschiedene Festphasen und Teilchenfilter wurde der Gehalt an Wirkstoff in einer Probe per HPLC analysiert.

Zur HPLC-Analyse standen ein Vergleichsstandard mit Quassin und mit Neoquassin zur Verfügung. Der Gehalt wurde jeweils über eine Kalibriergerade mit diesen externen Standards ermittelt. Zur HPLC-Messung wurde eine RP-Phase verwendet. Die Detektion erfolgte über einen UV-Detektor bei 285 bzw. 254 nm.

### 2.1.2 Optimierung der Anleitung zur Selbstherstellung von Quassiaauszügen

Es sollte in verschiedenen Tests festgestellt werden, welche anwendungsrelevanten Bedingungen zu einer optimalen Extraktion von aktiven Inhaltsstoffen aus Bitterhölzern führen. Wichtige Kriterien dabei schienen:

- Dimensionen der Holzchips
- Temperatur
- Wassermenge/Nachbehandlung
- Zeit

#### Allgemeine Versuchsdurchführung

Alle nachstehend näher beschriebenen Versuche wurden doppelt durchgeführt. Holz wurde in Erlenmeyerkolben eingewogen, und mit der entsprechenden Menge an Wasser versetzt. Generell wurde das Holz bei  $T = 100^{\circ}\text{C}$  unter Rückfluss gekocht, so dass keine Wasserverluste auftreten konnten. Nach der Extraktionszeit wurde dann abfiltriert, das Volumen des Filtrats bestimmt und schließlich die HPLC-Analyse durchgeführt, um den Gehalt an Quassin in den Extrakten zu messen. Die HPLC-Analyse erfolgte mit Kalibrierstandards über eine Ausgleichsgerade. Zur Bestimmung des Gesamtgehalts an Quassin in den Hölzern wurde dieses zunächst komplett extrahiert, d.h.erschöpfend wie unter 1. genannt behandelt und der Quassin-Gehalt bestimmt.

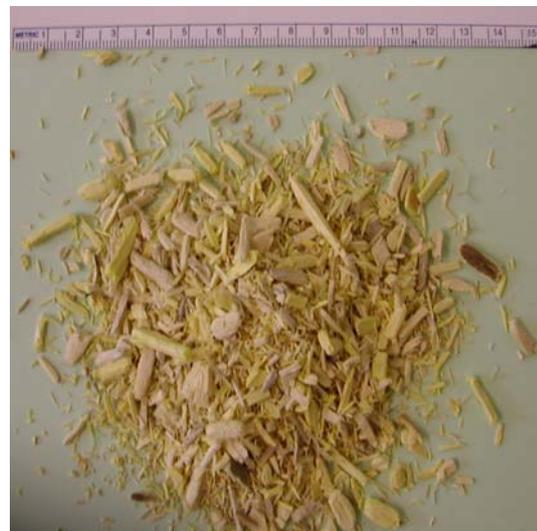


Abb. 1: Schnittgröße der Holzchips im Versuch

#### a) Dimension der Holzchips

Es wurden zwei Hölzer, die sich in ihrer Schnittgröße unterschieden, unter ansonsten gleichen Bedingungen wässrig extrahiert. Die Schnittgröße des ersten Holzes (Charge 20110R01, lt. Lieferant aus Brasilien) betrug durchschnittlich etwa  $1-2 \times 0,5 \times 0,3 \text{ cm}^3$ , mit Staubanteilen, die beim Schneiden entstehen (Abb 1, rechtes Bild).

Das zweite verwendete Holz (Charge 5085, Herkunft unbekannt) bestand aus flachen Plättchen, die eine Größe von bis zu ca.  $2 \times 3 \text{ cm}^2$  aufwiesen (Abb 1, linkes Bild).

Die Schnittgrößen wurden so ausgewählt, da sie vermutlich für die Praxis gut geeignet sind.

Tests mit feineren Schnittgrößen als den verwendeten zeigten, dass die erforderliche Filtration durch Verstopfen der Filter erschwert wird. Eine deutlich gröbere Schnittgröße als die hier verwendete dagegen hat sicherlich eine verschlechterte Extraktion zur Folge.

Je ca. 5 g Holz wurden mit 100 ml Wasser versetzt, zunächst 24 h stehen gelassen, dann 1 h lang gekocht, filtriert und mit 40 ml Wasser gewaschen. Dieses Prozedere wurde zweimal wiederholt. Jedes Filtrat wurde gesondert aufgefangen und sein Volumen bestimmt, dann die HPLC-Analyse durchgeführt.

#### b) Temperatureinfluss

In einer Versuchsreihe wurde der Temperatureinfluss auf die Extraktion untersucht. Dazu wurden 4 Mal je ca. 5 g Holz aus der Charge 5085 mit 50 ml Wasser versetzt. Man ließ das Holz 24h bei Raumtemperatur stehen. 2 Ansätze wurden dann noch 1h gekocht. Die wässrigen Phasen wurden abfiltriert, dann jeweils mit 20 ml Wasser gewaschen und das Prozedere wiederholt. Alle Filtrate wurden einzeln analysiert.

#### c) Wassermenge

Zur Untersuchung des Einflusses der Wassermenge wurden 4 Mal je ca. 5g Holz (Charge 5085) eingewogen. Zwei der Ansätze wurden mit 50 ml Wasser versetzt, die restlichen Ansätze mit 100 ml Wasser. Man ließ 24 h stehen, kochte dann je 1 Stunde. Nach dem Abfiltrieren der wässrigen Phase wurde mit 20 bzw. 40 ml Wasser gewaschen. Das Prozedere wurde wiederholt. Auch hier wurde jede wässrige Phase gesondert untersucht.

#### d) Zeiteinfluss

Es wurden 4 Mal je ca. 5 g Holz eingewogen und mit 50 ml Wasser versetzt. 2 der Ansätze wurden 1h lang gekocht, die anderen beiden Ansätze ließ man 24 h lang stehen und erhitzte dann 1 h lang. Wieder wurde von der wässrigen Phase abgetrennt und mit 20 ml Wasser nachgewaschen. Das Prozedere wurde wiederholt.

### 2.1.3 Untersuchungen zu den Effekten der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe von Quassia auf verschiedene Stadien der Sägewespe

Im ersten Projektjahr sollte getestet werden, ob Quassin und Neoquassin unterschiedlich gut wirken und welche Effekte sie auf Eier in verschiedenen „Reifungsstadien“ und auf frisch geschlüpfte Larven der Apfelsägewespe haben.

Hierfür wurden im Freiland Blüten gesammelt, die mit Sägewespeneiern belegt waren. Sofort nach dem Sammeln wurden die Blüten einzeln mit dem Stiel in mit Wasser gefüllte Eppendorfhütchen gesteckt, deren Deckel zu diesem Zweck perforiert wurde. Der Wasserstand wurde während der gesamten Dauer des Versuchs mehrmals täglich kontrolliert und bei Bedarf sofort nachgefüllt, um ein Welken der sehr empfindlichen Blüten zu verhindern.

Die Blüte wurde mit einem Rasiermesser so präpariert, dass das Ei sichtbar und das Stadium bestimmbar war (Abb. 4). In einem Fall (Idared, gesammelt am 22.4.) zeigte sich bei der Präparation relativ rasch, dass die Eier alle noch milchig waren.

Da der Sammelzeitpunkt dann noch mit der ersten möglichen stärkeren Eiablage zusammenfiel, wurden diese Blüten behandelt, ohne das Ei mit dem Rasiermesser freizulegen (unpräpariert, frische Eier). Eine Charge mit bereits glasigen Eiern wurde ebenfalls ohne Präparation behandelt. Es handelte sich hier aber um Blüten der Sorte Florina. Der Blütenboden nekrotisierte hier sehr stark, so dass die meisten Eier es nicht schafften, den Blütenboden zu sprengen. Die Entwicklung wurde dadurch so stark beeinträchtigt, dass eine Auswertung des Versuches zwar erfolgte jedoch nicht aussagekräftig war. Daher wird dieser Versuch nicht dargestellt.

Bis zur Präparation (max. 1-2 Tage) wurden die Blüten bei 4 °C gekühlt, um eine Weiterentwicklung der Eier zu verhindern.

Nach der Präparation erfolgte entweder direkt eine Behandlung oder aber die Eier wurden täglich kontrolliert und behandelt, wenn das entsprechende Stadium erreicht war. Teilweise mussten in den Versuchen mehrere „Chargen“ behandelt werden, da sich nicht alle Eier gleichzeitig im richtigen Stadium befanden.

Für die Versuche standen 7,1 mg Quassin und 8,05 mg Neoquassin zur Verfügung. Diese wurden als kristalline Substanz in einem Zylinder von Trifolio geliefert und jeweils mit 0,5 ml Alkohol gelöst. Daraufhin wurde mit Wasser verdünnt, bis eine Lösung mit jeweils 24 mg/l entstand. Bei Neoquassin wurde nochmals etwas Alkohol zugegeben, um in beiden Lösungen dieselbe Alkoholkonzentration von 0,8445 % zu erreichen. Verwendet wurde unvergällter 100 %iger Alkohol aus der Apotheke. Die Alkoholkontrolle wurde ebenfalls mit 0,8445 % hergestellt und entsprechend der Aufwandmenge an Quassin bzw. Neoquassin weiterverdünnt. Für die Aufwandmenge von 5 g/l, die in den meisten Versuchen verwendet wurde, ergab dies eine Alkoholkonzentration von 0,1759 %.

Die nicht sofort verwendeten Lösungen wurden tiefgefroren und bei Bedarf wieder aufgetaut. Von jedem Versuch wurde eine Rückstellprobe der verwendeten Spritzlösung tiefgefroren.

In einem Fall wurde ein Quassia-Extrakt als zusätzliche Variante verwendet. Es handelte sich hier um die Charge 2 von 2002, d.h. 2,4 g Quassin pro l mit einem Verhältnis von Quassin zu Neoquassin von ca. 1 : 1.

Behandelt wurde mit dem Grapho-Retuschiergerät als Tropfnass-Spritzung. Die Aufwandmenge wurde entsprechend einer Basis-Aufwandmenge von 1000 l Wasser/ha einfach konzentriert berechnet.

Nach der Spritzung wurden die Eppendorfhütchen mit den Blüten in einen umgekehrten Setzkasten gesteckt. Immer ein Versuch ergab einen Setzkasten, so dass gleiche Bedingungen für alle Varianten gegeben waren. Die Zwischenräume wurden mit Wasser gefüllt, so dass ein Überwandern der Larven von einem Hütchen zum nächsten nicht möglich war. Der Setzkasten stand in einer Kiste, die mit einem feuchten Tuch bedeckt war (Abb. 2). So die Temperaturen es erlaubten, standen die Kisten im Gewächshaus (Temperaturen zwischen 15 und 25 °C), ansonsten bei Zimmertemperatur im Raum. Nachts, bei entsprechender Luftfeuchtigkeit, wurde das Tuch zeitweise entfernt. Die Luftfeuchtigkeit wurde durch Befeuchten des Tuches und evtl. Umstellen der Kisten



Abb. 2: Versuchsanordnung mit Setzkasten und Eppendorfhütchen im Laborversuch zu Versuchsende

nach regelmässiger Kontrolle des Blütenzustandes in sehr kurzen Abständen den Bedürfnissen der Blüten angepasst und daher nicht konstant gehalten.

Die Blüten wurden täglich mehrmals kontrolliert. Sobald die ersten Larven schlüpften, erfolgte eine erste Bonitur, der im meist täglichen Abstand weitere folgten. Nach fünf Bonituren erfolgte eine Endbonitur.

Die schlüpfenden Larven bohrten sich entweder in den Blütenboden ein oder verließen sofort die Blüte.

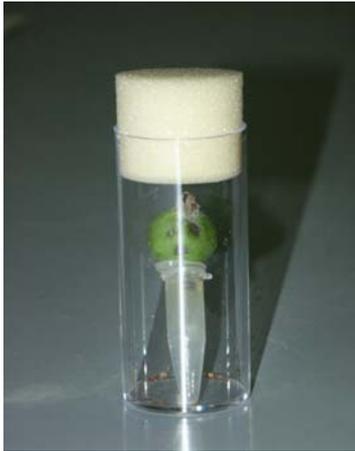


Abb. 3: Versuchsanordnung für die Versuche mit älteren Larven

Da dies ein großer Teil auch in der Kontrolle tat, war hier die Auswertung schwieriger und lässt Fragen offen.

Insgesamt wurden drei Versuche mit präparierten Blüten und 5 g/l Aufwandmenge durchgeführt mit den drei Stadien „milchige = frisch abgelegte“ Eier, „glasige“ Eier und Eiern, bei denen bereits die zappelnde Larve mit Augen sichtbar war, d.h. kurz vor dem Schlüpfen. Je Variante wurden 40 Blüten behandelt. Außerdem erfolgte noch ein Versuch mit unpräparierten Blüten und 5 g/l Aufwandmenge (nicht dargestellt) sowie ein Versuch mit präparierten Blüten und 24 g/l Aufwandmenge.

Die Auswirkungen der Substanzen auf ältere Larven wurden im Rahmen einer Bachelor-Arbeit untersucht.

Da diese Frage im Jahr 2002 sehr intensiv diskutiert wurde, erfolgte noch ein erster Tastversuch zur Regenbeständigkeit von Quassiaextrakt. Hierzu wurden kleine Früchte in eine Lösung mit Quassiaextrakt Charge 2 (2,4 g Quassina, Verhältnis Quassin/Neoquassin 1:1) in einer

Konzentration von 18 g Quassin/1000 l (entspricht 18 g/ha bei einer Spritzung) getaucht und anschließend auf einem Drahtgitter trocknen gelassen.

Ein Teil der Früchte wurde dann künstlich mit einer Gießdusche „beregnet“, entsprechend 20 mm Niederschlag.

Anschließend wurden auf die „beregneten“ und „unberegneten“ behandelten Früchte sowie auf eine unbehandelte Kontrolle Sägewespenlarven aus Früchten mit Primärbefall aufgesetzt. Pro Variante wurden 30 Früchte angesetzt.

Pro Frucht wurde eine Larve aufgesetzt, die Früchte wurden anschließend auf ein mit Agar gefülltes Eppendorfhütchen gesetzt und in einem Plexiglaszylinder mit Schaumgummipfropfen aufbewahrt. Behandelt wurde am 29.5.02, am 3.6.02 erfolgte eine Bonitur der Früchte auf lebende Larven. Hierbei wurde auch die Fitness der Larven berücksichtigt. Dieselbe Versuchsanordnung wurde auch für die Versuche mit älteren Larven im Rahmen der Bachelor-Arbeit verwendet.

Für die Laborversuche im Jahr 2003 wurden wieder mit Sägewespeneiern besetzte Blüten im Feld gesammelt. Zwei verschiedene Fragestellungen waren zu beantworten: Entwicklung des behandelten Eis auf unbehandelter Blüte und des unbehandelten Eis auf behandelter Blüte. Die Behandlung der jeweiligen Blüten erfolgte mit dem Graphoretuschiergerät tropfnass. Sobald beim Ei die Augen der Larve sichtbar waren und es gut aus der Blüte zu lösen war, wurde es auf eine andere Frucht umgesetzt. Die Reinsubstanzen wurden in diesem Jahr mittels Ultraschall gelöst, so dass auf die Beigabe von Alkohol und die entsprechenden Kontrollvarianten verzichtet werden konnte.

Bei „Ei behandelt“ wurden zwei „Eistadien“ unterschieden. Die erste Behandlung erfolgte, sobald der Fruchtboden geplatzt und das Ei sichtbar war (glasig).

Die zweite Serie wurde mit Eiern durchgeführt, bei denen die Augen der Larven bereits sichtbar waren, die also ganz kurz vor dem Schlupf standen. Die erste Serie verblieb bis zum Stadium „Augen sichtbar“ auf der behandelten Blüte.

Da der Versuch mit den Blüten sehr schwierig durchzuführen war und aufgrund der kurzen Verfügbarkeit der Blüten keine Vorversuche durchgeführt werden konnten, wurden zur Risikominimierung parallel zwei verschiedene Versuchsmethoden verwendet:



**1. Blüte einschneiden:** In die unbehandelte Frucht wurde mit der Lanzette eine kleine Tasche eingeschnitten, in die das Ei dann behutsam eingeführt wurde, so dass eine Austrocknung verhindert werden konnte. Problematisch bei dieser Methode war vor allem bei den früh behandelten Eiern, die etwas länger zum Schlupf benötigten, dass die verletzten Blüten von den Larven weniger akzeptiert wurden und auch rascher zu Pilzbildung neigten. Die Auswertung dieser Versuchsreihe ist daher nicht dargestellt.



**2. Methode „Hütchen“:** Das Ei wurde ohne Verletzung der Blüte auf den Blütenboden gelegt. Zum Schutz gegen Austrocknung wurde ein kleines gefaltetes angefeuchtetes Stück Filterpapier wie ein „Hütchen“ auf die Blüte gestellt. Diese Methode hat sich sehr gut bewährt und kam daher auch bei Versuch 2 zur Anwendung.

**Varianten bei „Eier behandelt, Frucht unbehandelt“**

Nr.	Fruchtboden geplatzt		Augen sichtbar	
	Blüte einschneiden	„Hütchen“	Blüte einschneiden	„Hütchen“
1	Kontrolle	Kontrolle	Kontrolle	Kontrolle
2	Quassin 12 g	Quassin 12 g	Quassin 12 g	Quassin 12 g
3	Neoquassin 12 g	Neoquassin 12 g	Neoquassin 12 g	Neoquassin 12 g
4	Quassin 24 g	Quassin 24 g	Quassin 24 g	Quassin 24 g
5	Neoquassin 24 g	Neoquassin 24 g	Neoquassin 24 g	Neoquassin 24 g
6	Extrakt 12 g Quassin		Extrakt 12 g Quassin	

**Varianten bei „Eier unbehandelt, Frucht behandelt“**

- Kontrolle
- Extrakt 12,0 g
- Quassin 1,5 - 3,0 – 6,0 – 12,0 – 24,0 g/ha
- Neoquassin 1,5 – 3,0 – 6,0 – 12,0 – 24,0 g/ha

Außerdem wurden noch zwei Gegenkontrollen mit Larven angelegt, die gerade am Schlüpfen aus der Eihülle waren und noch keine Nahrung aufgenommen hatten, um auszuschließen, dass eine Kontamination der Eihülle über die behandelte Blüte erfolgt. Aus technischen Gründen war hier die Verfügbarkeit begrenzt, daher konnten nur 25 Larven pro Variante verwendet werden. Die Ergebnisse waren analog zu den Varianten mit umgesetzten Eiern.

Der Versuch konnte durch Erweiterung im Rahmen einer Bachelorarbeit (Yamada) mit mehr als den geplanten Konzentrationsvarianten erfolgen. Er wurde nur mit der Methode „Hütchen“ durchgeführt. Unbefallene Blüten wurden behandelt und nach dem Abtrocknen der Spritzbrühe die Eier aus unbehandelten Blüten, die kurz vor dem Schlüpfen waren, aufgebracht.

**Auswertung**

Sobald ein Schlupf der Larven beobachtet werden konnte, wurden die Döschen mit den Blüten alle 24 Stunden kontrolliert. Larven, die die Blüten verlassen hatten, wurden zurückgesetzt und dies auf dem Döschen vermerkt.

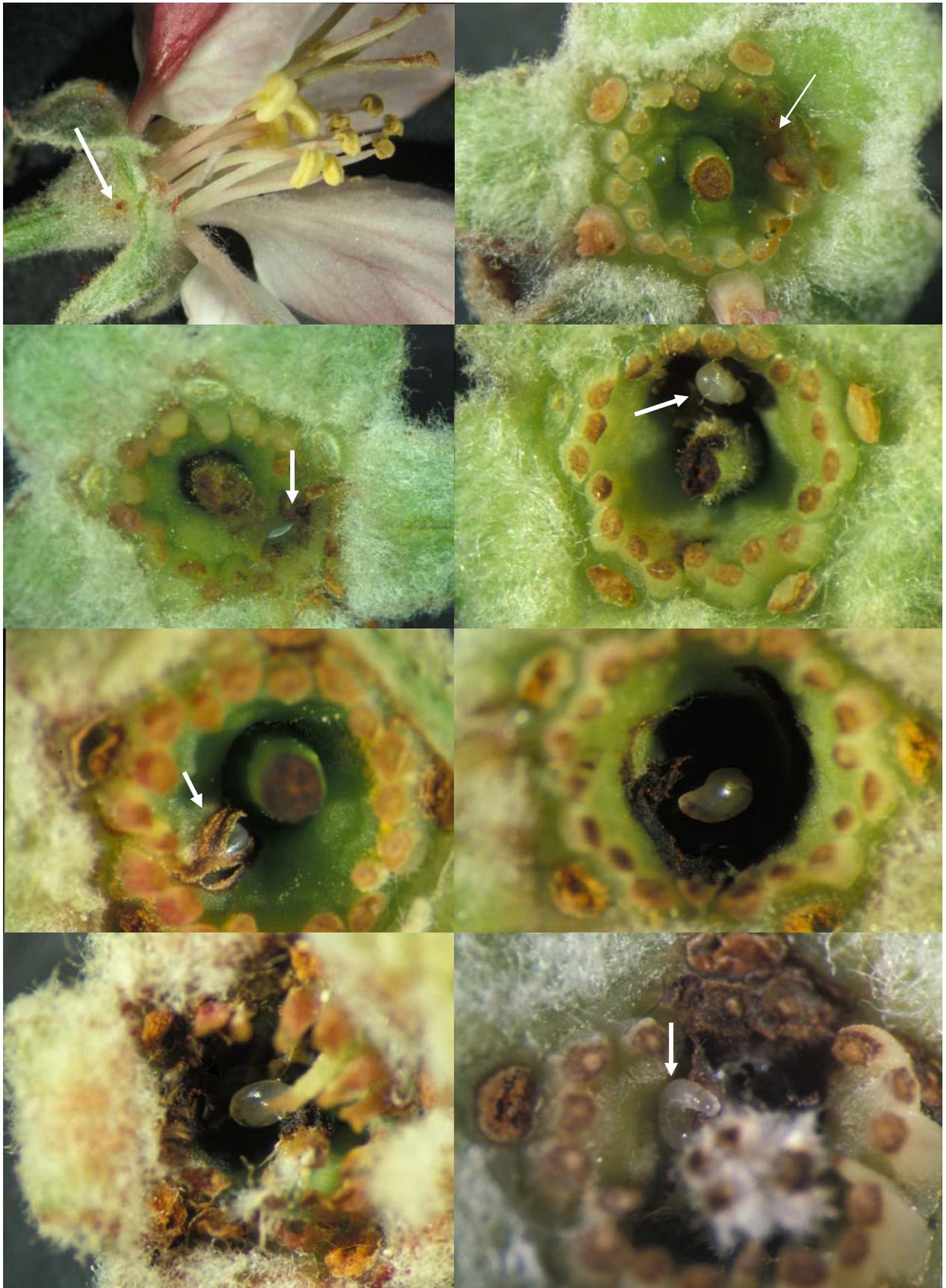


Abb. 4: Verschiedene Stadien der Apfelsägewespe von links nach rechts: Blüte mit Einstich Seitenansicht; von oben; freipräpariertes Ei Stadium milchig; freipräpariertes Ei beim Aufquellen; Blütenboden platzt, Ei glasig; Konturen der Larve sichtbar; Augen der Larve sichtbar, Larve schlüpft

Mit der Endauswertung wurde so lange wie von der Haltbarkeit der Blüte aus möglich gewartet. Ausgewertet wurde die Wiederfindungsrate der Larven (fast alle Larven starben aber nach einigen Tagen ab, da die Blüten keine ausreichende Nahrungsgrundlage mehr bildeten), die Fraßstellen nach Größe sowie der vorhandene Kot. Als bestes Merkmal für die Auswertung der Ergebnisse erwies sich die Größe und Anzahl der Fraßstellen.

Im Jahr 2002 und 2003 wurden die verwendeten Spritzbrühen für die Reinsubstanzen und der Extrakt bei Trifolio-M GmbH analysiert, um etwaige Fehler bei der Aufbereitung und der Verdünnung auszuschließen. Im Jahr 2002 ergab die Analyse der Rückstellprobe, dass die Aufwandmengen leicht niedriger lagen als vorgesehen (ca. 4,3 g/ha statt 5 g/ha). Neoquassin und Quassin lagen jedoch ungefähr gleich. Auch im Jahr 2003 zeigte die Rückstellprobe eine etwas niedrigere Konzentration als vorgesehen. Neoquassin lag hier etwas niedriger als Quassin (bei 24 g Quassin 20 g, Neoquassin 17,5 g). Dieser Unterschied ist jedoch nicht groß genug, um die Differenzen bei der Wirkung zu beeinflussen.

### 2.1.4 Freilandversuche zur Wirkung von Quassiaextrakten mit verschiedenen Aufwandmengen / Terminen / Kombinationen mit NeemAzal-T/S

Im Versuchsjahr 2002 wurden auf insgesamt vier Standorten Freilandversuche mit je 9 Varianten durchgeführt (Tab. 2). Die Versuche waren alle als randomisierte Blockanlagen mit vier Wiederholungen mit 7 bis 15 Bäumen pro Wiederholung aufgebaut. Je nach Spritztechnik wurde die Anzahl Randbäume berechnet. Für die Spritzung kamen in Ahrweiler ein Parzellensprühgerät, in Jork ein Jeep mit Aufsattelgerät und Handsprühpistole und im süddeutschen Raum ein Motor-Rückensprühgerät der Marke SOLO zum Einsatz. In Süddeutschland wurden aufgrund des Blütenfrostes alle Versuche im Bodenseegebiet durchgeführt.

Tab. 1: Termine von Applikation und Bonituren der Freilandversuche an den vier Standorten

Standort Sorten	Anzahl Versuche	Spritzung	Bonitur	
			Primärbefall	Sekundärbefall
Ahrweiler (Pfalz) Jonagold/Melrose	2	2.05.02	15.05.02	27.05.02
Jork Elstar	1	17.05.02/22.05.02	24.05.02	04.06.02
Süddeutschland Topaz/Idared	2	2.05.02/8.05.02	20.05.02	1.06.02

Sowohl am Standort Ahrweiler als auch im Bodenseegebiet (Süddeutschland) kam es wenige Stunden nach der Applikation zu starken Niederschlägen, die mehrere Tage anhielten.

Da in der Praxis intensiv diskutiert wurde, ob eine Behandlung vor oder nach der Regenperiode sinnvoller sei, wurde im Bodenseegebiet noch ein dritter Versuch aufgebaut, bei dem vor und nach dem Regen behandelt wurde.

Bei jeder Bonitur wurden pro Parzelle (= Wiederholung) 50 Fruchtbüschel kontrolliert. Erfasst wurde die Anzahl der Früchte pro Fruchtbüschel sowie die verschiedenen Stadien des Sägewespenbefalls. Erfasst wurde bei der ersten Bonitur jeweils pro Blütenbüschel die Anzahl der Einstichstellen durch Eiablage der Sägewespe ohne Frassgang einer Larve und die Anzahl der spiralförmigen Frassgänge (Primärbefall).

Bei der zweiten Bonitur konnte dann der Sekundärbefall festgehalten werden, bei dem sich die Larve direkt ohne oberflächlichen Spiralgang in die Frucht einbohrt.



Abb. 5: Primärbefall (linkes Bild) und Sekundärbefall der Sägewespe an Apfelfrüchten (rechts)

Im Versuchsjahr 2003 musste wegen Blütenfrost in Süddeutschland erneut ins Bodenseegebiet ausgewichen werden. In Ahrweiler konnte die vorgesehene Versuchsfäche aus diesem Grund ebenfalls nicht genutzt werden. Die Versuche wurden daher an allen drei Standorten mit einem Motor-Rückensprühgerät behandelt.

In Süddeutschland erfolgte die Behandlung am 6.5.04. Der Primärbefall wurde am 17.5.04, der Sekundärbefall am 30.5.04 erfasst.

Der Versuch am Standort Pfalz wurde am 3.6.04 (Primärbefall) und am 16.6.04 (Sekundärbefall) ausgewertet.

Im Alten Land waren aufgrund der sehr raschen Vegetationsentwicklung im Frühjahr und einer nicht vorhersehbaren Befallsentwicklung der Sägewespe (einige Anlagen mit Befall in den letzten Jahren plötzlich kaum noch Flug) keine Anlagen mehr verfügbar, bei denen nur Blüten im Ballonstadium oder Blütenbüschel, bei denen nur die Königsblüte geöffnet war. Daher wurden in einer Versuchsanlage mit der Sorte Elstar für die Varianten 2,4 und 5 den geforderten Stadien entsprechend 50 Blütenbüschel je Wiederholung vor der Behandlung markiert. Nur die markierten Blütenbüschel wurden später bonitiert.

Die Varianten 2, 4 und 5 wurden am 2.5.03, die Varianten 3 und 4 am 5.5.03 behandelt. Die meisten Blütenbüschel befanden sich zu diesem Termin in der Vollblüte.

Am 12.5.03 wurden die Varianten 6, 7, 8 und 9 behandelt, dies war der Behandlungstermin, der sich aus dem Stadium „Augen sichtbar“ der Eier der Sägewespe ergab. Bei der späteren Bonitur wurden alle gekennzeichneten und wiedergefundenen Blütenbüschel der Varianten 2, 4, und 5 bewertet und je 50 Blütenbüschel in den anderen Varianten. Bei der zweiten Bonitur gab es teilweise an den markierten Blütenbüscheln keine Früchtchen mehr, da sie verrieselt waren.

Die Verrechnung aller Versuche erfolgte in allen Fällen mit Varianzanalyse und anschließendem Tukey-Test ( $\alpha = 0,05$ ).

Die Aufwandmenge wird bei allen Versuchen in g/ha angegeben. Dies bezieht sich auf eine normale Spindelanlage, als Basis werden üblicherweise 2 m Kronenhöhe veranschlagt.

### 2.1.5 Freilandversuche zur Langzeitwirkung von NeemAzal-T/S

Für die Freilandversuche mit NeemAzal-T/S wurden im Jahr 2002 mehrere Anlagen mit niedriger Aufwandmenge von Quassia und NeemAzal-T/S mit 2 bzw. 3 l/ha behandelt. Ziel war es, anschließend befallene Früchte einzusammeln und die Entwicklung der Larven zu verfolgen. Außerdem wurde die Hälfte einer Anlage, die zu spät mit Quassia behandelt worden war, noch mit NeemAzal-T/S behandelt. Hierbei sollte der Effekt auf den Sekundärbefall und die weitere Entwicklung der Larven erfasst werden.

Im Jahr 2003 wurden bei zwei Versuchen niedrige Aufwandmengen an Quassia in Verbindung mit NeemAzal-T/S ausgebracht (Süddeutschland). Außerdem wurden im Versuch Pfalz in den Neem-Varianten Früchte gesammelt und nach Stuttgart geschickt. Die Larven haben den Transport jedoch nicht überstanden. Zudem wurden Früchte in einem Tastversuch gesammelt, der innerhalb des versehentlich vom Betriebsleiter behandelten Versuchs in Süddeutschland angelegt worden war.

### 2.1.6 Evaluierung eines temperatursummengesteuerten Erstmodells von GRAF auf Tauglichkeit zum Einsatz in der Beratung bei der Bestimmung des optimalen Spritztermins

Nach Abstimmung mit den Beratern und Wädenswil wurde aufgrund der Unsicherheit bei den Erhebungen auf die Modellierung des Schlupfzeitpunktes der Sägewespen weitgehend verzichtet. Festgehalten wurde jedoch mittels Weißtafeln der Beginn des ersten großen Flughöhepunktes sowie der Flugverlauf. Nach mündlicher Mitteilung von GRAF (2002) beträgt die Temperatursumme für die Embryonalentwicklung der Sägewespen 2040 Gradstunden bei einer Schwellentemperatur von 6,9 °C. In den verschiedenen Regionen wurde nun der Beginn des Schlupfes ermittelt und dann errechnet, inwieweit dieser sich auf der Basis der Fallenfänge und dieser Temperatursummenmethode voraussagen lässt.

## 2.2 Nebenwirkungen der Strategie gegen die Sägewespe auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge

Die im einzelnen geprüften Prüfsubstanzen und ihre Aufwandmengen sind dem Ergebnisteil zu entnehmen. Über jeden Versuch liegt ein ausführliches Protokoll vor.

Die Versuche zur **Kontakttoxizität** wurden nach den IOBC-Richtlinien zur Prüfung von Nebenwirkungen auf Nützlinge (Candolfi et al., 2000) durchgeführt. Nach diesen Richtlinien wird bei Anwendung auf Glas die zu prüfende Aufwandmenge/ha des Produkts basierend auf einer Wasseraufwandmenge von 200 l/ha angesetzt, da höhere Spritzbrühemengen nicht auf Glas appliziert werden können. Von dieser Spritzbrühe wird mit einem Präzisionssprühgerät (Laborsprühurm Potter Tower, Burkard Scientific Ltd, UK) ein standardisierter Belag von 2 mg/cm<sup>2</sup> (entspricht 200 l/ha) auf Glas appliziert. Somit wird die Hektar-Aufwandmenge, die sich unter Praxisbedingungen auf dreidimensionale Strukturen verteilt, in vollem Umfang auf die zweidimensionale Expositionsfläche Glas übertragen, d.h. es handelt sich hier um „worst-case“-Bedingungen, um mögliche Effekte mit Sicherheit zu erkennen.

Bei der Untersuchung der **oralen Toxizität** und dem **Besprühen der Versuchstiere** wurde mit Lösungen gearbeitet, deren Wirkstoff-Konzentration der ausgebrachten Spritzbrühe für die jeweilige Aufwandmenge pro Hektar bei einer Wasseraufwandmenge von 600 Liter pro Hektar (Festlegung durch die Arbeitsgruppe) entsprach. Hinter dieser Vorgehensweise steht die Überlegung, dass Nützlinge unter Freilandbedingungen von Spritzbrühetropfen/tröpfchen getroffen werden, bzw. diese oral aufnehmen können.

Alle Versuche wurden mit auf die Anwendung im Freiland bezogenen Aufwandmengen der Wirkstoffe in Anlehnung an GLP-Richtlinien durchgeführt. Das Labor der BBA Dossenheim ist nicht GLP-zertifiziert.

## 2.2.1 Testsubstanzen und Kontrolle

### Quassin und Neoquassin

Quassin und Neoquassin standen als Reinstoff in mg-Portionen als zu lösender Feststoff zur Verfügung. Die Wirkstoffe wurden bis zur Verwendung bei  $-21\text{ °C}$  gelagert und immer am Versuchstag mit deionisiertem Wasser, oder bei der Prüfung der oralen Toxizität bei den zwei untersuchten Schlupfwespenarten mit Fructoselösung 25 %, frisch angesetzt. Bei beiden Stoffen musste die Löslichkeit durch Ultraschallbehandlung und Erhitzen im Wasserbad auf 50 bis  $60\text{ °C}$  verbessert werden. Die Wirkstoffe sind bei den verwendeten Temperaturen stabil.

### Quassia-Extrakt

Die Firma Trifolio lieferte 200 ml Extrakt der Charge 2 mit bekanntem Verhältnis Quassin:Neoquassin von 1:0,7. Der flüssige Extrakt wurde in kleinen Portionen bei  $-21\text{ °C}$  gelagert und erst am Versuchstag aufgetaut und angesetzt. Eine Aufwandmenge von 5 l Quassia-Extrakt/ha entspricht 12 g Quassin-Reinstoff pro Hektar. Der Extrakt aus dem Holz des Surinam-Bitterholzbaumes wirkt als Fraß- und Kontaktgift gegen Blattläuse, Sägewespen, Wicklerrauen (EGGLER & GROß 1996) und weitere Insekten. Der Wirkstoff ist ein Nervengift. Der Extrakt findet Verwendung in der Herstellung von Getränken und Phytopharmaka und wird für den Menschen bisher als ungefährlich eingestuft.

### Kontrolle

In der Kontrolle wird deionisiertes Wasser appliziert oder, bei der Prüfung der oralen Toxizität bei *A. mali*, Fructoselösung 25 % als Nahrung angeboten.

## 2.2.2 Zucht und Herkunft der Versuchstiere

### *Aphelinus mali*

Im Juni 2002 wurden an zwei Standorten, Wiesloch und Großsachsen, Blutläuse aus Obstanlagen entnommen und damit 2- und 3-jährige Containerbäume der Sorte `Golden Delicious` beimpft. Im weiteren Verlauf der Zucht wurde mit der Apfelsorte `Gala` aufgefrischt. Die Zucht erfolgte in zwei Gewächshauszellen unter verschiedenen klimatischen Bedingungen: a) bei  $21 \pm 2\text{ °C}$  (16 h) mit Nachtabsenkung auf  $15\text{ °C}$  und b) in einer weiteren Kammer mit  $24 \pm 2\text{ °C}$ , Nachtabsenkung auf  $17 \pm 2\text{ °C}$ . Die rel. Luftfeuchte lag bei durchschnittlich 70 %. Die Beleuchtungsdauer betrug ganzjährig mindestens 12 Stunden. In den ersten zwei Monaten der Zucht wurden Pflanzenschutzmaßnahmen mit Kaliseife und Lecithin durchgeführt. Danach wurde darauf verzichtet, um eine Schädigung der Versuchstiere zu vermeiden

### *Forficula auricularia*

Die adulten Ohrwürmer (120 Tiere, 2/3 weiblich) entnahm man am 26. August 2002 aus dem Freiland (BBA Dossenheim, Obstanlage) und hielt sie auf drei Insektarien verteilt bei  $21 \pm 2\text{ °C}$  (16 h) mit Nachtabsenkung auf  $15\text{ °C}$  (8 h) auf feuchter Blumenerde und bot umgestülpte Tontöpfe mit Holzwolle gefüllt als Verstecke an. Zur Ernährung erhielten die Ohrwürmer Hundefutter, Äpfel und gelegentlich Sojabohnenschrot. Die Wasserversorgung erfolgte über eine Dochttränke. Dreimal wöchentlich wurden das Futter und Wasser erneuert und das Insektarium mit einem Handsprühgerät befeuchtet. Anfang Juli 2003 wurden für den Benetzungsversuch Tiere aus unbehandeltem Freiland entnommen (letztes Larvenstadium).

***Coccinella septempunctata***

Die Firma GAB – Biotechnologie in Niefern–Öschelbronn lieferte uns auf Bestellung synchronisierte Marienkäfererier aus ihrer Laborzucht.

***Chrysoperla carnea***

Florfliegeneier stammten aus der Laborzucht der BBA Darmstadt. Hälterung und Weiterzucht erfolgten nach der Methode, die in den IOBC-Richtlinien für die Durchführung der Versuche mit *Chrysoperla* empfohlen wird (VOGT et al. 2000).

***Aphidius rhopalosiphi***

Die Parasitoide wurden von der Nützlingszucht „Dr. Peter Katz“ in Welzheim zur Verfügung gestellt und im Entwicklungsstadium „synchronisierte Getreideblattlausmumien“ zugesandt.

**2.2.3 Versuche mit *Aphelinus mali* und *Aphidius rhopalosiphi*****Beschreibung der Versuchseinheit**

Alle Versuche zur Kontakttoxizität und zur oralen Wirkung mit Imagines wurden in den für *Aphidius rhopalosiphi* angefertigten Versuchseinheiten durchgeführt (TERNES et al. 2000). Eine Einheit besteht aus zwei quadratischen Glasplatten (6 cm) und dazwischen einem Ring aus Plexiglas (Ø 5 cm), der vier runde Einbohrlöcher (Ø 0,9 cm) in symmetrischer Verteilung aufweist. Die beiden Platten werden mit zwei Gummiringen zusammen gehalten, der Ring befindet sich dazwischen. Die Versuchseinheit steht in vertikaler Position. Die Ringbohrung, die beim Käfig oben liegt, dient der Futtermittellieferung über ein mit Watte gefülltes 0.5 ml Eppendorfgefäß, dem die Spitze gekappt wurde. Die unten liegende Bohrung wird zum Einsetzen der Tiere benutzt und ist während des Versuchs mit einem Korkstopfen verschlossen. Die linke und die rechte Öffnung des Rings werden mit Anschlüssen für die Be- und Entlüftung der Versuchseinheit versehen. Mit einer 200 l-Aquariumpumpe werden jeweils bis zu 6 Käfige einer Behandlungsvariante ventiliert. Bei den Versuchen werden unterschiedlich viele Varianten geprüft. Standard waren Kontrolle, drei Varianten der Prüfsubstanz und teilweise Referenzsubstanzen. Jede Variante besteht aus sechs, in Ausnahmefällen vier, Versuchseinheiten mit jeweils 5 Zehrwespen.

**Versuchsdurchführung und Bedingungen**

Zwei Tage vor dem Versuchstermin werden ausreichend mit schwarzen Blutlausmumien besetzte Schnitthölzer aus der eigenen Zucht in ein Schlupfgefäß mit zwei Dochttränken, eine mit Wasser, eine mit Fructoselösung 25%, gefüllt. Im Versuch werden adulte Parasitoide eingesetzt, deren Alter 48 h nicht überschreitet.

Bei den Versuchen zur Prüfung der Kontakttoxizität werden die Glasplatten unter dem Laborsprühturm behandelt, immer von der Kontrolle ausgehend in aufsteigender Konzentration der Testsubstanzen. Wie o.a. entsprechen die Lösungen der Prüfsubstanzen den Hektaraufwandmengen in 200 l Wasser. Der erforderliche Zielbelag von 2 mg/cm<sup>2</sup> wird durch Wiegen eingestellt und nach jeder Variante überprüft und ggf. durch Veränderungen der Einstellungen am Potter Tower korrigiert. Spätestens 1,5 h nach der Applikation der Prüfsubstanz auf die Glasplatten werden die Versuchskäfige zusammengebaut, mit den Tieren bestückt, in der Klimakammer aufgestellt und an das Ventilationssystem angeschlossen.

Für die Prüfung der oralen Toxizität werden die Testsubstanzen mit der Nährlösung (Fructose 25%) angesetzt und jeweils 0,5 ml in das mit Watte gefüllte Eppendorfröhrchen pipettiert. Wie o.a. werden Konzentrationen der Testlösungen eingestellt, die der jeweiligen Aufwandmenge pro Hektar bei einem Wasseraufwand von 600 Liter pro Hektar entsprechen.

Die Insekten werden jeweils mit einem selbst gebastelten Exhauster dem Schlupfkäfig entnommen und mit einer kleinen Ballonpumpe in die Versuchseinheiten verbracht.

Die Versuchsdauer beträgt 48 h. Nach 24 h wird die Watte an der offenen Spitze der Röhre durch kurzes Öffnen des Eppendorf-Verschlusses mit Fructoselösung nachbefeuchtet. Die klimatischen Bedingungen sind:  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 75 % rel. F. bei 16 Stunden Licht, 10 klx. Nach Ablauf von 48 h wird die Mortalität erhoben durch Untersuchen jeder Versuchseinheit unter dem Binokular. Moribunde Tiere werden als tote Individuen gezählt.

## 2.2.4 Versuche mit Entwicklungsstadien von *A. mali*

### Besprühen von Mumien

Vorsichtig vom Holz abgelöste, schon deutlich schwarz verfärbte Mumien werden in Zehnergruppen unter dem Potter Tower mit den Prüfsubstanzen in aufsteigender Reihenfolge behandelt. In jeder Variante werden 30 Mumien eingesetzt und nach der Behandlung einzeln auf einem Tablett unter runde kleine Kunststoffzylinder mit Netzgewebe an der Oberseite gelegt. Der Schlupfverlauf wird regelmäßig bonitiert. Der Versuch dauert 21 Tage und findet unter den für die Imagines beschriebenen klimatischen Bedingungen in einer Klimakammer statt.

### Tauchen des gesamten Systems Blutlaus/Zehrwespe an Ästchen

Mit Blutläusen besiedelte, 20 cm lange beblätterte Aststücke der Sorte `Gala` werden unter dem Binokular so präpariert, dass pro Holzstück 10 Mumien und 10 adulte Blutläuse verbleiben. Adulte Zehrwespen werden entfernt.

Pro Variante taucht man vier der Zweige in die zu prüfende Substanz ein und stellt sie einzeln in mit 2%iger Fructoselösung gefüllte Glasvasen, deren obere Öffnung als Verdunstungsschutz mit Parafilm verschlossen wird. Jeder Versuchsansatz wird in einen durchsichtigen Kunststoffzylinder gestellt und die obere Öffnung mit Strumpfmateriale verschlossen. Geschlüpfte *A. mali* werden in anfangs größeren Abständen, nach dem erwarteten Schlupf der 2. Generation nach der Behandlung alle 2 Tage bonitiert und aus dem System entfernt. Die Lösung für die Pflanzen wird mit einer Spritze aufgefüllt, nie ausgewechselt, weil Manipulationen am System vermieden werden sollen.

Der Versuch dauert 50 Tage und findet unter denen für die Imagines beschriebenen klimatischen Bedingungen in einer Klimakammer statt.

### Validität

Die Mortalität in der Kontrolle sollte 13 % nicht übersteigen (MEAD-BRIGGS et al. 2000).

## 2.2.5 Versuche mit *Forficula auricularia*

### Beschreibung der Versuchseinheit

Die Hälterung erfolgt in einer Bellaplastschale (500 ml) mit Gazedeckel und einer Dochttränke für die Wasserversorgung. Bei der Prüfung der oralen Toxizität werden pro Variante 4 x 5 Ohrwürmer (4. Larvenstadium) getestet.

Beim zweiten Versuch mit *Forficula*, der Benetzung der L4–Stadien, werden pro Variante 6 x 5 Tiere untersucht. Die Hälterung erfolgt wie bei der Prüfung der oralen Toxizität.

### Versuchsdurchführung und Bedingungen

Orale Toxizität: Hundefutter und Apfelstückchen werden in gleich große Portionen pro Versuchseinheit abgewogen und unter dem Potter Tower behandelt.

Die Kunststoffschalen werden mit jeweils 5 Ohrwürmern besetzt und in der Klimakammer bei  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 75 % rel. F. bei 16 Stunden Licht, 10 klx, gehalten. Das Futter wird bis zum Ende des Versuchs nach 48 h in den Schalen belassen und nicht ausgewechselt.

Besprühen der Larven: Mit  $\text{CO}_2$  narkotisiert werden die Ohrwürmer in 5-er Gruppen unter dem Potter Tower behandelt und in Bellaplastschalen mit Gazedeckeln gesetzt. Die Fütterung erfolgt unverändert mit Hundefutter, Apfelstückchen und eine Dochttränke zur Wasserversorgung wird bereit gestellt. Die klimatischen Bedingungen bis zum Versuchsende nach 48 h sind:  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 75 % rel. F. bei 16 Stunden Licht (10 klx). Am Ende des Versuchs wird die Mortalität in allen Behandlungsgruppen erhoben.

### Validität

Die Robustheit dieser polyphagen Insekten würde eine 5 % - Validitätsgrenze der durchschnittlichen Mortalität in der Kontrolle zulassen. Es existiert keine IOBC – Empfehlung.

## 2.2.6 Versuche mit *Coccinella septempunctata*

### Beschreibung der Versuchseinheit

Die kannibalische Lebensweise macht eine Einzelhaltung der Coccinellidenlarven erforderlich. Pro Variante werden 40 L 2-Stadien untersucht und voneinander abgetrennt auf zwei Glasplatten mit einer aufgelegten Kunststoffplatte mit 20 kreisrunden Ausstanzungen (8 cm) gehalten. Die Begrenzung der einzelnen Versuchsfläche bildet ein Ring, der aus einem Kunststoffbecher zugeschnitten und mit Talkum behandelt wird, um eine Flucht zu verhindern. Nach dem Schlupf werden die adulten Marienkäfer zur Überprüfung der Reproduktionsleistung in Glasinsektarien überführt. Die überlebenden Tiere einer Variante werden zusammen gehalten. Wasser, Honig und Erbsenblattläuse auf Bohnenpflanzen werden als Nahrung angeboten.

### Versuchsdurchführung und Bedingungen

Am Versuchstag sind die Larven im 2. Larvenstadium. Zur Prüfung der **oralen Toxizität** werden Erbsenblattläuse unter dem Potter Tower mit Spritzbrühe behandelt. In einem Vortest war sicher gestellt worden, dass auch bei der Anwendung der höchsten Prüfstufe noch ausreichend Futtertiere überleben, da tote Blattläuse keinen ausreichenden Futterreiz bieten. Die Applikation erfolgt in Zehnergruppen. Das Futter für 10 Larven einer Variante wird in einem Sprühvorgang behandelt. Behandeltes Futter wird einmalig am Versuchstag angeboten. Anschließend wird jede Larve bis zur Verpuppung täglich mit 30 – 40 unbehandelten Blattläusen versorgt und ausgesaugte Exuvien werden alle zwei Tage mit einem Staubsauger entfernt. Die Fütterung der Larven erfolgt abschließlich mit Erbsenblattläusen aus der BBA-eigenen Zucht (*Acyrtosyphon pisum*). Erhoben wird die präimaginale Mortalität mit anschließender Überprüfung der Reproduktion. Das Geschlechterverhältnis der überlebenden Marienkäfer wird in den einzelnen Varianten angeglichen. Die Versuchsdauer beträgt sechs Wochen.

**Besprühen der Larven:** Larven im 2. Stadium werden unter dem Potter Tower in 10er-Gruppen behandelt. Sie werden in einer Glaspetrischale besprüht, deren Rand mit Talkum bestrichen ist. So kann auf das Narkotisieren der empfindlichen Larven verzichtet werden. Hälterung und Fütterung erfolgen wie für die Prüfung der oralen Toxizität beschrieben. Erhoben wird die präimaginale Mortalität. Die Versuchsdauer beträgt 15 Tage. Die klimatischen Bedingungen für alle Versuche mit *Coccinella* sind:  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , 75% rel. F. bei 16 Stunden Licht, 10 klx.

### Validität

Die durchschnittliche präimaginale Mortalität sollte 30 % nicht überschreiten. Die Ergebnisse zur Fertilität der Weibchen sollten durch mindestens 2 fertile Eier/Weibchen/d im Minimum gesichert sein (SCHMUCK et al. 2000).

## 2.2.7 Versuche mit *Chrysoperla carnea*

### Beschreibung der Versuchseinheit

Das für *Coccinella* unter 2.2.5.1 beschriebene Versuchssystem wird auch für die Prüfung der präimaginalen oralen Toxizität bei *Chrysoperla* verwendet. Pro Variante werden 40 2-3 Tage alte Larven geprüft.

Reproduktion und besprühte adulte Florfliegen: Die Hälterung erfolgt in den für die Zucht üblichen 500 ml-Kunststoffbehältern mit Gazedeckeln, an denen die Eiablage überwiegend erfolgt.

### Versuchsdurchführung und Bedingungen

#### **Prüfung der oralen Toxizität mit anschließender Reproduktionsprüfung:**

Pro Variante werden 4 x 0,25 g frische Eier von *Sitotroga cerealella* (Bezug: AMW, Pfungstadt) unter dem Potter Tower behandelt und auf 10 Larven (Einzelhaltung) verteilt. Die Menge ist so berechnet, dass sie für 24 h die Futteraufnahme ad libitum ermöglicht. Die Hälterung während der Prüfung der Reproduktion entspricht den Zuchtbedingungen. Die überlebenden Imagines einer Variante werden in vier 500 ml-Kunststoffschalen mit Gazedeckeln verbracht, mit der Diät nach HASSAN (15 ml 10%ige Kondensmilch, 30g Bienenhonig, 30g Bierhefe, 1 Ei, 1 Eigelb, 50g Weizenkeime, Aqua dest. nach Bedarf) gefüttert und 7 Tage nach Beginn der Eiablage wird an vier verschiedenen Tagen die Reproduktionsleistung erhoben. Die Anzahl der Paare und das Geschlechterverhältnis werden angeglichen (VOGT et al. 2000). Die Versuchsdauer beträgt 6 Wochen.

**Besprühen zwei Tage alter Imagines:** Mit CO<sub>2</sub> narkotisierte Imagines (aus eigener Zucht) werden in 10er-Gruppen unter dem Potter Tower behandelt und in 500 ml-Kunststoffschalen mit Gazedeckeln gehalten. Die Mortalität und der Entwicklungsstand werden regelmäßig bonitiert, Futter und Wasser 3x wöchentlich erneuert. Die Versuchsdauer beträgt 7 Tage. Die klimatischen Bedingungen für alle Versuche mit *Chrysoperla carnea* sind: 24 ± 2°C, 75 % rel. F. bei 16 Stunden Licht, 3 klx.

### Validität

Die durchschnittliche präimaginale Mortalität sollte bei *C. carnea* 20 % nicht überschreiten. Bei der Prüfung der Reproduktion sollte eine Mindestablage rate von  $\geq 15$  Eier / Weibchen und Tag erreicht werden und die Schlupfrate  $\geq 70$  % sein (VOGT et al. 2000).

## 2.2.8 Berechnungen und Statistik

Entscheidend für die Verwertbarkeit der Versuche zu Nebenwirkungen ist die Fitness der Tiere, die am Ausmaß der Mortalität in der Kontrolle gemessen werden kann. Die oberen Grenzen für die Mortalität in der Kontrollgruppe der untersuchten Arten wurden für *Aphidius rhopalosiphi*, *Coccinella septempunctata* und *Chrysoperla carnea* den IOBC-Richtlinien (CANDOLFI et al. 2000) entnommen.

Für *Aphelinus mali* wurde die gleiche Grenze wie für *Aphidius rhopalosiphi*, für *Forficula auricularia* nach eigenen Vorversuchen eine Grenze von 5% gewählt. Ob sich die Ergebnisse der Behandlungsgruppen signifikant unterscheiden, wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test ( $p= 0,05$ ) für mehrere unverbundene Stichproben und durch Varianzanalyse überprüft (PROC FREQ und PROC NPAR1WAY, SAS Vers. 8). Alle Versuche zur Reproduktion erlauben keine Aussage über die Signifikanz von Unterschieden, da keine Haltung und Untersuchung einzelner Paare erfolgt. In Abb. 25 und Abb. 26 werden nach Schneider-Orelli korrigierte Wirkungsgrade dargestellt.

Sie werden nach der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Wirkungsgrad}_{II} \% \text{ [Schn. - Or.]} = \frac{\frac{Bt_i}{Bg_i} - \frac{Ut}{Ug}}{1 - \frac{Ut}{Ug}} * 100$$

Wirkungsgrad % = korrigierte Mortalität in Prozent  
 Bt = Anzahl toter Tiere in der behandelten Variante  
 Bg = alle Tiere in der behandelten Variante  
 Ut = Anzahl toter Tiere in der Kontrollvariante  
 Ug = alle Tiere in der Kontrollvariante

## 2.3 Förderung der Blutlauszehrwespe

### 2.3.1 Untersuchungen zur Möglichkeit/Notwendigkeit der Entnahme von Material zur Überwinterung der Blutlauszehrwespe vor Saisonende

Die Astproben wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten an vier verschiedenen Standorten (Ahrweiler, Hohenheim, Jork/Niederelbe und Tett nang) entnommen und an die BBA Darmstadt verbracht.

Für jede Probe wurden anhand einer Schätzbonitur (Zahlen von 1 bis 6) Noten für die potentielle Ausbeute an Zehrwespen vergeben. Berücksichtigt wurde hierbei sowohl der Besatz an Blutläusen auf den Zweigen als auch der visuell (schwarz verfärbte Läuse) ermittelbare Parasitierungsgrad.

Zur Bestimmung der Stadien der Blutlauszehrwespe, die zum jeweiligen Termin auf den Zweigen vorhanden waren, wurden von jeder Probe Blutläuse abgepinselt und in 70%igen Alkohol überführt, um sie abzutöten und bis zur Präparation zu konservieren. Aus den so erhaltenen Proben wurden pro Termin und Standort zwei Stichproben von jeweils 400 Blutläusen untersucht, und zwar insgesamt 267 mittelgroße Blutläuse, 267 große Blutläuse und 266 bereits schwarz verfärbte Blutläuse. Ferner wurde der Anteil an „schwarzen Blutläusen mit Loch“, aus denen schon der Zehrwespenparasit geschlüpft war, durch eine Schätzbonitur (Vergabe von Noten von 1 bis 6) ermittelt.

Die zu untersuchenden Blutläuse wurden unter dem Stereomikroskop mit Hilfe zweier Uhrmacherpinzetten zerzupft und auf das Vorhandensein von Zehrwespenstadien untersucht. Für die Auswertung wurde zwischen kleinen Zehrwespenlarven, großen Zehrwespenlarven, hellen und dunklen Puppen unterschieden.

In einigen Blutläusen wurde eine schwärzliche, nicht näher definierbare Masse gefunden, deren Ursprung nicht geklärt werden konnte. Evtl. handelte es sich um zerstörte Parasitoidenlarven. Sie sind in der Auswertung separat aufgeführt

Die Proben wurden im BBA-Institut für biologischen Pflanzenschutz in zwei Kühlräumen gelagert bei Temperaturen von 2 +/- 2 °C und 4 +/- 2 °C sowie einer Luftfeuchte von etwa 80 +/- 10 %. Der tiefer eingestellte Kühlraum fiel wegen technischer Probleme bereits bei Beginn der Lagerung der Mumien aus. Kurz vor dem vorgesehenen Lagerende stieg die Luftfeuchte in dem verbliebenen Kühlraum soweit an, dass die Feuchtigkeit sich auf den geschnittenen Zweigen (und damit auch Blutlausmumien) niederschlug. Zu diesem Zeitpunkt waren allerdings die *A. mali* in den Mumien bereits abgestorben, wie stichprobenartige Untersuchungen zeigten.

## 2.3.2 Untersuchungen zur Möglichkeit der Diapauseinduktion, Lagerung und Wiederausbringung von Freilandmaterial bei einem professionellen Nützlingszüchter

### Versuche zur Diapause-Induktion (Serie A)

Um festzustellen wie hoch die Schlupfraten von *Aphelinus mali* Hald. nach der Diapause-Induktion zu unterschiedlichen Larvenstadien ist, wurden Untersuchungen mit 4 Varianten durchgeführt.

Tab. 2: Versuchsplan und Klimadaten, Serie A1-4.

Varianten Serie A	Parasitierung	Wartezeit	Diapause-Induktion	Entwicklungsbedingungen	Diapause	Lagerung	Aufwecken / Entwicklungsbedingungen
<b>Klima: Photoperiode:</b>	24°C ± 1°C 16L : 8D	22°C ± 1°C 16L : 8D	20°C ± 0,1°C 16 L : 8D	20°C ± 1°C 16 L : 8D	5 ± 0,1°C 12L : 12D	5°C ± 1°C 0L : 24D	20°C ± 1°C 16 L : 8D
A 1, 175 Mumien	2 days	2 d	10 d	nein-	6 w	6 w	ja
A 2, 100 Mumien	2 d	2 d	10 d	ja	-	-	-
A 3, 175 Mumien	2 d	6 d	10 d	nein	6 w	6 w	ja
A 4, 100 Mumien	2 d	6 d	10 d	ja	-	-	-

d = Tage; L = Hell-, D = Dunkelphase; w = Woche(n)

Am 4.12.2003 wurden der Blutlauszehrwespe zwei Tage (2 x 16 h) die Möglichkeit gegeben, Blutläuse in einer „Beimpfungskammer“ zu parasitieren. Für die Serie A sind ca. 30 (cm) lange und 0,5-1,5 cm dicke Apfeltriebe geschnitten worden. Die blattlosen, verholzten Triebe waren stark mit Blutläusen (WAA = woolly apple aphid) besetzt. Um die Apfeltriebe mit Wasser zu versorgen und die Standfestigkeit zu garantieren, wurden die Triebe in gewässerte Steinwollquader eingesteckt (Abb. 7).

Nach der Parasitierungsphase wurden die Schlupfwespen von den Wirtstieren abgesaugt, so dass das Alter der Parasitierungen relativ genau bestimmt werden konnte (Synchronisation). Im Anschluss an eine 2- bzw. 6-tägige Wartezeit bei 22°C ± 1°C, (Tab. 2), wurden die unterschiedlich alten *Aphelinus*-Larven in einer Klimakammer des Pflanzenschutzamtes Berlin diapausiert. (Klimadaten und zeitlicher Ablauf ab Parasitierung, s. Tab. 2). Mit Hilfe der Wartezeiten von 2 bzw. 6 Tagen war es möglich, die Diapause zu einem frühen und einem späten Larvenstadium der Blutlauszehrwespe zu induzieren.

Nach BONNEMAISON (1965) dauert die Eientwicklung von *A. mali* bei einer Temperatur von 20°C 2,2 Tage, die Larvalentwicklung 10 Tage und weitere 10,8 Tage die Nymphenstadien. Bei 25°C dauern die 3 Phasen 1,5, 4,7 sowie 9,8 Tage (Abb. 6).

Die Parasitierungstemperatur im Versuch lag bei 24 ± 1°C. Dieser Wert war im Gewächshaus vorgegeben, zudem liegt die Eiablagequote – bezogen auf die Lebensdauer – bei 24°C deutlich höher als bei 20°C (CHENG-TE et al. (1960).

Jeweils vor und nach der Diapause-Induktion wurden Sektionen von Mumien durchgeführt, um den Entwicklungsstand der *A. mali* und die Mortalitätsrate zu ermitteln. Nach der Diapause-Induktion sind je 100 Mumien in den Varianten A2 und A4 bei 20 ± 1°C weitergezüchtet worden. Dafür wurden die Mumien einzeln in transparente, atmungsaktive Gelatine kapseln gegeben. Nach BONNEMAISON (1965) kann anhand des Schlupfverlaufes überprüft werden, ob sich die Blutlauszehrwespen in Diapause befinden.

Die Varianten A1 und A3 sollten zunächst die Diapause sowie die Kühlung durchlaufen und im Anschluss in Gelatine kapseln „aufgeweckt“, ihnen also Schlupfbedingungen gegeben werden (Klimadaten und Ablauf s. Tab. 2). Abschließend sollte die Schlupfrate sowie die Fitness durch Reproduktionstests überprüft werden.

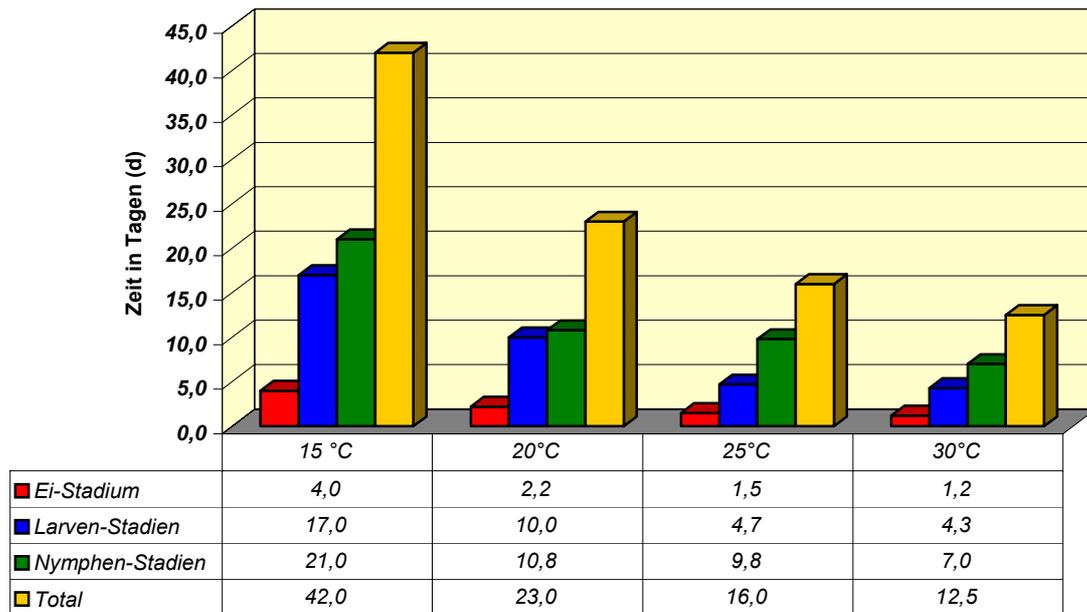


Abb. 6: Dauer der Entwicklungsphasen in Abhängigkeit von der Temperatur nach BONNE-MAISON (1965)

### Folgeversuche zur Diapauseinduktion

Im folgenden Test wurde eine mit Blutläusen besetzte, getopfte Apfel-Jungpflanze („Golden Delicious“) in eine 20x40x18 cm große „Parasitierungsbox“ gestellt (Abb. 7). Aus einer *Aphelinus*-Zucht wurden 18 Tiere eingefangen und in die „Parasitierungsbox“ eingesetzt. Die Box wurde in ein Gewächshaus gestellt, das auf eine Temperatur von  $20\text{ C} \pm 1,0\text{ C}$  heruntergefahren wurde. Die Photoperiode war auf 16L : 8D eingestellt. Der weitere Ablauf war dem der Versuchserie A 1-4 gleich, d.h. Diapause-Induktion im Pflanzenschutzamt Berlin bei  $20\text{ C} \pm 0,1\text{ C}$ , Photoperiode: 12L : 12D. Nach 10-tägigem Verbleib in der Induktions-Klimakammer wurden die Blutlaus-Mumien einzeln in Gelatinekapseln deponiert, um so den Schlupfverlauf verfolgen zu können. Das Klima war auf „Entwicklungsbedingungen“ eingestellt, also:  $20\text{ C} \pm 1\text{ C}$ , Photoperiode 16L : 8D. Durch die verringerte Temperatur waren deutlich weniger Blutläuse parasitiert. Für das Schlupfmonitoring standen nur 70 Mumien zur Verfügung.



Abb. 7: Parasitierungsbox (links) und mit Blutläusen besetzte Apfelholztriebe in der Parasitierungskammer (rechts), Katz Biotech AG, 2003.

### Untersuchungen zum Diapause-Management (Serie B und C)

Die Aufbereitung der mit Blutläusen besetzten Apfeltriebe sowie die Parasitierung verliefen identisch zur Versuchsserie A (Abb. 7). Die Serien B und C wurden jedoch eine Woche später, ab dem 10.12.2003 parasitiert (Tabelle 3). Auch in der Versuchsserie B wurde aufgrund der zu hohen Temperaturführung keine Diapause induziert. Die Serie B ist daher vorzeitig abgebrochen worden, während die Parasitierungstemperatur von 24°C für den Ablauf der Serie C (Kontrolle) keine Probleme erwarten ließ. Nachdem die parasitierten Blutläuse mumifizierten, wurden sie vom Holz entfernt und für 6; 8 bzw. 10 Wochen in einem Kühlschrank, bei  $\leq t_0$  (8,2°C) und einer rel. LF. von 40-80% gelagert. Es wurden Sektionen nach der Mumifizierung sowie nach der Kühlphase durchgeführt.

Tab. 3: Versuchsplan der Serien B und C. Zeittafel und Klimaeinstellungen der Varianten

Varianten Serie B/C	Parasitierung	Wartezeit	Diapause-Induktion	Diapause	Lagerung	Aufwecken / Entwicklungsbedingungen	Aufwecken / Entwicklungsbedingungen
<b>Klima:</b> <b>Photo- periode:</b>	24°C ± 1°C 16L : 8D	22°C ± 1°C 16L : 8D	20°C ± 0,1°C 16 L : 8D	5°C ± 0,1°C 12L : 12D	5°C ± 1°C 0L : 24D	20°C ± 1°C 16 L : 8D	4 d 14°C, dann 20°C ± 1°C 6 L : 8D
B 1, 175 Mumien	2 days	2 d	10 d	6 weeks	2 w	-	ja
B 2, 175 Mumien	2 d	2 d	10 d	6 w	2 w	ja	-
B 3, 175 Mumien	2 d	2 d	10 d	6 w	4 w	-	ja
B 4, 175 Mumien	2 d	2 d	10 d	6 w	4 w	ja	-
B 5, 175 Mumien	2 d	2 d	10 d	6 w	6 w	-	ja
B 6, 175 Mumien	2 d	2 d	10 d	6 w	6 w	ja	-
C 2, 150 Mumien	2 d	10 d	-	-	6 w-	ja	-
C 3, 150 Mumien	2 d	10 d	-	-	8 w	ja	-
C 4, 150 Mumien	2 d	10 d	-	-	10 w-	ja	-

### Versuche zur Wiederausbringung der Blutlauszehrwespen

Für diese Versuchsserie wurden Mumien aus der *Aphelinus*-Zucht verwendet. Es sollte untersucht werden, ob die Schlupf-Quote bzw. das -Intervall sich unterscheiden, wenn Mumien am Holz belassen, bzw. auf Ausbringungskarten geklebt wurden. Dafür sind am 20.02.04 114 Mumien, die sich auf Ästen befanden, markiert worden, sodass der Schlupf dieser Mumien nachvollzogen werden konnte. Weitere 10 x 10 Mumien wurden auf Ausbringungskarten geklebt (s. Abb. 8). Es war sichergestellt, dass noch alle Mumien Aphelinen enthielten, also kein Schlupfloch vorhanden war. Alle verwendeten Mumien entwickelten sich bei 24-25°C und LT-Bedingungen im Gewächshaus. Ab Schwarzfärbung bzw. Mumienbildung werden bei 24-25°C noch ca. 4-9 Tage Entwicklungszeit bis zum Schlupf der Imagines erwartet. Bei gleicher Klimaeinstellung wurden bis zum 27.02.

04 die Schlupf-Quoten erhoben. Die Versuchsmumien befanden sich 1-7 Tage auf dem Papier bzw. dem Holz.

### 2.3.3 Untersuchungen zu den Nebenwirkungen von im Ökologischen Obstbau verwendeten Pflanzenbehandlungsmitteln auf die Blutlauszehrwespe

Die Versuche zur Kontakttoxizität wurden nach den IOBC-Richtlinien zur Prüfung von Nebenwirkungen auf Nützlinge (Candolfi et al., 2000) durchgeführt. Nach diesen Richtlinien wird bei Anwendung auf Glas die zu prüfende Aufwandmenge/ha des Produkts basierend auf einer Wasseraufwandmenge von 200 L/ha angesetzt, da höhere Spritzbrühemengen nicht auf Glas appliziert werden können.

Von dieser Spritzbrühe wird mit einem Präzisionsprühgerät (Laborsprühturm Potter Tower, Burkard Scientific Ltd, UK) ein standardisierter Belag von 2 mg/cm<sup>2</sup> (entspricht 200 l/ha) auf Glas appliziert. Somit wird die Hektar-Aufwandmenge, die sich unter Praxisbedingungen auf dreidimensionale Strukturen verteilt, in vollem Umfang auf die zweidimensionale Expositionsfläche Glas übertragen, d.h. es handelt sich hier um „worst-case“-Bedingungen, um mögliche Effekte mit Sicherheit zu erkennen.

Alle hier beschriebenen Versuche wurden als Kontaktversuche durchgeführt. Die Herkunft der Versuchstiere und die Details der Versuchsmethode wurden bereits für die Versuche mit Quassia-Extrakt beschrieben.

#### Testsubstanzen und Kontrolle

##### **Kumulus WG (Netzschwefel)**

Fungizid, Schwefelgehalt: 800 g/kg

Hersteller: BASF AG

Spritzungen mit Netzschwefel werden im ökologischen Obstbau gegen Schorf und Echten Mehltau vorgenommen. Die biologische Wirkung des Schwefels beruht auf der Toxizität des elementaren Schwefels durch Bildung von Schwefelwasserstoff und Schwefeldioxid. Dieser Wirkmechanismus setzt erst oberhalb von 10 °C ein (GOLBA 2002, BBA-Datenbanken).

##### **Funguran WP (Kupferoxychlorid)**

Fungizid, 756 g Kupferoxychlorid / kg (= 45 % Cu)

Hersteller: Spiess - Urania Chemicals GmbH

Funguran wirkt als Kontaktfungizid mit vorbeugender Wirkung und hat ein breites Einsatzspektrum. Die Wirkung des Kupfers entsteht durch die biozide Wirkung der Kupferionen durch Blockade von Enzymsystemen. Kupfer ist als toxisch für aquatische Lebewesen und bedenklich für Regenwürmer eingestuft (BBA-Datenbank).

##### **Schwefelkalk (Calciumpolysulfid) Dispergierbares Konzentrat**

Fungizid, Wirkstoffanteil 80 % (Schwefelanteil 23%)

Hersteller: Fa. Polisenio, Italien

Die Toxizität des Schwefelkalks beruht auf Schwefelwasserstoffbildung und der ätzenden Wirkung der alkalischen Lösung. Die pH-Wert-Verschiebung beim Verdünnen des Konzentrats führt zu starker Bildung von Schwefelwasserstoff.

#### **Kontrolle**

In der Kontrolle wird deionisiertes Wasser appliziert

### 2.3.4 Erste Untersuchungen zur Darlegung der genetischen Diversität unterschiedlicher Populationen der Blutlauszehrwespe

#### Insekten

Die in den Untersuchungen verwendeten Exemplare von *A. mali* wurden überwiegend als Blutlaus-Mumien im Freiland gesammelt und bis zum Schlupf der Parasitoide im Labor gehalten. Sie wurden im Winter 2003/2004 im Freiland gesammelt. Das Material aus Ahrweiler und Südtirol schlüpfte nicht, so dass nur die in Tab. 4 dargestellten Herkünfte für die DNA-Extraktion zur Verfügung standen. Bis zur DNA-Extraktion lagerten frisch geschlüpfte adulte Parasitoide bei -20°C.

Tab. 4: Geographische Herkunft der untersuchten *A. mali*-Tiere

Land	Ort, Region
Deutschland Laborzucht	BBA Dossenheim
Deutschland	Bodensee, Lindau
Deutschland	Altes Land
Deutschland	Stuttgart-Mühlhausen
Niederlande	
Kanada	

#### DNA Extraktion

Aus einzelnen adulten Tieren wurde gesamt-genomische DNA nach der Methode von REINEKE *et al.* (1998) extrahiert. Für eine bessere Ausbeute wurde die DNA statt mit Polyethylenglykol (REINEKE *et al.* 1998) mit 0.55 Vol. Isopropanol gefällt und in 15 µl TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) resuspendiert. Die Konzentration der Proben wurde photometrisch bestimmt.

#### AFLP-Analyse

Die AFLP-Analyse folgte einer Modifikation der Methode von REINEKE & KARLOVSKY (2000), wobei die Primer nicht radioaktiv sondern fluoreszenzmarkiert waren. Abb. 9 gibt einen Überblick über den methodischen Ablauf der AFLP-Analyse, die Sequenzen der eingesetzten Adapter und Primer sind in Tab. 5: dargestellt.

#### Numerische Analyse der AFLP-Bandenmuster

Die Auswertung der AFLP-Gele erfolgte mit dem Programm GelCompar 4.1 (Applied Maths), wobei als Schwellenwerte in der automatischen Erkennung von Banden ein Minimalprofil der Banden von 4% (Bandenintensität musste mindestens 4% der dunkelsten Fläche des Gels betragen) und eine Minimalfläche von 0.5% (der gesamten Fläche des Bandenmusters) eingestellt wurden. Die ermittelten AFLP-Fragmente wurden in Form einer binären Matrix codiert und die genetischen Ähnlichkeiten nach DICE (1945) berechnet, wobei das Programm GelCompar die Banden in Klassen mit einem Toleranzwert von 0.5% Abweichung einteilte. Zur graphischen Darstellung der ermittelten Ähnlichkeiten zwischen den Isolaten wurde eine Clusteranalyse nach dem UPGMA-Verfahren (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages, SNEATH & SOKAL 1973) durchgeführt.

<b>Restriktionsverdau</b>	70-150 ng DNA Zugabe von 10 U <i>EcoRI</i> und 5 U <i>MseI</i> (beide MBI Fermentas) Inkubation für 1.5 h bei 37°C und 1.5 h bei 65°C Gesamtreaktionsvolumen: 10 µl
<b>Ligierung</b>	Zugabe von <i>EcoRI</i> and <i>True11</i> Adapttern in einer Endkonzentration von 2 pmol, 1x LIG Puffer und 1 U T4 DNA Ligase (MBI Fermentas), Inkubation bei 20°C, 2 h
	10-fache Verdünnung mit TE Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA)
<b>Präamplifizierung</b>	2 µl verdünnte Ligierung 27 ng <i>EcoRI</i> Primer (E4) 30 ng <i>MseI</i> primer (M13) 1x PCR Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 1.5 mM MgCl <sub>2</sub> , 50 mM KCl)
	0.1 mM dNTPs (MBI Fermentas) 0.5 U Taq DNA Polymerase (MBI Fermentas)
	PCR-Programm: 20 Zyklen bestehend aus: 94°C, 30 s 56°C, 1 min 72°C, 1 min
	10-fache Verdünnung mit TE Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA)
<b>Selektive Amplifizierung</b>	2.0 µl verdünnte, präamplifizierte DNA 1x PCR Puffer 0.1 mM dNTPs (MBI Fermentas) 0.5 U Taq Polymerase 2.7 ng fluoreszenzmarkierter <i>EcoRI</i> Primer 7.6 ng <i>MseI</i> Primer Gesamtvolumen: 10 µl
	PCR-Programm: 12 Zyklen bestehend aus: 94°C, 30 s 65°C, 30 s 72°C, 1 min, dabei Senkung der Annealingtemperatur bei jedem Schritt um 0.7°C 23 Zyklen bestehend aus: 94°C, 30 s 56°C, 1 min 72°C, 1 min
	Zugabe von 10 µl Formamid-Puffer (98% Formamid, 10 mM EDTA, pH 8.0, 0.025% Xylene Cyanol FF, 0.025 % Bromophenolblau), Denaturierung für 3 min bei 80°C
	Gelelektrophorese in einem 5%igen, denaturierenden Polyacrylamid Gel (Long Ranger) auf einem automatischen Sequenzierer (ALFExpressII, Amersham)
	Als Standard zur Größenbestimmung der Fragmente und zur gemeinsamen Auswertung unterschiedlicher Gelläufe mit Computer-Software diente der ALF Sizer 50-500 (Amersham).
	Detektion entstandener Fragmente über eine Lasereinheit, Auswertung der Chromatogramme und Erzeugung eines „virtuellen“ Gelbildes mit geeigneter Software

Abb. 9: Ablauf der AFLP-Analyse

Tab. 5: Sequenzen der in der AFLP-Analyse eingesetzten Adapter und Primer mit Angabe der Anzahl selektiver Nukleotide (s.N.)

Primer	s.N.	Code	Sequenz
<i>EcoRI</i> -Adapter			5' -CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3' -CATCTGACGCATGGTTAA-5'
<i>MseI</i> -Adapter			5' -GACGATGAGTCCTGAG-3' 3' -TACTCAGGACTCAT-5'
Primer <i>EcoRI</i>	+ 0	E4	5' - GACTGCGTACCAATTC-3'
	+ 3	E14	5' - GACTGCGTACCAATTC <b>AAG</b> -3'
		E16	5' - GACTGCGTACCAATTC <b>ACC</b> -3'
Primer <i>MseI</i>	+ 0	M13	5' - GATGAGTCCTGAGTAA-3'
	+ 3	M15	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>CAG</b> -3'
		M16	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>CGG</b> -3'
		M17	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>CCA</b> -3'
		M18	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>AGA</b> -3'
		M19	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>AGG</b> -3'
		M25	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>TCC</b> -3'
		M35	5' - GATGAGTCCTGAGTAA <b>GCA</b> -3'

### PCR-RFLP der ITS2-Region

Für die Amplifikation der ITS2-Region wurde ein Reaktionsansatz von 50 µl bestehend aus 30-80 ng DNA, 1 x PCR-Puffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, je 10 pmol der Primer OL 171 (5'GTCTTGCCTGCTCTGAG3') und OL 141 (5'TGTGAACTGCAGG-ACACATG3') und 1 U *Taq*-Polymerase eingesetzt. Das PCR-Programm bestand aus einer Eingangsdenaturierung bei 94°C für 2 min, gefolgt von 30 Zyklen bestehend aus 94°C für 1 min, 50°C für 1:30 min und 72°C für 1:30 min. Abschließend fand eine Elongation bei 72°C für 5 min statt.

Im Anschluss an die PCR wurde ein 5 µl Aliquot des Ansatzes auf ein 1.5%iges Agarosegel aufgetragen, elektrophoretisch aufgetrennt und mit Ethidiumbromid angefärbt.

Für die Restriktionsspaltung wurde 15 µl des PCR-Produkts mit den Enzymen *EcoRI*, *PstI* und *TaqI* (jeweils 5 U) in einem geeigneten Puffer versetzt und bei den für das jeweilige Enzym optimalen Temperaturen für die Dauer von 2 h inkubiert.

Die Analyse entstandener Restriktionsfragmente erfolgte für 80V und 80 min in einem 3.5%igen Agarosegel mit anschließender Färbung der Banden in Ethidiumbromid.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

##### 3.1.1 Regulierung der Apfelsägewespe

###### 3.1.1.1 Untersuchungen von Holzproben auf Inhaltsstoffe

In den nachstehenden Hölzern wurden der Quassin- und Neoquassin-Gehalt bestimmt (Tab. 6). Quassin ist in den analysierten Hölzern bis zu einem Gehalt von 1 ppm nachgewiesen worden. Neoquassin und Quassin stehen in keiner konstanten Relation zueinander. Der Gehalt an Neoquassin kann lediglich ein Drittel des Gehaltes an Quassin betragen. In einer Charge wurde aber auch der vierfache Gehalt nachgewiesen.

Tab. 6: Gehaltsbestimmungen von Quassin und Neoquassin in verschiedenen Bitterhölzern.

Ursprung	Holzart (Lieferantenangabe)	Chargenbezeichnung	Quassin (mg/g Holz)	Verhältnis Quassin/Neoqu.
Mexiko	Mexican <i>Cuassia amara</i> chips	2002	0,001	ca. 1: 1,5
Mexiko	<i>Chapparo amargo</i>	2002	0,08	nicht bestimmt
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	Typ IS	0,08	1: 0,6
Brasilien	<i>Quassia amara</i>	A.0206052	0,13	1:1,6
Brasilien	<i>Quassia amara</i>	A.0203082	0,17	1:0,3
Brasilien	<i>Quassia amara</i>	A.0203083	0,19	1:0,8
Mexiko	<i>Quassia amara</i>	2002	0,22	1: 0,8
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	Typ FF	0,40	1: 2,3
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	2036	0,45	1:1,7
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	Abladungsware	0,46	1:0,8
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	5085	0,56	1:1,8
Brasilien	<i>Picrasma excelsa</i>	A.0203081	0,64	1:3,3
Costa Rica	<i>Quassia amara</i>	Ernte Oktober 01	0,79	1:0,7
Jamaika	<i>Picrasma excelsa</i>	-	0,88	1:1,6
unbekannt	<i>Quassia amara</i>	20110R02	0,97	1:1,6
China	<i>Picrasma quassioides</i>	-	nicht nachweisbar	-
Brasilien	<i>Quassia amara</i>	A.0309221	0,44	1:4
Brasilien	<i>Quassia amara</i>	A.0301211	0,47	1:1
Brasilien	<i>Picrasma excelsa</i>	A.0301213	0,59	nicht bestimmt
Min-/Max-Werte			bis 0,001-1 mg/kg	1:0,3 bis 1:4

## Diskussion

Der Gehalt an Quassin und Neoquassin schwankt sowohl relativ zueinander als auch absolut in erheblichem Maße bei Hölzern unterschiedlicher Chargen. Die Substanz 18-Hydroxyquassin war in einigen Hölzern gar nicht vorhanden. Da die Isolierung dieser Substanz sich als sehr schwierig und aufwändig gestaltete und in den Versuchen die Bedeutung von Quassin bestätigt wurde, wurde auf eine weitere Bearbeitung dieser Substanz verzichtet. Ein Qualitätskriterium für die Praxis, das sich auf drei verschiedene Substanzen gründet, wäre auch zu komplex und nicht handhabbar.

### 3.1.1.2 Optimierung der Anleitung zur Selbsterstellung von Quassiauszügen

**Schnittgröße (Abb. 10 links):** zeigt die Ausbeute an Quassin bei der Extraktion von Holz unterschiedlicher Schnittgröße unter ansonsten gleichen Bedingungen. Nach der ersten Extraktion erhält man 74 bzw. 82% des gesamten Quassin-Gehalts im Holz, bezogen auf den Quassin-Gehalt im komplett mit wässrig/organischen Lösungsmitteln ausgezogenen Holz. Nachwaschen führt zu 5%iger Ausbeuteerhöhung. Durch die doppelte Extraktion kann Quassin quantitativ erhalten werden. Die angegebene Holzgröße kann somit gut in der Praxis zur Extraktion verwendet werden. Versuche mit Holzpulver dagegen führten zum Verstopfen der Filter. Dass in der verwendeten Holz-Charge 5085 scheinbar mehr als 100% Quassin gefunden wurde, ist auf die Inhomogenität des eingesetzten Materials zurückzuführen.

**Temperatur (Abb. 10 rechts):** Die ausschließlich kalte Extraktion des Holzes führt deutlich zu schlechteren Ausbeuten im Vergleich mit der Extraktbereitung bei 100°C. Während das Stehenlassen bei Raumtemperatur auch bei doppelter Durchführung der Extraktion nur zu weniger als 80% Quassin bezogen auf den Gesamtgehalt im Holz führt, erhält man bereits bei der Extraktion mit 1stündigem Erhitzen und Nachwaschen dieses Ergebnis. Das wiederholte Auskochen führt zur vollständigen Extraktion.

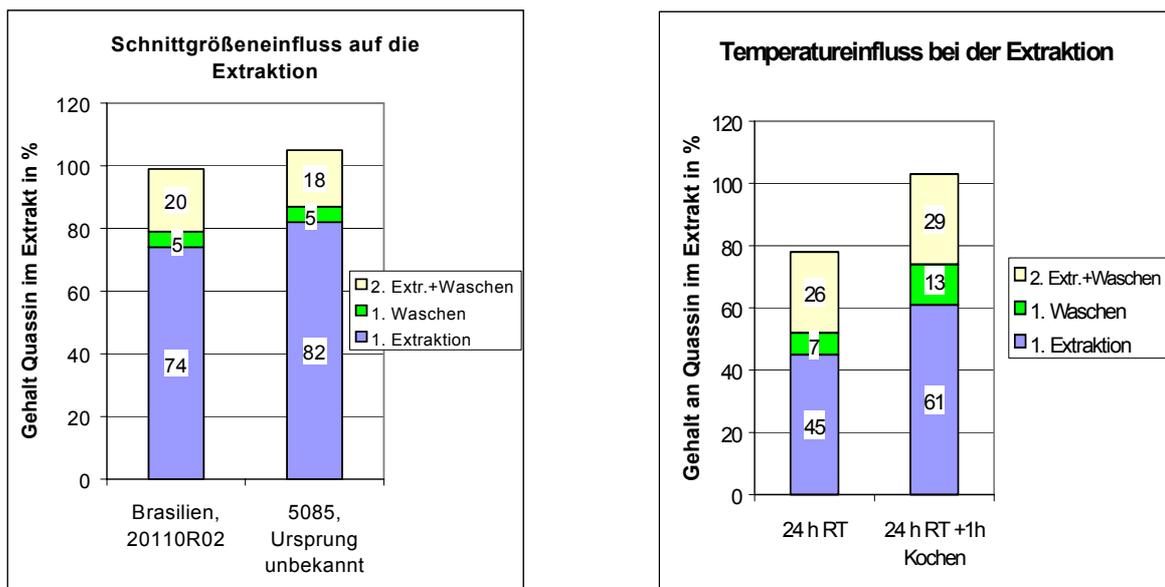


Abb. 10: Einfluss der Schnittgröße des Holzes und der Temperatur bei der Extraktion auf die Ausbeute an Quassin

**Wassermenge:** Wie aus Abb. 11 (links) hervorgeht, hat die verwendete Wassermenge einen deutlichen, aber geringeren Einfluss auf die Extraktion des Quassins. Bei Verwendung von 100 ml Wasser mit anschließendem Nachwaschen erhält man bereits über 80% des möglichen Quassins. Bei halbiertes Wassermenge verringert sich die Ausbeute nach einmaliger Behandlung auf 62%, Waschen erhöht den Quassin-Gehalt im Extrakt um 13%. Die Wiederholung der Behandlung führt in beiden Fällen zur vollständigen Extraktion.

**Zeiteinfluss:** Aus Abb. 11 (rechts) ist die Zeitabhängigkeit der Extraktion ersichtlich. Durch 1-stündiges Kochen mit anschließendem Waschen sind 44% des möglichen Quassins erhältlich. Die Wiederholung des Procederes führt zu Ausbeuten von insgesamt 63%. Lässt man das Wasser jedoch längere Zeit einwirken, erzielt man deutlich bessere Ausbeuten von 74%.

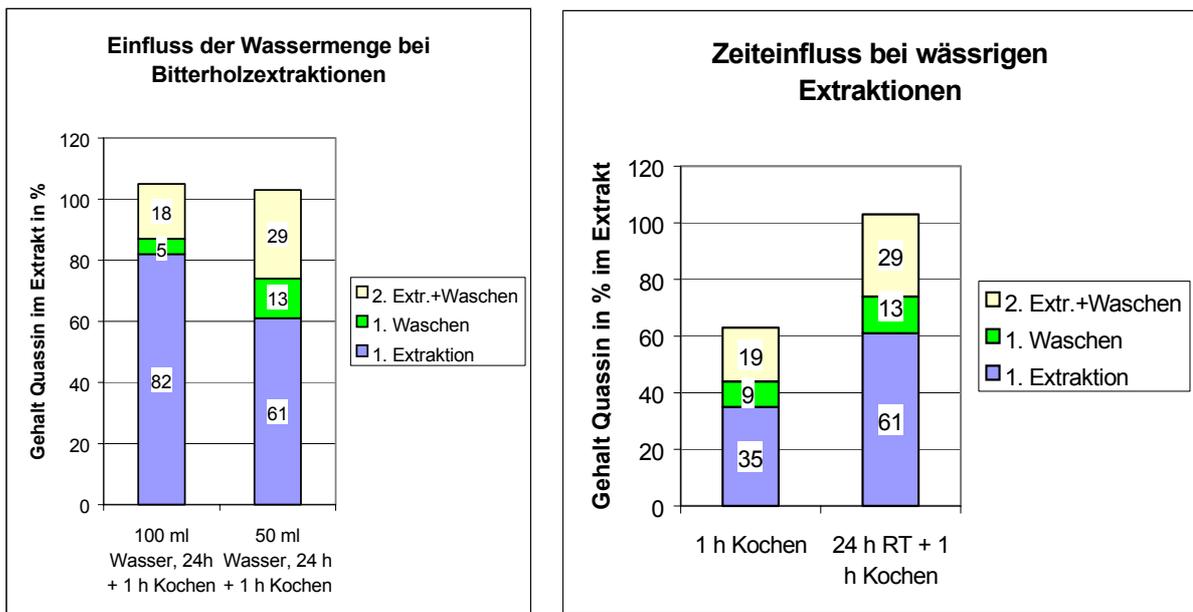


Abb. 11: Einfluss der verwendeten Wassermenge und der Zeit bei der Extraktion

## Diskussion

Zusammengefasst ergibt sich nachstehendes Bild für eine optimale wässrige Extraktion von Quassia-Holz:

- das Holz sollte in kaltem Wasser eingeweicht werden (24 h). 2 Stunden sind auf jeden Fall zu wenig.
- anschließend sollte noch mind. 1 Stunde lang gekocht werden.
- es sollte reichlich Wasser verwendet werden, mindestens die 10-fache Gewichtsmenge des Holzes.
- Waschen mit Wasser lohnt sich in jedem Fall.
- zweifache Behandlung verbessert die Ausbeute.
- Quassia-Chips können gut verwendet werden. Pulver auch, aber möglicherweise entstehen Probleme bei der Filtration.
- die Brühen halten sich einige Tage, ohne dass der Wirkstoff abbaut.

### 3.1.1.3 Untersuchungen zu den Effekten der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe von *Quassia* auf verschiedene Stadien der Sägewespe

#### Ergebnisse im Versuchsjahr 2002

Überraschenderweise zeigte sich bei der Aufwandmenge entsprechend 6g/ha kaum ein Effekt auf den Schlupf der Sägewespenlarven aus den Eiern (Abb. 12). Als daraufhin der Versuch mit einer Aufwandmenge entsprechend 24 g/ha wiederholt wurde, konnte bei Neoquassin eine statistisch zwar absicherbare, aber doch noch relativ geringe Wirkung auf die Schlupfquote der Eier festgestellt werden.

Nach dem Schlupf bohrten sich die Larven entweder sofort in die Blüte ein oder sie verließen die Blüte. Für Sägewespenlarven im Freiland ist es vermutlich überlebenswichtig, dass sie keine Blüten akzeptieren, die auch nur die geringsten Welkeerscheinungen zeigen. Obwohl die Blüten immer im Wasser gehalten wurden, kam es dennoch bei einigen Blüten auch in der Kontrolle zu mangelnder Akzeptanz. Dennoch konnte bei der Anzahl der Larven, die sich in die Blüten einbohrten, ein deutlicher Effekt der Behandlungen beobachtet werden. Beim Versuch mit der hohen Aufwandmenge ergaben sich hier allerdings keine signifikanten Unterschiede, da aufgrund schlechter Blütenqualität (Versuch gegen Saisonende durchgeführt) auch in der Kontrolle fast alle Larven abwanderten.

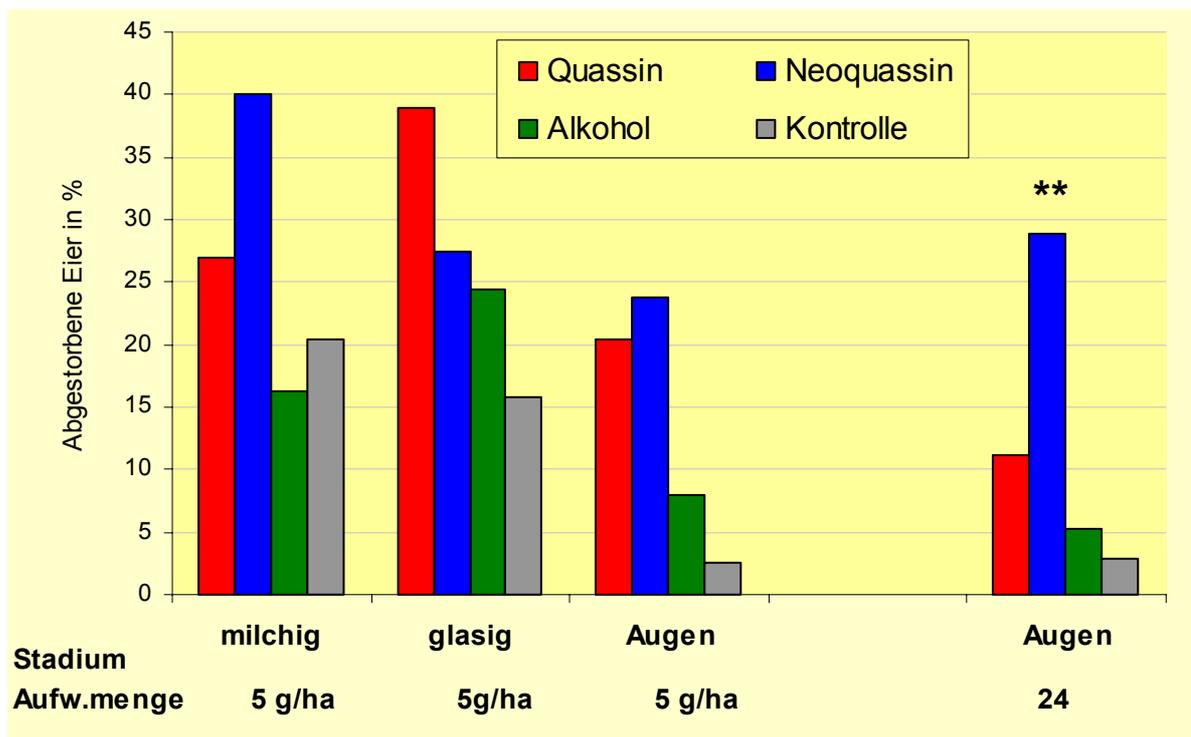


Abb. 12: Wirkung von Quassin und Neoquassin auf die verschiedenen Eireifungsstadien der Sägewespe (Ei milchig, glasig, Augen der Larve sichtbar). Angegeben sind die Aufwandmengen pro ha (5 g/ha). \*\* = signifikant ( $\alpha = 0,01$ ) mittels Mehrfeldertafel/Vierfeldertafel

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde im Rahmen einer Bachelor-Arbeit untersucht, inwiefern eine Kontakt- oder Frasswirkung auf die Larven der Sägewespe vorliegt. Da die Saison bereits fortgeschritten war, konnten nur noch ältere Larven verwendet werden. Ein erster Tastversuch schlug aufgrund von methodischen Problemen fehl, die dann noch verwendeten Larven waren bereits relativ alt (nach Übertritt in die zweite Frucht).

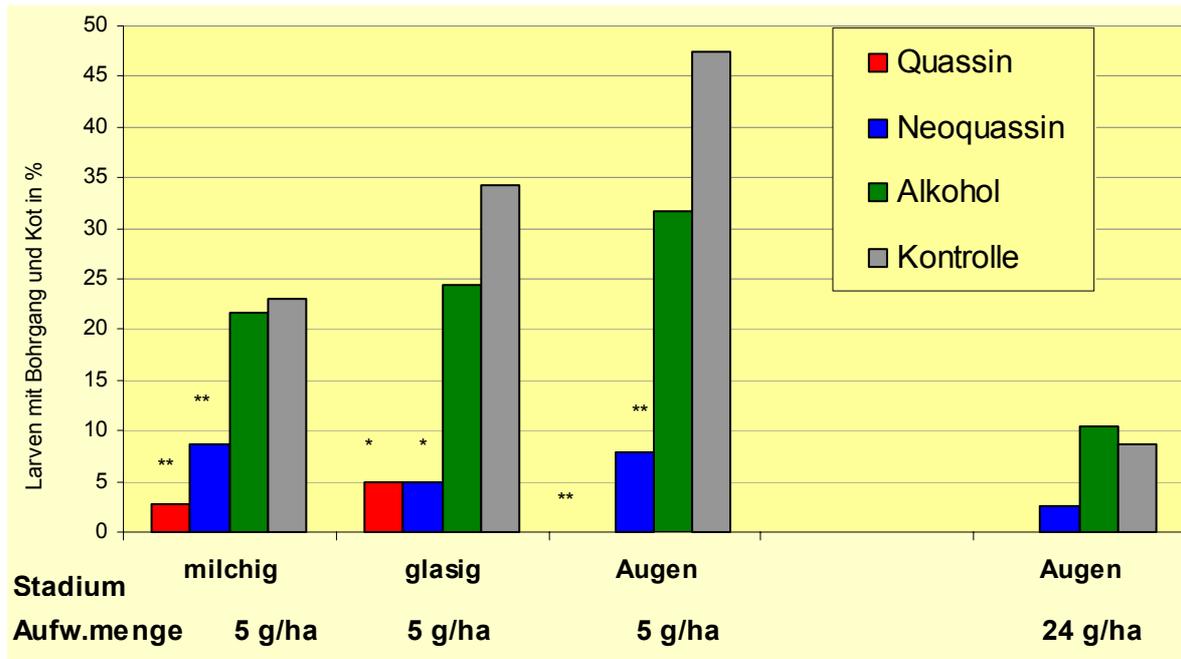


Abb. 13: Wirkung von Quassin und Neoquassin auf das Einbohren der Larven. Angegeben sind die Aufwandmengen pro ha. \*\* = signifikant ( $\alpha= 0,01$ ); \* = signifikant ( $\alpha= 0,05$ ) mittels Mehrfeldertafel/Vierfeldertafel

Tab. 7: : Wirkung von Quassin und Neoquassin auf ältere Larven der Sägewespe: Korrigierte Mortalität in %. Unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede (Mehrfeldertafeln,  $\alpha= 0,05$ )

Aufwand	Korrigierte Mortalität (%)					
	Kontakt			Frass		
	Kontrolle	Quassin	Neoquassin	Kontrolle	Quassin	Neoquassin
6 g	6,7 a	10,0 a	6,7 a	13,3 ac	33,3 bc	16,7 ac
12 g		20,0 ac	10,0 ac		<b>53,3 b</b>	30,0 bc

Eine Kontaktwirkung konnte nicht nachgewiesen werden. Quassin mit 12 g/ha zeigte allerdings nach oraler Aufnahme eine signifikante Wirkung auf die Larven. Neoquassin wies keine ähnliche Wirkung auf.

**Diskussion der Ergebnisse 2002**

Die Laborversuche im Jahr 2002 erlaubten keine Aussage darüber, ob die Reduktion der Anzahl eingebohrter Larven auf eine Schädigung der Larve im Ei (Schlupf erfolgt, Larve ist aber nicht lebensfähig), einen Repellent-Effekt oder eine tödliche Fraß- oder Kontaktwirkung nach dem Schlupf zurückzuführen ist.

Die ovizide Wirkung scheint auf jeden Fall wider Erwarten eine eher geringe Rolle zu spielen. Dies zeigte sich auch in Auswertungen von mit Quassia behandelten Früchten, die keinen Befall aber eine Eiablagestelle der Sägewespe aufwiesen. Auch hier war zu sehen, dass die Larven aus dem Ei geschlüpft waren.

Eine endgültige Aussage über die Bedeutung einer Kontamination der Eier mit der Spritzbrühe, wie in allen Beratungsempfehlungen gefordert, würde aber erst möglich sein, wenn nachgewiesen werden konnte, ob eine Schädigung der Larve im Ei erfolgt.

Ein offensichtlicher Effekt von Quassin bei oraler Aufnahme konnte bei älteren Larven festgestellt werden, nicht jedoch von Neoquassin. Es war daher davon auszugehen, dass für die Qualitätskriterien beide Substanzen getrennt betrachtet werden müssen.

**Ergebnisse im Versuchsjahr 2003**

Im Versuchsjahr 2003 sollte geklärt werden, ob eine direkte Kontamination der Eier mit der Spritzbrühe notwendig ist. Dazu mussten behandelte Eier auf unbehandelte Blüten verbracht werden. Umgekehrt wurden unbehandelte Eier auf behandelte Blüten gesetzt, um den Effekt auf die Larven zu vergleichen.

Die Ergebnisse (Abb. 14) zeigten ein klares Bild: Nur wenn die Larven auf behandelter Blüte schlüpften, ergab sich ein statistisch hochsignifikanter Unterschied zur Kontrolle. Die Schlupfrate der Eier zeigte bei keinem der Versuche einen signifikanten Unterschied.

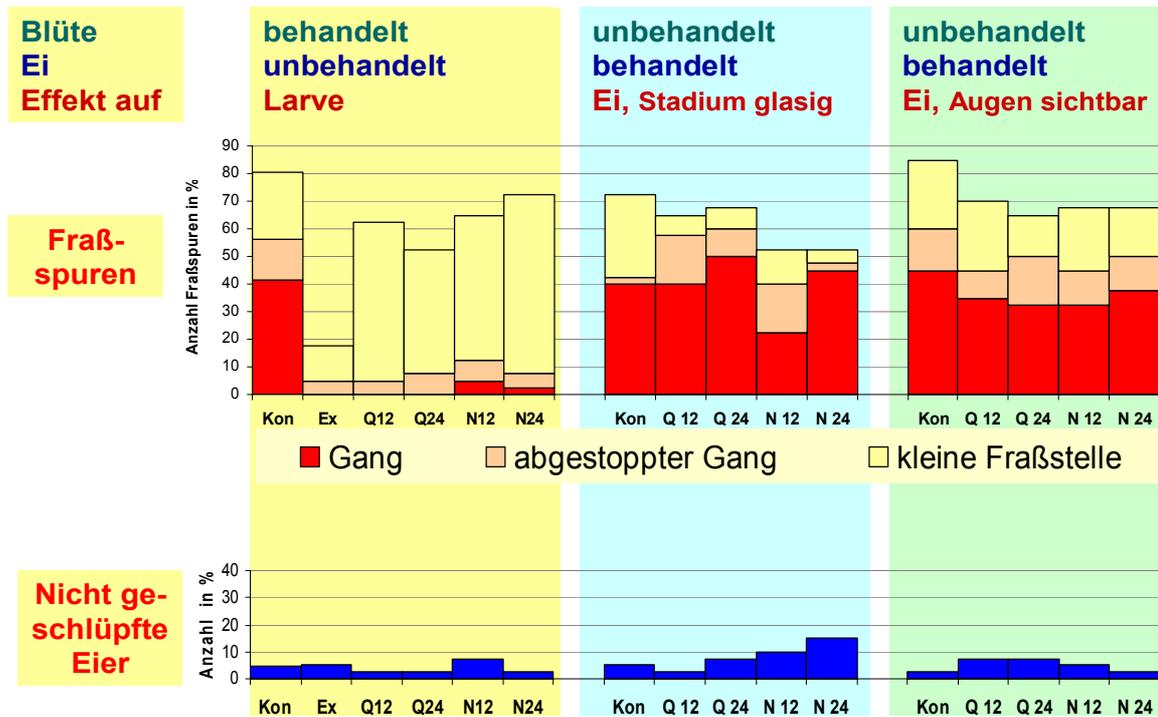


Abb. 14: Fraßspuren und Anzahl nicht geschlüpfter Eier bei behandelten Eiern, die auf unbehauelter Blüte schlüpften bzw. bei unbehauelten Eiern, die auf behauelten Blüten schlüpften.

Zusätzlich zu diesen Untersuchungen wurden noch Tests mit Larven unterschiedlicher Stadien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 8 dargestellt.

Hier zeigte sich bei den L1-Larven kein großer Unterschied im Wirkungsgrad zwischen Quassin und Neoquassin. Bei den älteren Larven war jedoch ein deutlicher, auch statistisch abgesicherter Unterschied zwischen den beiden aktiven Inhaltsstoffen festzustellen. Der Wirkungsgrad von Neoquassin ließe sich auch durch eine höhere Aufwandmenge nicht verbessern. Je älter die Larven waren, desto schwächer wurde der Effekt von Neoquassin während Quassin noch deutliche Wirkung zeigte.

Tab. 8: Wirkungsgrad nach ABBOTT der aktiven Inhaltsstoffe Quassin und Neoquassin auf verschieden alte Larven der Sägewespe sowie "Wirkungsgrad" von Quassin im Vergleich zu Neoquassin

Versuch	Larven	g/ha ca.	WG (ABBOTT) in %		"WG" (ABBOTT) in % Quassin im Vergleich zu Neoquassin
			Quassin	Neoquassin	
1	L1-Larven	1,5	71,9	61,0	17,8
		3	75,1	71,1	5,7
		6	91,6	63,0	45,3
		12	80,7	69,5	16,2
		18	76,7	75,5	1,6
2	bei der Überwanderung in die 2. Frucht	6	68,6	31,4	54,3
		12	84,3	39,9	73,8
		24	89,9	50,3	79,8
3 (2002)	kurz nach der Überwanderung in die 2. Frucht	6	20,6	0,3	20,3
		12	41,6	18,1	28,7

### **Diskussion der Ergebnisse 2003**

Im Versuchsjahr 2003 wurde zweifelsfrei nachgewiesen, dass es nicht von Bedeutung ist, dass die Eier der Sägewespe mit der Spritzbrühe kontaminiert werden. Die Wirkung auf Larven hat sich jedoch bestätigt. Beide Inhaltsstoffe wirkten auf die Larven. Bei den L1-Larven waren mit den untersuchten Aufwandmengen nur geringe Unterschiede zwischen Quassin und Neoquassin festzustellen. Da bei älteren Larven größere Differenzen zu beobachten waren, liegt die Vermutung nahe, dass bei entsprechend niedrigen Aufwandmengen ähnliche Effekte auch bei L1-Larven beobachtet werden könnten. Die Dosis-Wirkungs-Beziehung beider Reinsubstanzen verlief jedoch bei den untersuchten Aufwandmengen extrem flach. Dies bedeutet, dass bereits sehr niedrige Aufwandmengen sehr gut wirken.

Bei den älteren Larven konnte allerdings bei Neoquassin keine Verbesserung der Wirkung bei höherer Aufwandmenge erzielt werden. Dies bedeutet, dass in diesem Fall Quassin nicht einfach durch eine entsprechend höhere Menge an Neoquassin ersetzt werden kann.

#### ***3.1.1.4 Freilandversuche zur Wirkung von Quassiaextrakten mit verschiedenen Aufwandmengen / Terminen / Kombinationen mit NeemAzal-T/S***

### **Ergebnisse aus dem Versuchsjahr 2002**

Im ersten Versuchsjahr sollten folgende Fragestellungen geklärt werden:

- Einschätzung der Dosis-Wirkungskurve für den Extrakt bezogen auf den Quassingehalt
- Erste Einschätzung des Effektes von Neoquassin durch Vergleich von Extrakten mit unterschiedlichem Verhältnis Quassin/Neoquassin bei gleichem Quassingehalt

- Ist eine Kombination der Quassia-Behandlung mit NeemAzal-T/S sinnvoll? Kann der Termin für diese Behandlung auch noch eine Woche später liegen? (*Hintergrund: Wenn der Betriebsleiter ein paar Tage nach der Quassia-Behandlung feststellt, dass er zu spät behandelt hat, kann dann mit NeemAzal-T/S noch eine gewisse „kurative“ Behandlung erfolgen, um wenigstens den Sekundärbefall zu verhindern?*)

Diese Fragestellungen wurden auf drei Standorten (Altes Land, Pfalz und Süddeutschland) mit denselben Varianten bearbeitet (Versuch A). In Ahrweiler wurden noch zwei zusätzliche Varianten mit unterschiedlichen Aufwandmengen von NeemAzal-T/S aufgenommen.

Bei der Wirkung einer Kombinationsbehandlung mit NeemAzal-T/S war noch zu berücksichtigen, dass unterschieden werden musste zwischen einem Effekt der Neemkomponente (insektizid) und einem potentiellen Effekt der Formulierungshilfe, der evtl. die Wirkung des Quassiaextraktes verstärken könnte. Daher wurde in einem zweiten Versuchsdesign (Versuch B) die Kombination mit der Formulierungshilfe von NeemAzal-T/S (blank) im Vergleich mit der Kombination mit NeemAzal-T/S getestet. Außerdem wurde in diesem Zusammenhang noch die Wirkung einer Beimischung von Profital, einem Pflanzenstärkungsmittel, dem ebenfalls eine Verbesserung der Verteilung der Spritzbrühe zugeschrieben wird, geprüft.

Die Ergebnisse sind in Tab. 9 und Tab. 10 zusammengefasst. Um eine gewisse Übersichtlichkeit zu gewährleisten, werden für die Darstellung der Ergebnisse zu den einzelnen Fragestellungen im Folgenden dann nur jeweils die Varianten aus den einzelnen Versuchen dargestellt, die für diese Fragestellung relevant waren. Für die Versuche kamen zwei verschiedene Chargen von Quassia-Extrakt zum Einsatz: Charge 1 mit einem Verhältnis von Quassin zu Neoquassin von 1:2 und Charge 1 mit einem Verhältnis von 1:1.

Im Versuch A (Tab. 9) in Süddeutschland I zeigten alle Varianten bei der Bonitur des Primärbefalls einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Die Variante 2 mit Quassia-Extrakt aus dem Jahr 2001 lag tendenziell schlechter wie auch an allen anderen Standorten. Eine Rückstandsanalyse ergab einen um ca. 20 % geringeren Quassingehalt als angegeben und ein Verhältnis Quassin zu Neoquassin (Q:N) von 1 : 0,7, was die etwas geringere Wirkung erklären kann. Der Extrakt wurde in die Versuche als Referenz zu den Vorjahresversuchen aufgenommen und war dafür eingefroren worden. Er hatte wohl vor dem Einfrieren bereits etwas Wirkstoff abgebaut. Ansonsten waren beim Primärbefall keine wesentlichen Unterschiede zwischen verschiedenen Quassia-Varianten festzustellen. NeemAzal-T/S zeigte eine tendenziell schlechtere Wirkung als Quassia, was jedoch nicht statistisch abgesichert werden konnte. Beim Sekundärbefall waren alle Varianten signifikant verschieden von der Kontrolle. Die Variante mit 12 g/ha und die Kombination mit NeemAzal unterschieden sich auch signifikant von der Variante 9 (NeemAzal alleine). Im Alten Land konnte bei der Bonitur des Primärbefalls außer bei der Variante Quassia 18 g/ha nur ein tendenzieller Unterschied zur Kontrolle festgestellt werden. Beim Sekundärbefall zeigte sich dann mit Ausnahme der Varianten „NeemAzal-T/S“ und „Extrakt 2001“ ein statistisch absicherbar besseres Ergebnis als in der Kontrolle.

In der Pfalz war der Befall relativ gering, daher wiesen alle Varianten mit Ausnahme von NeemAzal-T/S alleine mit einer Aufwandmenge von 2l/ha im Vergleich zur Kontrolle eine signifikante Wirkung auf. Beim Sekundärbefall waren alle behandelten Varianten absicherbar besser als die Kontrollvariante.

In Versuch B (Tab. 10) in Süddeutschland wiesen alle Varianten bereits beim Primärbefall eine signifikante Wirkung auf. NeemAzal alleine unterschied sich jedoch signifikant von fast allen Quassia-Varianten, nur in einem Fall war aufgrund eines „Ausreißers“ in einer Wiederholung nur ein tendenzieller Unterschied statistisch abzusichern. Beim Sekundärbefall zeigte die nur mit NeemAzal behandelte Variante nur eine tendenziell bessere Wirkung. In der Pfalz war der Befallsdruck sehr gering. Alle Varianten wiesen jedoch einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle auf.

Tab. 9: Primärbefall (P) und Sekundärbefall (S) im Versuch A an den drei verschiedenen Standorten Süddeutschland, Altes Land und Pfalz: Befallene Fruchtbüschel in %. Varianten mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey-Test,  $\alpha = 0.05$ ). Die Aufwandmengen für den Quassia-Extrakt sind jeweils in g Quassin/ha angegeben. Ch1 und Ch2 = Charge 1 und 2.

Varianten	Süddeutschland I		Altes Land		Pfalz I	
	P	S	P	S	P	S
1 Kontrolle	33,0 a	37,5 a	34,5 a	65,0 a	9,5 a	8,4 a
2 Quassia-Extrakt01 6 bzw. 8 g/ha	14,5 b	8,5 bc	20,5 ab	44,5 ab	3,6 ab	2,2 b
3 Quassia-Extrakt02 Ch1 6 bzw. 8 g/ha	3,0 b	2,5 bc	24,0 ab	30,5 bc	2,2 b	0,4 b
4 Quassia-Extrakt02 Ch2 6 bzw. 8 g/ha	6,0 b	3,5 bc	24,0 ab	19,5 bc	1,6 b	0,3 b
5 Quassia-Extrakt02 Ch2 12 g/ha	4,0 b	3,0 b	21,5 ab	21,5 bc	1,6 b	0,4 b
6 Quassia-Extrakt02 Ch2 18 g/ha	2,0 b	1,0 bc	12,0 b	5,5 c	1,2 b	0,6 b
7 Quassia-Extrakt02 Ch2 6 bzw. 8 g/ha +NeemAzal 2l/ha	7,5 b	1,5 b	22,0 ab	15,5 c	0,6 b	0,5 b
8 Quassia-Extrakt02 Ch 2 6 bzw. 8 g/ha + nach 7 Tagen NeemAzal 2 l/ha	10,0 b	3,5 b	27,5 ab	29,0 bc	1,4 b	0,5 b
9 NeemAzal 2 l/ha	15,0 b	13,5 c	30,5 ab	45,0 ab	3,7 ab	2,5 b
10 NeemAzal 4 l/ha					1,0 b	0,1 b
11 NeemAzal 6 l/ha					2,6 b	1,7 b

Tab. 10: Primärbefall (P) und Sekundärbefall (S) im Versuch B an den zwei verschiedenen Standorten Süddeutschland und Pfalz: Befallene Fruchtbüschel in %. Varianten mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (Tukey-Test,  $\alpha = 0.05$ ). Die Aufwandmengen für den Quassia-Extrakt sind jeweils in g Quassin/ha angegeben

Varianten	Süddeutschland II		Pfalz II	
	P	S.	P	S
1 Kontrolle	43,0 a	41,0 a	4,18 a	4,44 a
2 Quassia Extrakt02 Ch. 1: 6/8 g/ha	10,0 c	5,0 bc	0,29 b	0,38 b
3 Quassia Extrakt02, Ch. 2: 6/8 g/ha	14,0 bc	3,5 bc	0,67 b	0,19 b
4 Quassia Extrakt02, Ch. 2: 6/8 g/ha + Profital 1 l/ha Stammlösung	9,0 c	4,0 c	0,51 b	0,3 b
5 Quassia Extrakt02, Ch. 2: 12 g/ha	8,5 c	0,5 c	0,33 b	0,14 b
6 Quassia Extrakt02 Ch. 2: 18 g/ha	5,5 c	3,5 c	0,11 b	0,17 b
7 Quassia Extrakt02: 6/8 g/ha + 2 l/ha NeemAzal-T/S	10,5 c	3,0 c	0,21 b	0,28 b
8 Quassia Extrakt02: 6/8 g/ha + blank-Formulierung NeemAzal 2l/ha	5,5 c	3,5 c	0,33 b	0,1 b
9 NeemAzal 2 l/ha	38,5 b	24,0 ab	0,38 b	0,53 b

**Dosis-Wirkungs-Beziehung für den Extrakt bezogen auf den Quassingehalt**

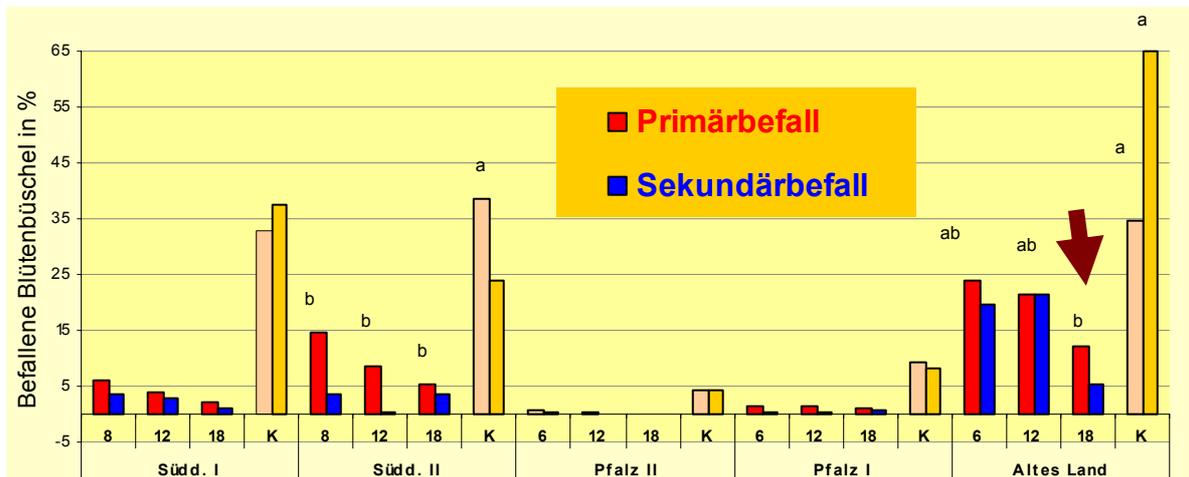


Abb. 15: Primär- und Sekundärbefall (in Prozent) bei verschieden hoher Aufwandmenge (6-8-12-18 g Quassin/ha) an den einzelnen Standorten im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (K).

In Abb. 15 sind die Ergebnisse des Vergleichs verschieden hoher Aufwandmengen an den verschiedenen Standorten dargestellt. Trotz der ungünstigen Witterungsbedingungen wurde sowohl in Süddeutschland als auch in der Pfalz bei allen Aufwandmengen eine sehr gute Wirkung beobachtet. Bei Versuch II im süddeutschen Raum waren zwar tendenzielle Unterschiede beim Primärbefall zu beobachten, alle drei Varianten zeigten jedoch eine signifikante Befallsreduzierung im Vergleich zur Kontrolle.

Bei gleichem Befall in der Kontrolle waren im Versuch I in Süddeutschland keine Unterschiede zwischen den einzelnen Aufwandmengen festzustellen. In der Pfalz zeigten sich bei relativ geringem Befall in der Kontrolle ebenfalls keine Unterschiede zwischen den einzelnen Aufwandmengen. Im Alten Land dagegen wies die Variante mit 18 g/ha beim Primärbefall als einzige eine signifikante Wirkung im Vergleich zur Kontrolle auf. Obwohl der Sekundärbefall in allen Varianten im Vergleich zur Kontrolle stark reduziert wurde, war die Variante 18 g/ha immer noch deutlich besser. Zwischen 6 g/ha und 12 g/ha waren keine Unterschiede zu beobachten.

**Erste Einschätzung des Effektes von Neoquassin durch Vergleich von Extrakten mit unterschiedlichem Verhältnis Quassin/Neoquassin bei gleichem Quassingehalt**

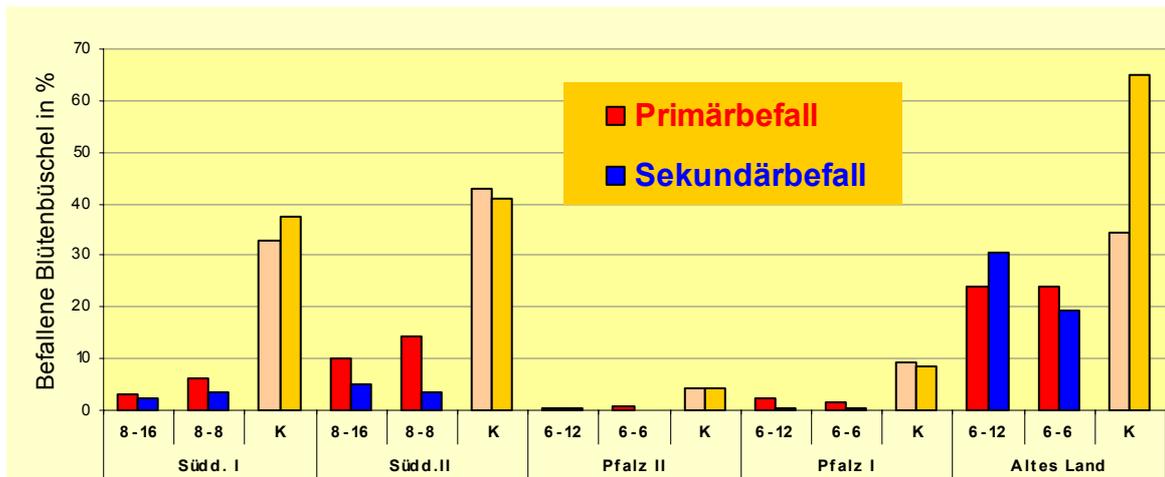


Abb. 16: Vergleich von Quassiaextrakten mit dem Verhältnis Quassin:Neoquassin 1:2 und 1:1 in den verschiedenen Versuchen (es ist jeweils der Quassingehalt – Neoquassingehalt in g/ha angegeben; K = Kontrolle)

Beim Vergleich der beiden Extrakte mit unterschiedlichem Neoquassingehalt war auf keinem der Standorte ein Unterschied in der Wirkung festzustellen (Abb. 16).

**Ist eine Kombination der Quassia-Behandlung mit NeemAzal-T/S sinnvoll? Kann der Termin für diese Behandlung auch noch eine Woche später liegen?**

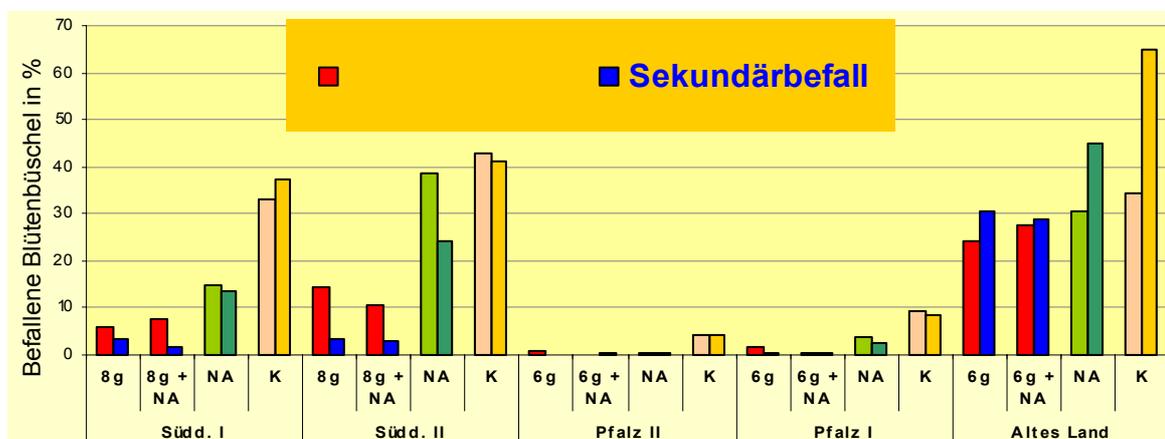


Abb. 17: Wirkung der Kombination von Quassia (Quassin in g/ha) und NeemAzal-T/S (NA) im Vergleich zur Quassia-Behandlung und zu NeemAzal-T/S an den einzelnen Standorten bei gleichzeitiger Anwendung

Die Zugabe von NeemAzal-T/S zu Quassia mit relativ niedriger Aufwandmenge (8 g/ha) zeigte weder beim Primär- noch beim Sekundärbefall eine sichtbare Wirkung (Abb. 17).

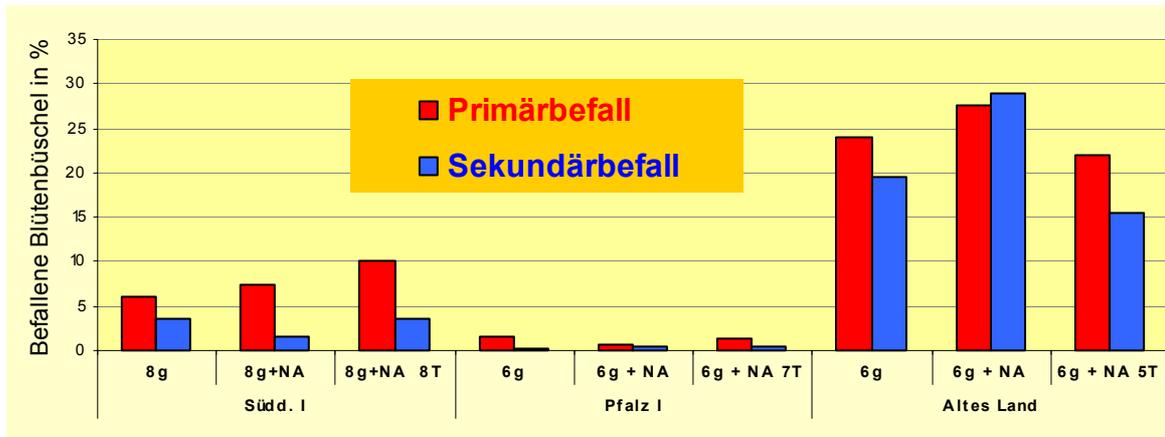


Abb. 18: Wirkung der Kombination von Quassia (Quassin in g/ha) und NeemAzal-T/S (NA) im Vergleich zur Quassia-Behandlung an den einzelnen Standorten bei Anwendung von Neem-Azal-T/S gleichzeitig mit Quassia und 7 bis 8 Tage nach der Quassia-Behandlung

Auch die zeitversetzte Anwendung von NeemAzal-T/S zeigte kaum einen Effekt (Abb. 18). Tendenziell war sie im Alten Land eher besser als die zeitgleiche Behandlung.

### Wirkung von Formulierungshilfen

Im Versuch II in Süddeutschland konnte nur ein sehr geringer Effekt der Formulierungshilfe auf die Wirkung des Quassiaextraktes festgestellt werden. In der Pfalz waren aufgrund des geringen Befalls keine Unterschiede festzustellen (Abb. 19)..

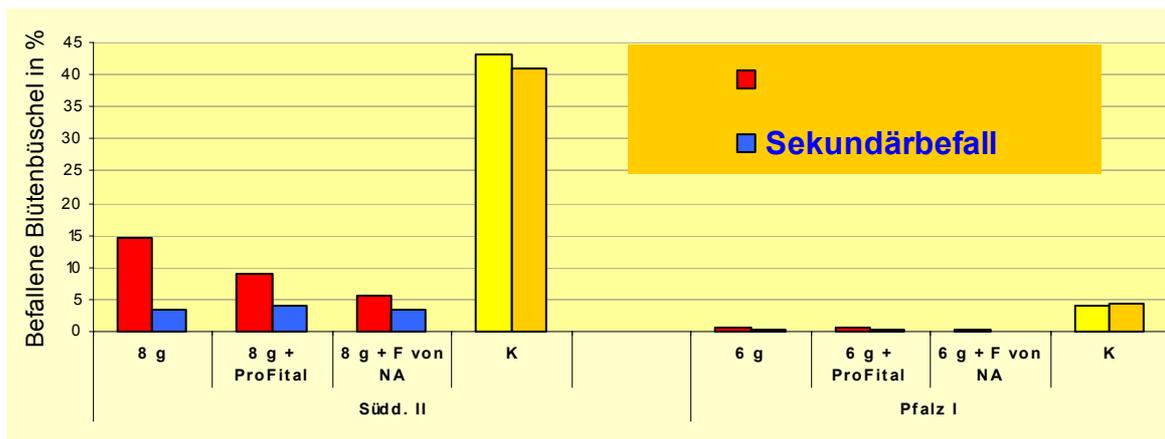


Abb. 19: Vergleich der Wirkung von Quassiaextrakt mit einer Aufwandmenge von 6 bzw. 8 g Quassin/ha mit und ohne Zusatz von Profital bzw. der Formulierungshilfe von NeemAzal-T/S.

### Versuche zur Regenbeständigkeit von Quassiaextrakt

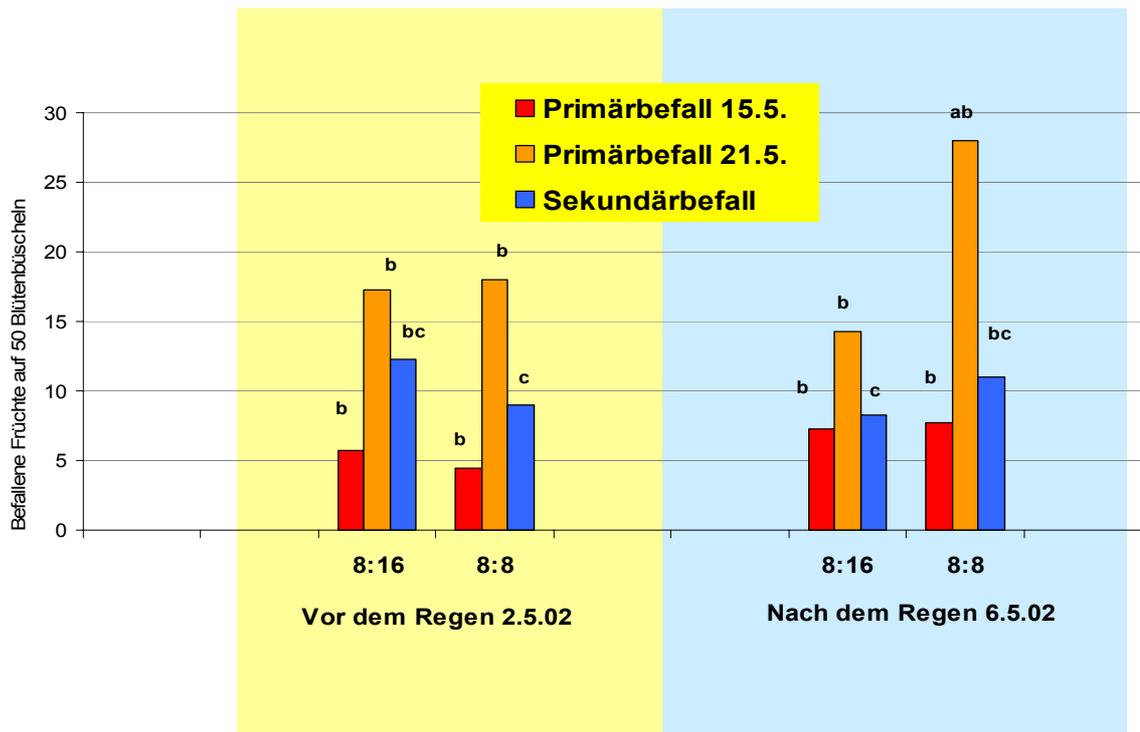


Abb. 20: Vergleich von Behandlungen vor und nach einer starken Regenperiode im Bodenseegebiet. Die erste Zahl der Legende zeigt den Quassingehalt des verwendeten Extraktes in g pro ha, die zweite den Neoquassingehalt.

Bei einem ad hoc anlässlich einer sich bietenden Gelegenheit durchgeführten Versuch in Süddeutschland, bei dem Behandlungen vor und nach den starken Niederschlägen verglichen wurden, zeigten sich so gut wie keine Unterschiede zwischen den Varianten. Bei dem Extrakt mit dem Verhältnis Quassin-Neoquassin 1:1 war die Variante nach dem Regen tendenziell eher etwas schlechter (Abb. 20).

### Diskussion der Ergebnisse aus dem Versuchsjahr 2002

Die Ergebnisse zur Dosis-Wirkungs-Beziehung waren etwas überraschend. Trotz der ungünstigen Witterungsbedingungen zeigten bereits niedrige Aufwandmengen von 6 bzw. 8 g/ha Quassin eine gute Wirkung, die sich an den meisten Standorten nicht wesentlich steigern ließ. Bei dem Versuch im Alten Land ist zu berücksichtigen, dass die Auswertung relativ früh erfolgte, u.U. bevor alle Larven geschlüpft waren. Darauf weisen auch die Werte im Sekundärbefall der Kontrolle hin, die im Vergleich zum Primärbefall höher anstatt vergleichbar sind, wie das bei den anderen Versuchen meist der Fall ist. Zwischen der Aufwandmenge von 6 und 12 g/ha gab es dann kaum Unterschiede, eine bessere Wirkung stellte sich erst bei 18 g/ha ein. Im Vorversuch von 2001 gab es dagegen Differenzen zwischen 6 und 12 g, nicht jedoch zwischen 12 und 18 g/ha (KIENZLE et al., 2002). Diese Ergebnisse wiesen zwar darauf hin, dass eine Reduzierung der Aufwandmenge grundsätzlich möglich sein müsste, waren jedoch zu uneinheitlich für eine eindeutige Empfehlung für die Praxis. Demzufolge sollte diese Versuchsreihe im Folgejahr nochmals wiederholt werden.

Eine erste Einschätzung des Effektes von Neoquassin durch Vergleich von Extrakten mit unterschiedlichem Verhältnis Quassin/Neoquassin bei gleichem Quassingehalt konnte aufgrund der Ergebnisse nicht erfolgen. Der Vergleich wurde mit der niedrigsten Aufwandmenge von Quassin (6 bzw. 8 g/ha) durchgeführt.

Dabei war man aufgrund der Ergebnisse von 2001 davon ausgegangen, dass diese Aufwandmenge nur eine relativ geringe Wirkung haben würde und Effekte einer höheren Menge von Wirkstoff daher sichtbar würden. Da in allen Versuchen mit Ausnahme des Standortes „Altes Land“ auch durch höhere Aufwandmengen an Quassin keine Wirkungssteigerung erreicht wurde, sind die Versuche nicht aussagefähig. Im Alten Land wurde zwar eine bessere Wirkung bei höherer Aufwandmenge erreicht, ein Effekt wurde aber erst bei 18 g Quassin/ha sichtbar. Dies entspricht einer Gesamtaufwandmenge von Quassinoiden von 36 g/ha (18 g Quassin und 18 g Neoquassin). Mit 24 g Quassinoiden (12 g Quassin, Extrakt 1:1) wurde kein besserer Effekt festgestellt. Beim Versuch wurde jedoch nur mit Aufwandmengen von jeweils 12 g/ha Quassinoiden (6 g/ha Quassin + 6 g/ha Neoquassin) bzw. 18 g/ha Quassinoiden (6 g/ha Quassin + 12 g/ha Neoquassin) gearbeitet. Demzufolge war davon auszugehen, dass auch bei einem vergleichbaren Effekt von Quassin und Neoquassin keine Wirkungssteigerung zu erwarten gewesen wäre.

Bei der Kombination von NeemAzal-T/S mit Quassia ergab sich keine bessere Wirkung auf den Sekundärbefall. Dies erklärt sich durch die an anderer Stelle beschriebene Beobachtung (s. Laborversuche) der Wirkung von Quassia auf ältere Larven. Dies bedeutet auch, dass eine zu spät (nach Schlupf der Larven) ausgebrachte Quassia-Behandlung zwar den Primärbefall nicht mehr verhindern kann, jedoch noch eine erhebliche Wirkung auf den Sekundärbefall hat. Dieser Effekt wurde auch bei hier nicht dargestellten Feldversuchen festgestellt, bei denen bei zu später Quassia-Behandlung getestet wurde, ob mit NeemAzal-T/S der Sekundärbefall noch verhindert werden kann. Nach diesen Versuchen ist also eine Kombination von Quassia und NeemAzal-T/S nicht notwendig, um den Sekundärbefall zu verhindern. Gelegentlich zeigten sich jedoch uneinheitlich Effekte auch auf den Primärbefall. Dies könnte eventuell darauf zurückgeführt werden, dass die Eier der Sägewespe während des Quellens NeemAzal-T/S aufnehmen und so eine Wirkung auf die schlüpfenden Larven zustande kommt. Daher sollten im Folgejahr erneut Terminversuche mit NeemAzal-T/S (zur oder kurz nach der Eiablage im Vergleich zum Termin „Augen sichtbar“) erfolgen.

Die Zugabe von Formulierungshilfen brachte nur eine unwesentliche Verbesserung der Wirkung. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass auch diese Versuche mit niedriger Aufwandmenge an Quassin (6 bzw. 8 g/ha) durchgeführt wurden, um einen relativ geringen und „steigerungsfähigen“ Wirkungsgrad zu erzielen. Durch die gute Wirkung der geringen Aufwandmenge sind auch diese Versuche begrenzt aussagefähig.

Eine wichtige zusätzliche Aussage brachte der dritte Versuch in Süddeutschland zur Ausbringung vor und nach dem Regen. Es konnte deutlich gezeigt werden, dass selbst starke Niederschläge keinen Einfluß auf die Wirkung der Applikation haben. Die gute Wirkung der Applikationen in Ahrweiler, die ebenfalls direkt vor dem Regen erfolgten, bestätigen dieses Ergebnis. Dies könnte entweder darauf zurückzuführen sein, dass Quassia relativ regenbeständig ist, oder aber darauf, dass vom Blütenboden relativ wenig Belag abgewaschen wird. Bei einem begleitenden Tastversuch im Labor zeigte Quassia-extrakt eine hohe Beständigkeit gegen Abwaschung.

### **Ergebnisse aus dem Versuchsjahr 2003**

Aufbauend auf die Ergebnisse im Vorjahr in Freiland und Labor sollten folgende Fragestellungen geklärt werden:

- Dosis-Wirkungs-Beziehung für den Extrakt bezogen auf den Quassingehalt
- Terminierung und Anzahl der Behandlungen: Wirkung einer Behandlung in die offene Blüte vor und nach der Eiablage bzw. zum Termin „Augen der Larve sichtbar“, Wirkung einer Behandlung bei geschlossener Blüte
- Vergleich der Wirkung von Quassin und Neoquassin als weitgehend reine Substanz im Feldversuch

- Einsatz von NeemAzal-T/S gegen Sägewespeneier zu Beginn der Eientwicklung
- Mischbarkeit von Quassia mit Mycosin und Netzschwefel

Aufgrund der Komplexität dieser Fragestellungen wurde in diesem Versuchsjahr in jeder Region im Hinblick auf die verfügbaren geeigneten Anlagen ein eigener Versuchsaufbau gewählt.

Die Ergebnisse der Versuche an den einzelnen Standorten werden daher einzeln dargestellt und diskutiert.

### Standort Süddeutschland

Auch im Jahr 2003 wurden diese Versuche aufgrund des starken Blütenfrosts in den anderen Regionen im Bodenseegebiet durchgeführt.

Zwei Versuche zur Terminierung der Behandlungen mit jeweils 7 Varianten wurden zwar durchgeführt, blieben aber ohne auswertbare Ergebnisse, da nur ganz zu Anfang etwas Befall auftrat und bei der ersten Auswertung der Befall in der Kontrolle bei ca. 1 % lag. Sie sind daher hier nicht dargestellt. Ein Versuch mit 12 Varianten musste ebenfalls abgebrochen werden, da der Betriebsleiter den Versuch aus Versehen mit Quassia behandelte. Als Ersatz wurde kurzfristig ein Versuch in einer anderen Anlage angelegt. Hier konnten aber keine Varianten zur Terminierung mehr aufgenommen werden. Die Versuche beschränkten sich daher auf den Vergleich der Reinsubstanzen Quassin und Neoquassin, der Überprüfung der Dosis-Wirkungs-Beziehung und der Mischbarkeit mit Mycosin. Um aussagefähige Ergebnisse zu erhalten, wurde die Aufwandmenge an Quassin sehr gering gehalten (4 g/ha). Trotz des starken Befalls in der Kontrolle zeigte bereits diese geringe Aufwandmenge eine sehr gute Wirkung. Auch Neoquassin wirkte mit dieser Aufwandmenge bereits sehr gut (Abb. 21). Der Sekundärbefall war auch in der Kontrolle im Vergleich zum Primärbefall reduziert, da ein großer Teil der Früchte nach der Blüte abfiel. Die Variante mit der Beimischung von Mycosin zeigte keine auffällige Minderwirkung.

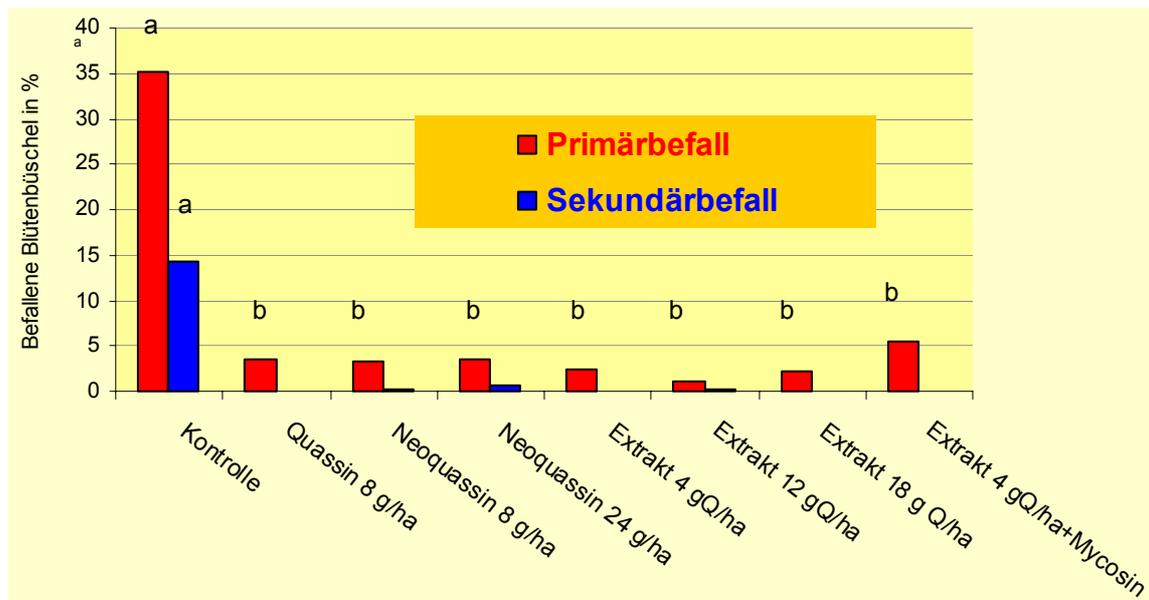


Abb. 21: Vergleich verschiedener Aufwandmengen an Quassiaextrakt und Reinsubstanzen (Quassin, Neoquassin) in Süddeutschland

**Standort Pfalz**

Von Ahrweiler sollten 2003 eigentlich auch Fragestellungen zur optimalen Wasseraufwandmenge und Spritztechnik bearbeitet werden. Durch den Blütenfrost fielen jedoch sämtliche geeigneten Anlagen für die Versuche aus, so dass auf höher gelegene Anlagen zurückgegriffen wurde, die aus technischen Gründen nur mit der Motor-Rückenspritze behandelt werden konnten.

Dort wurde ein Versuch zur Terminierung und ein Versuch zum Vergleich verschiedener Aufwandmengen und Reinsubstanzen durchgeführt. Der zweite Versuch brachte aufgrund sehr niedrigen Befalls in der Kontrolle keine auswertbaren Ergebnisse. Der Verlauf von Eiablage, „Eireifung“ und Apfelblüte ist mit den entsprechenden Spritzterminen in Abb. 22 dargestellt.

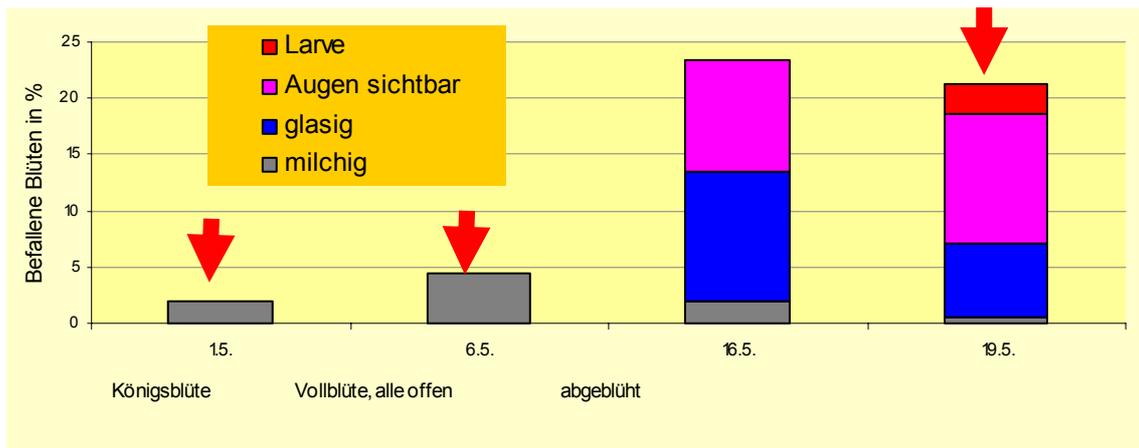


Abb. 22: Verlauf der Eiablage und „Eireifung“ im Terminversuch am Standort Pfalz. Die roten Pfeile markieren die Termine der verschiedenen Behandlungen.

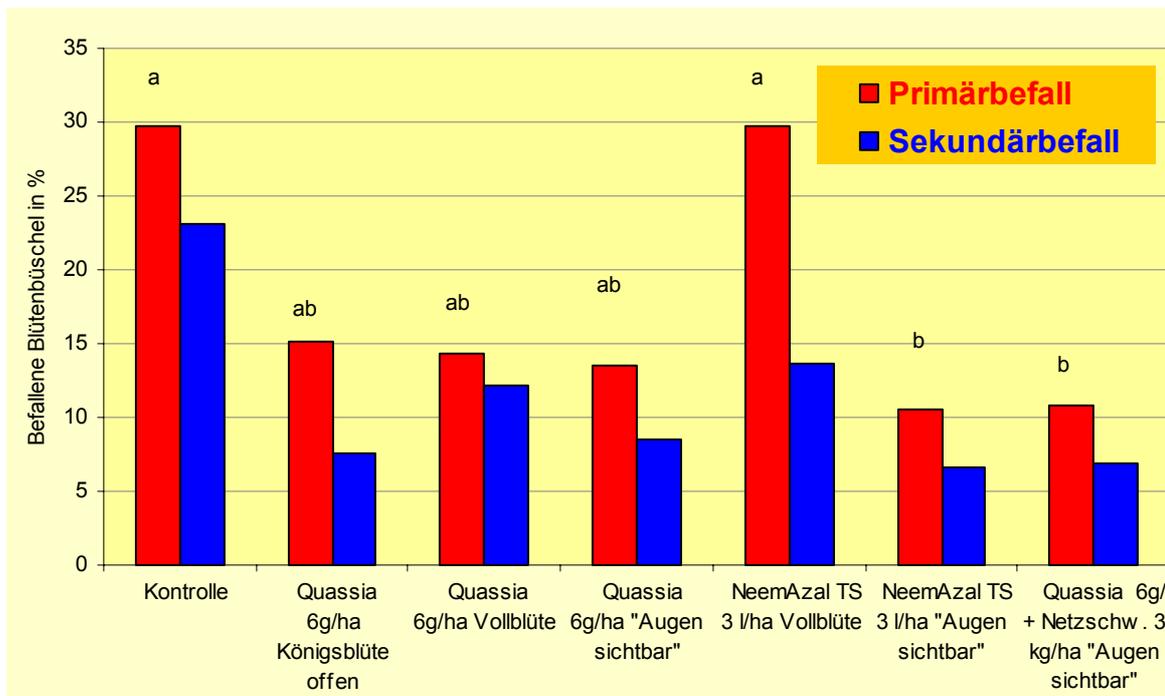


Abb. 23: Vergleich verschiedener Spritztermine von Quassia und NeemAzal-T/S am Standort Pfalz

Da die Behandlung zum Stadium „Augen sichtbar“ unter sehr ungünstigen Witterungsbedingungen erfolgte (Regenpause, vor Behandlung 22 mm, nach Behandlung 16 mm Niederschlag), sind die verschiedenen Varianten nur bedingt vergleichbar. Der Befall in der Versuchsanlage war auch sehr uneinheitlich, was zu großen Streuungen führte.

Die Ergebnisse waren daher nur bedingt statistisch absicherbar, beim Sekundärbefall gab es gar keine statistisch gesicherten Unterschiede. Grundsätzlich sind keine Unterschiede zwischen den drei Terminen „Königsblüte offen“, „Vollblüte“ und „Augen sichtbar“ festzustellen. Allerdings zeigt auch die Variante „NeemAzal-T/S“ zum Termin „Augen sichtbar“ Ergebnisse, die nicht den vorhergehenden Versuchen und den Praxiserfahrungen entsprechen. Eine gesicherte Aussage aufgrund dieser Versuchsergebnisse ist daher nicht möglich.

### Standort Altes Land

Im Alten Land wurden die Versuche zur Terminierung in einer Anlage mit Elstar mit viel zweijährigem Holz, das späte Blüher aufwies, durchgeführt. Die Blütenbüschel mit offenen und geschlossenen Blüten für die einzelnen Termine wurden je nach Stadium markiert und später nach der Markierung ausgewertet. Der Befall war sehr uneinheitlich, daher sind in Abb. 24 die einzelnen Wiederholungen separat dargestellt, um wenigstens eine gewisse Aussage zu ermöglichen. Da in diesem Versuch ein massiver Fruchtfall stattfand, konnte der Sekundärbefall nicht ausgewertet werden. Alle Behandlungen bis auf Quassin (Var. 8) zeigten eine signifikante Wirkung.

#### Varianten

(Aufwandmenge für Extrakt in g Quassin/ha angegeben)

- 1 Kontrolle
- 2 6 g Termin Königsblüte
- 3 6 g Termin einj. Blüten offen
- 4 6 g Termin 2+3
- 5 6 g Termin Ballonstadium
- 6 6 g Termin „Augen sichtbar“
- 7 4 g Termin „Augen sichtbar“
- 8 8 g Quassin Reinsubstanz
- 9 8 g Neoquassin Reinsubstanz

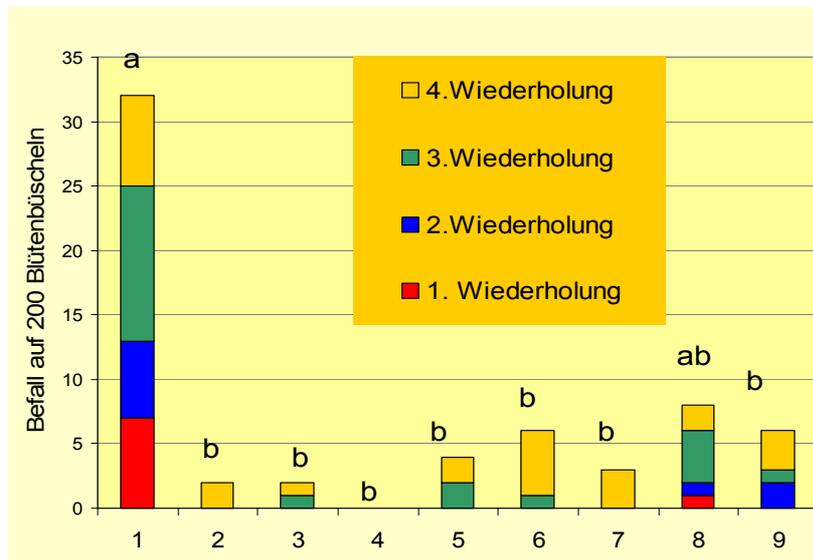


Abb. 24: Primärbefall beim Versuch zur Terminierung und zur Wirkung der Reinsubstanzen am Standort Altes Land

### **Diskussion der Ergebnisse aus dem Versuchsjahr 2003**

Aus den Ergebnissen im Freiland 2003 konnten leider keine eindeutigen Aussagen abgeleitet werden. Aufgrund der sehr guten Wirkung bereits sehr niedriger Aufwandmengen in Süddeutschland und im Alten Land konnten weder zur Dosis-Wirkungs-Beziehung noch zum Vergleich der beiden Reinsubstanzen Quassin und Neoquassin definitive Aussagen gemacht werden. Klar ist jedoch, dass auch Neoquassin im Freiland eine Wirkung zeigt. Die Versuche zur Terminierung waren insgesamt aufgrund diverser Probleme bei der Versuchsanstellung wenig aussagekräftig. Die Ergebnisse weisen jedoch darauf hin, dass eine Behandlung auch schon vor der Eiablage erfolgen kann ohne dass eine Wirkungsminderung auftritt. Sie gaben jedoch keine Hinweise dafür, dass bei geschlossener Blüte – wie eigentlich zu erwarten – keine Wirkung der Behandlung zu sehen ist. Diese Ergebnisse können aber auch auf die starke Streuung zurückzuführen sein. Bei dem Terminversuch im Alten Land wäre es auch denkbar, dass an den markierten Blütenbüscheln, die sich im Ballonstadium befanden, keine Eiablage stattfand. Dies wurde in den Bonituren nicht eindeutig belegt. Bei den Terminversuchen ist zu berücksichtigen, dass die ersten Behandlungen bereits zu einem Zeitpunkt erfolgen müssen, an dem der Befallsdruck und der Befallsverlauf nur durch die ersten Fallenfänge der Adulten abgeschätzt werden kann. In Süddeutschland wurden z.B. an zwei Standorten anfangs adulte Sägewespen an der Weißfalle beobachtet, der Flug setzte sich jedoch dann nur schwach fort. Die Ausfälle durch Blütenfrost waren ein weiterer Faktor, der die Versuche stark behinderte.

#### **3.1.1.5 Auswertung der Praxiserfahrungen im Jahr 2003**

Vor allem im Bodenseegebiet und in Südbaden war die Wirkung von Quassia mit 12 g/ha Aufwandmenge, oft mit zwei Behandlungen, in diesem Jahr in vielen Betrieben nicht zufriedenstellend. Fehler in der Terminierung konnten aufgrund genauer Bonituren der Beratung und aufgrund des Temperatursummenmodells weitgehend ausgeschlossen werden. Nach einer intensiven Diskussion mit Praxis und Beratung und einer Praktikerbefragung mit Fragebogen am Bodensee zeichnen sich folgende Faktoren ab:

- In diesen Regionen war 2003 die Vegetationsentwicklung im Vergleich zur „Eireife“ der Sägewespe sehr stark fortgeschritten. Die Behandlung erfolgte daher, als die Blüte bereits vorüber war. Durch die hohen Temperaturen und die geringe Luftfeuchtigkeit hatte sich auf vielen Blüten ein relativ undurchdringliches Geflecht aus vertrockneten Staubgefäßen gebildet, das verhindert haben könnte, dass die Spritzbrühe auf den Blütenboden gelangte. Die Probleme waren dort am größten, wo der Spritztermin im Vergleich zur Blüte sehr spät lag, d.h. die Blüten schon sehr stark abgeblüht waren.
- Die Spritztechnik scheint eine Rolle zu spielen, ein einheitliches Bild bezüglich der verwendeten Wassermenge zeigte sich aber nicht. Evtl. könnten Betriebe, die frühmorgens bei Tau behandeln, eine bessere Wirkung erzielt haben.
- Aufgrund der großen Trockenheit war in vielen Blüten der Blütenboden fast „ausgetrocknet“. Bei den für die Laborversuchen gesammelten Blüten wurde beobachtet, dass etwa 30 % der Sägewespeneier nicht wie üblich aufgequollen waren und den Blütenboden durchstossen hatten. Der Blütenboden blieb unversehrt und die Larven wanderten beim Schlupf sofort in die Frucht ein, ohne an die Oberfläche zu kommen. Dadurch konnten sie natürlich auch kein Quassia aufnehmen. Bonituren bei befallenen Früchten von einem Betrieb in Baden ergaben, dass auch hier ca. 30 % der Früchte u.U. dieses Symptom aufwiesen. Die beobachtete geringe Wirkung von Quassia kann also nicht nur mit einem solchen Effekt erklärt werden.

### 3.1.1.6 Evaluierung eines temperatursummengesteuerten Erstmodells von GRAF auf Tauglichkeit zum Einsatz in der Beratung bei der Bestimmung des optimalen Spritztermins

Bei der Berechnung der Schlupftermine ergeben sich an den meisten Standorten gute Übereinstimmungen mit dem Termin, der nach dem ersten Fallenfang berechnet wurde. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Fallen nicht immer so früh aufgehängt wurden, dass wirklich die erste Sägewespe erfasst wurde. Es ist davon auszugehen, dass zu diesem Termin Sägewespen erstmals in höherer Zahl (noch kein Flughöhepunkt aber erstes Auftreten) in der Anlage vorhanden waren. Zu berücksichtigen ist auch, dass die Baumblüte die Fallenfänge beeinträchtigt, d.h. bei Vorhandensein vieler weißer geöffneter Blüten ist die Falle relativ wenig attraktiv. Aufgrund der Ergebnisse wird daher für die Praxis davon ausgegangen, dass eine Berechnung ab dem Zeitpunkt erfolgen sollte, wo zum ersten Mal Sägewespen in der Region beobachtet wurden, warmes Wetter herrscht sowie erste offene Blüten eine Eiablage ermöglichen und nicht ab dem ersten Flughöhepunkt bei den Fallenfängen. Die Ergebnisse für das Bodenseegebiet im Jahr 2002 fallen aus dem Rahmen, lassen sich aber nicht nur durch Probleme mit der Weißfalle erklären. Für einen Schlupf am 7./8.5.02 wie beobachtet hätte die Eiablage nach Modellberechnung am 3.4.02 erfolgen müssen. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Bäume noch nicht einmal ansatzweise in der Blüte.

Tab. 11: Beobachteter und berechneter Schlupftermin der Sägewespenlarven in den unterschiedlichen Regionen ausgehend vom ersten nennenswerten Flug und vom Fang der ersten Sägewespen.

Standort	Spritz-termin	Schlupfbeginn			Lage Wetterstation
		beobachtet	berechnet nach Termin erste Sägewespen auf der Falle	berechnet nach Fallenfang 1. nennenswerter Flug	
Pfalz 2002	2.5.02	6./7.5.02	1.5.02	6./7.5.02	vor Ort
Bodensee I	2.5.02	ab 7.5.02	12.5.02	16.5.02	ca. 5 km
Bodensee III	2./6.5.02	ab 8.5.02	10.5.02	13.5.02	ca. 10 km
Jork 2002	17.5.02	17.5.02	17.5.02	19.05.02	ca. 5 km
Lindau 2003	4.5.03	4.5.03	5.5.03	7.5.03	ca. 5 km
Pfalz 2003	19.5.03	19.5.03	19.5.03	28.5.03	ca. 30 km
Jork 2003	2./8./12.5.03	12.5.03	11.05.03	14.05.03	ca. 2 km

Weitere Daten müssen daher im Folgeprojekt erhoben werden, bis klar definiert werden kann, ob diese Berechnungen eine gewisse Sicherheit geben. Ansatzweise werden sie jedoch bereits jetzt in der Beratung als Hilfe verwendet.

### **3.1.1.7 Freilandversuche zur Langzeitwirkung von NeemAzal-T/S**

Festgestellt werden sollte, ob bei der Kombination der Quassia-Behandlung mit einer Behandlung mit NeemAzal-T/S die Mortalität der Sägewespenlarven nach Schädigung der zweiten bzw. dritten Frucht erhöht wird, so dass es auf Dauer zu einer zusätzlichen Reduktion der Population kommt. Hierzu wurden verschiedene Versuche durchgeführt, die aufgrund hoher, so nicht erwarteter Larvenmortalitäten durch Quassia nicht alle aussagefähig waren. Erste Ergebnisse liegen aber vor. Zusätzlich sollte noch der Verlauf der Wintermortalität geprüft werden. Hier kam es aufgrund des plötzlichen Temperaturanstiegs Anfang Juni zu hoher Larvenmortalität, so dass dieser Versuch 2003 nicht ausgewertet werden konnte. Die Kopfkapseln der abgestorbenen Larven wurden jedoch vermessen. Diese Ergebnisse wiesen darauf hin, dass durch die Neem-Behandlung zumindest eine Störung der Entwicklung der Larven erreicht wurde.

Im Jahr 2003 konnten aufgrund der erstaunlich guten Wirkung von Quassia mit 4 g/ha Quassin in Süddeutschland nur sehr wenige Larven gesammelt werden. Die Larven aus einem noch angelegten Tastversuch sind im Moment in der Winterruhe und können evtl. ansatzweise Aussagen ermöglichen. Sie können aber frühestens Anfang Mai 2004 ausgewertet werden.

### **3.1.1.8 Diskussion Regulierung der Apfelsägewespe**

Bereits im ersten Versuchsjahr stellte sich heraus, dass die den Beratungsempfehlungen zugrundeliegende Annahme, eine direkte Kontamination der Eier der Apfelsägewespe in einem bestimmten Stadium sei für die Wirkung von entscheidender Bedeutung, nicht zutrifft. Wie bei den Laborversuchen im zweiten Jahr dann zweifelsfrei nachgewiesen werden konnte, ist dagegen die Wirkung auf die Larven wichtig. Die Beratungsempfehlung, zum Stadium „Augen sichtbar“, d.h. kurz vor dem Schlupf der ersten Larven, zu behandeln, ergab auch aus diesem Grund immer gute Ergebnisse. Berücksichtigt werden muss jedoch die Anzahl der Behandlungen. Bisher wurde davon ausgegangen, dass bei verschiedenen Eiablageterminen die Behandlung wiederholt werden musste, wenn die Eier des zweiten Eiablagetermins in das Stadium „Augen sichtbar“ kamen. Nach den jetzt vorliegenden Ergebnissen aus Freiland und Labor kann davon ausgegangen werden, dass dies nicht notwendig ist. Als entscheidendes Kriterium wird dagegen angenommen, dass Quassia-Extrakt auf der Blüte sein muss, wenn die Larve schlüpft. Die Frage, ob die Blüte offen sein muss, damit ein gegen die schlüpfende Larve wirksamer Belag aufgebracht werden kann, ist noch nicht definitiv beantwortet. Erste Ergebnisse aus dem Freiland bestätigen dies nicht unbedingt, waren aber nur bedingt aussagefähig. Ob und in welchem Umfang überhaupt Spritzmittel auf den Blütenboden gelangt, muss in weiterführenden Untersuchungen erst noch geklärt werden.

Nach dem Schlupf bohrt sich die Larve sofort vom oberen Bereich des Blütenbodens (innerhalb des Kronenrings) in die Blüte ein und miniert spiralförmig unter der äußeren Fruchthaut entlang. Allerdings bestätigen eigene Beobachtungen die Untersuchungen von DICKER (1953), dass einige Larven (ca. 30 % in unseren Beobachtungen) über das Kelchblatt auswanderten und sich von der Seitenwand aus einbohrten. Dies würde bedeuten, dass ein Teil der Larven auch Spritzbrühe aufnimmt, wenn bei geschlossener Blüte behandelt wurde.

Bei einer nicht allzu hohen Population könnte daher dieser Effekt ausreichen, um auch bei einer Eiablage in Blüten, die noch geschlossen waren als die Behandlung erfolgte, eine ausreichende Wirkung zu erzielen.

Zu berücksichtigen ist ferner, dass Quassia sowohl insektizide als auch repellente Wirkung aufweist (DAIDO et al. 1993). Das Überleben der Sägewespenlarven, die sehr leicht austrocknen, ist ausserhalb der Frucht nur sehr kurze Zeit möglich. Ein starker Repellenteffekt des Spritzmittels könnte ein Abwandern der Sägewespenlarven bewirken, wobei die unterschiedlichen Umweltbedingungen dann die stark variierenden Ergebnisse im Freiland mit verschiedenen Aufwandmengen verursacht haben könnten.

Dagegen spricht allerdings, dass 2003 am Bodensee sehr heisse und trockene Witterung herrschte, die für die Sägewespe sehr ungünstig war, so dass die Probleme in der Praxis dann nicht hätten entstehen dürfen.

Es wird daher vermutlich noch einiger Freilandversuche bedürfen, um diese Fragen definitiv zu klären. Momentan kann der Praxis bereits empfohlen werden, dass bei weitgehend offener Blüte vor dem Beginn des Larvenschlupfes nur eine Behandlung notwendig ist.

Nach den Ergebnissen kann zwar davon ausgegangen werden, dass bereits sehr geringe Aufwandmengen eine gute Wirkung haben. Dennoch werden aber aufgrund der uneinheitlichen Ergebnisse aus der Praxis momentan nach wie vor hohe Aufwandmengen empfohlen.

Nach den Ergebnissen zur Wirkung von Quassin und Neoquassin auf ältere Sägewespenlarven müssen bei Erstellung von Qualitätskriterien für Quassiaholz beide Substanzen getrennt berücksichtigt werden. Nach den Ergebnissen der Versuche mit L1-Larven wäre es denkbar gewesen, Quassin und Neoquassin zusammenzufassen und einen Faktor für die geringere Wirkung von Neoquassin einzuarbeiten (z.B. 1 Einheit Quassin = 1,5 Einheiten Neoquassin, angegeben werden Quassinoide). Da die Wirkung von Neoquassin bei älteren Larven aber auch bei höherer Aufwandmenge nicht mehr gesteigert werden konnte, ist dies nicht möglich.

Bei einem stark Neoquassin-haltigen Extrakt muss davon ausgegangen werden, dass der Effekt auf den Sekundärbefall, der in zahlreichen Versuchen festgestellt wurde, nicht oder nur ansatzweise vorhanden ist.

### **3.1.2 Nebenwirkungen der Strategie gegen die Sägewespe auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge**

#### **3.1.2.1 Versuche mit *Aphelinus mali* und *Aphidius rhopalosiphi***

Für die in der Studie geprüften Reinstoffe Quassin und Neoquassin und den Quassia-Extrakt mit bekannter Zusammensetzung ergaben sich für *Aphelinus mali* keine gravierenden Nebenwirkungen im Laborversuch (Abb. 25 und Abb. 26). Eine kontakttoxische Wirkung der Reinstoffe konnte nicht festgestellt werden. Die Mortalität nach oraler Verabreichung von Quassin und dem Extrakt war bei *A. mali* sehr ähnlich und überschritt nie 30 % (korrigierte Mortalität nach Schneider-Orelli). Die oraltoxische Wirkung war gering, wenn man bedenkt, dass die Tiere über den Versuchszeitraum von 48 h regelmäßig den Wirkstoff aufnahmen. Die hohen Überlebensraten belegen, dass die Insekten Nährlösung aufnahmen, da sie nach Ergebnissen einer Voruntersuchung nach 24 h sterben, wenn sie keine Nährlösung zu sich nehmen. Selbst bei dreifacher Konzentration der Spritzbrühe (Berechnung auf eine Wassermenge von 200 L/ha) konnten für 18g Quassin/ha in einem Vortest zur oralen Toxizität nur 60% Mortalität beobachtet werden. Insgesamt erwies sich das Testsystem als sehr gut geeignet für *Aphelinus mali*, da die Mortalität in den Kontrollvarianten sehr gering war (maximal 6,7 %).

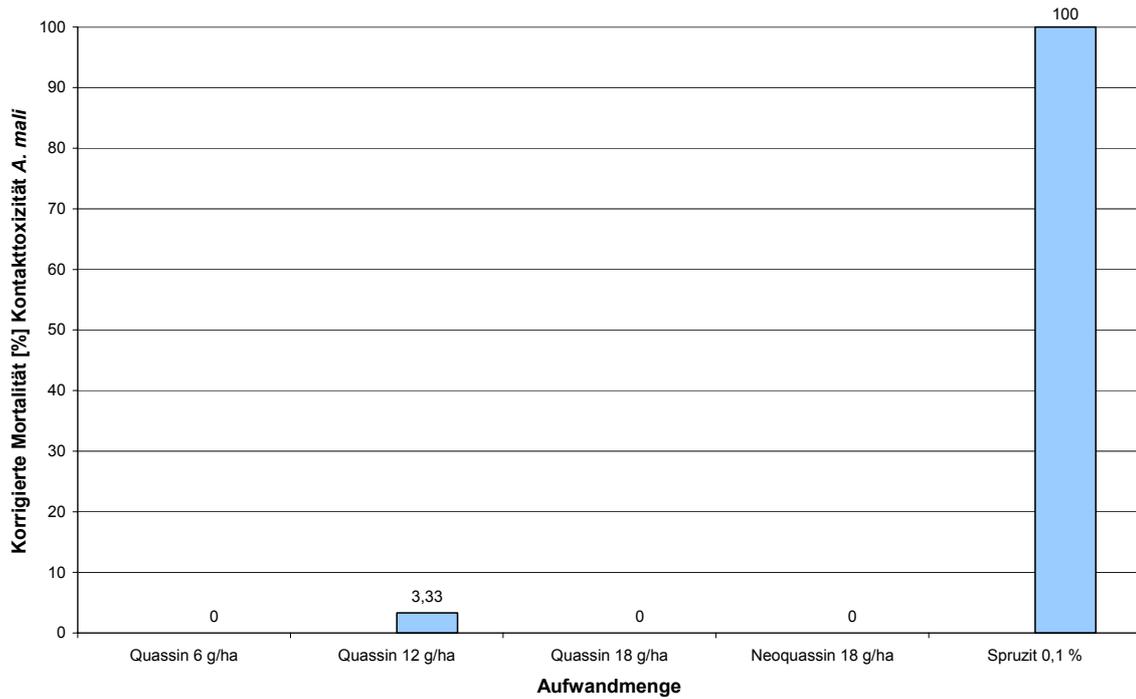


Abb. 25: Kontakttoxizität auf Glas von Quassin und Neoquassin bei *Aphelinus mali*, Darstellung der nach Schneider-Orelli korrigierten Mortalität in %.

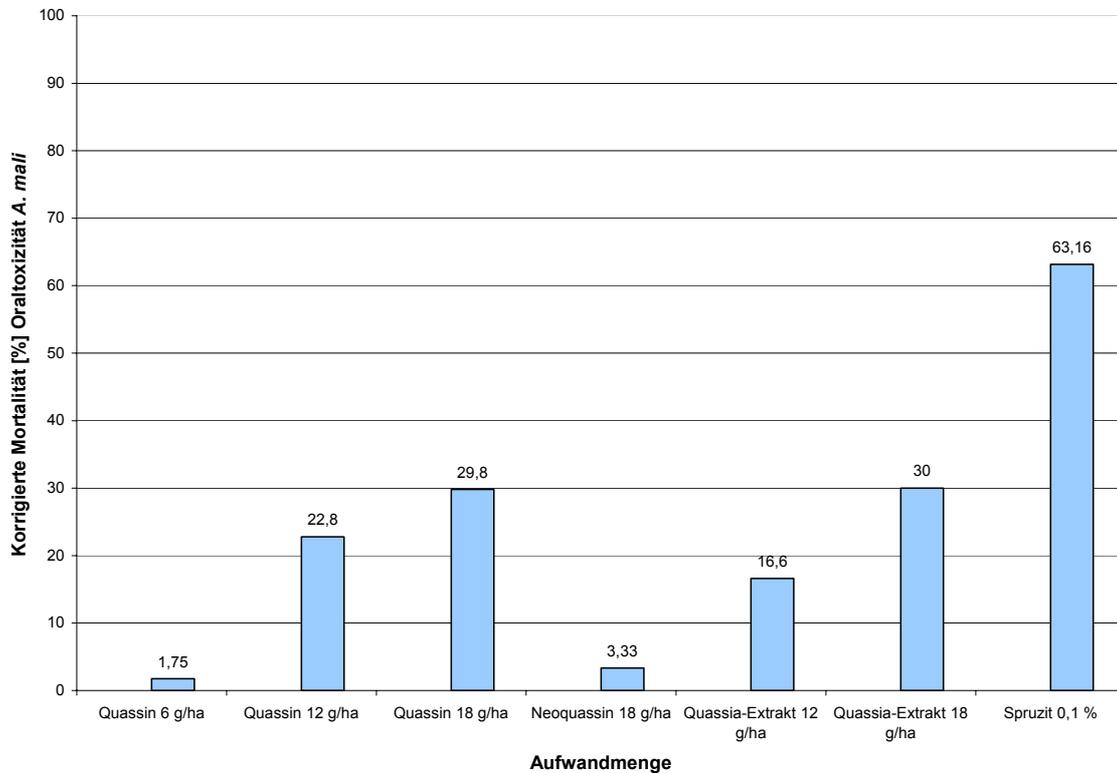


Abb. 26: Orale Toxizität von Quassin, Neoquassin und Quassia-Extrakt bei *Aphelinus mali*. Darstellung der nach Schneider-Orelli korrigierten Mortalität in %.

Bei der Behandlung der Mumien (Sprüh- und Tauchversuch) zeigte sich kein Unterschied zur Kontrollvariante im Schlupfverlauf und auch die Behandlung des gesamten Systems Blutlaus/Blutlauszehrwespe ergab keine deutlichen Unterschiede in der Reproduktionsleistung der Zehrwespe (Abb. 27 und Abb. 28).

Bei der Schlupfwespe *Aphidius rhopalosiphi*, einem empfindlichen Testorganismus (VOGT 2000), blieb die beobachtete Mortalität bei Quassin und Neoquassin niedrig ( $\leq 40\%$ ), war allerdings in der Kontrolle zu hoch (Tab. 12).

Tab. 12: *Aphidius rhopalosiphi*: Orale Verabreichung

Orale Toxizität	Kontrolle	Quassia – Extrakt 12 g/ha	Quassin 12 g/ha	Neoquassin 12 g/ha
Mortalität [%]	15	15	40	25

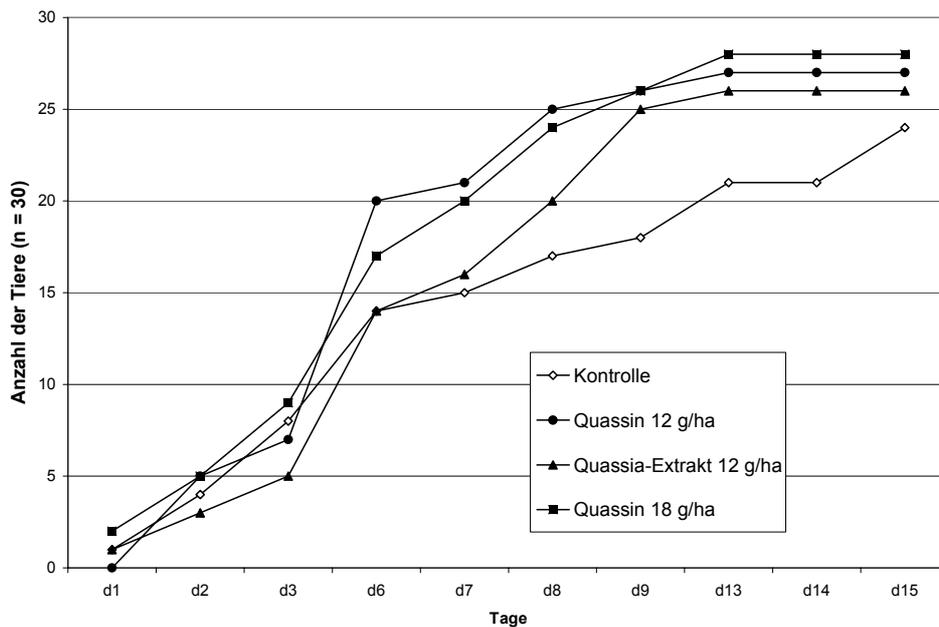


Abb. 27: Sprühbehandlung von Blutlausmumien mit Quassin und Quassia-Extrakt. Dargestellt ist der Schlupfverlauf von *Aphelinus mali*.

Anzahl *A. mali* geschlüpft / Wiederholung

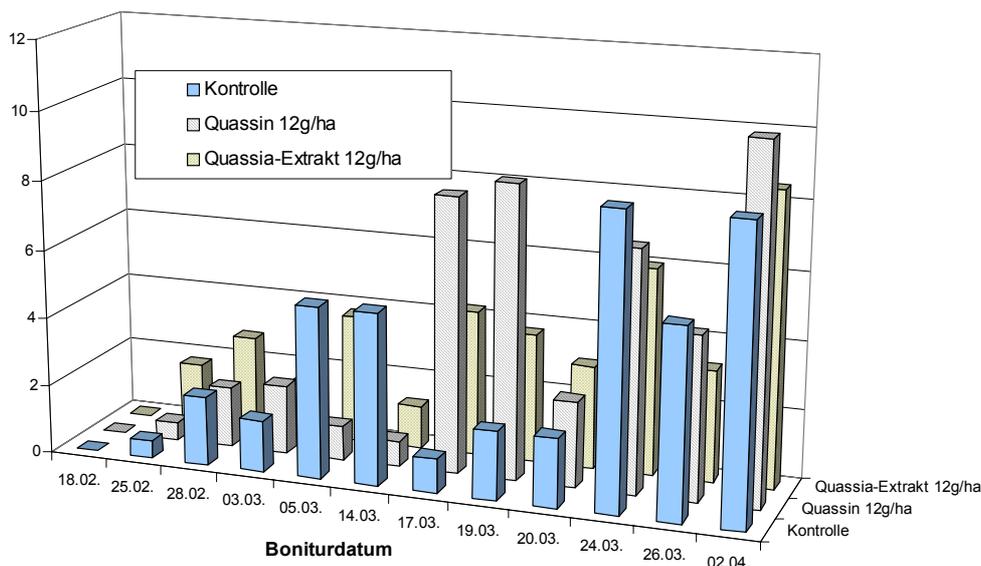


Abb. 28: System Blutlaus/Zehrwespe, Tauchversuch mit Quassin und Quassia-Extrakt. Anzahl geschlüpfter *Aphelinus mali* pro Wiederholung. Die zu erwartende Entwicklungsdauer bei 20 °C beträgt 22 Tage (ASANTE & DANTHANARAYANA 1992).

### 3.1.2.2 Versuche mit *Forficula auricularia*

Bei *Forficula auricularia* gab es in keinem der beiden Versuche tote oder geschwächte Tiere. Getestet wurden der Extrakt und die Reinstoffe Quassin und Neoquassin (Tab. 13 und Tab. 14).

Tab. 13: *Forficula auricularia*: Orale Verabreichung

Orale Toxizität	Kontrolle	Quassia – Extrakt 12 g/ha	Quassin 12 g/ha	Neoquassin 12 g/ha
Mortalität [%]	0	0	0	0

Tab. 14: *Forficula auricularia*: Besprühen der L4-Larven

Benetzung	Kontrolle	Quassia-Extrakt 12 g/ha	Quassia – Extrakt 18 g/ha
Mortalität [%]	0	0	0

### 3.1.2.3 Versuche mit *Coccinella septempunctata*

Bei *Coccinella* unterschieden sich die Ergebnisse bei der Prüfung der oralen Toxizität und der Benetzung der Tiere nicht signifikant von der Kontrollvariante (Abb. 30). Eine geringere Eiablage/Weibchen u. Tag konnte man in der Variante Quassia-Extrakt 6 g/ha feststellen. Da sich die Werte in der 12 g/ha und der 18 g/ha Variante nicht deutlich von den Werten in der Kontrollgruppe unterscheiden, ist jedoch kein durch den Extrakt hervorgerufener Effekt zu vermuten.

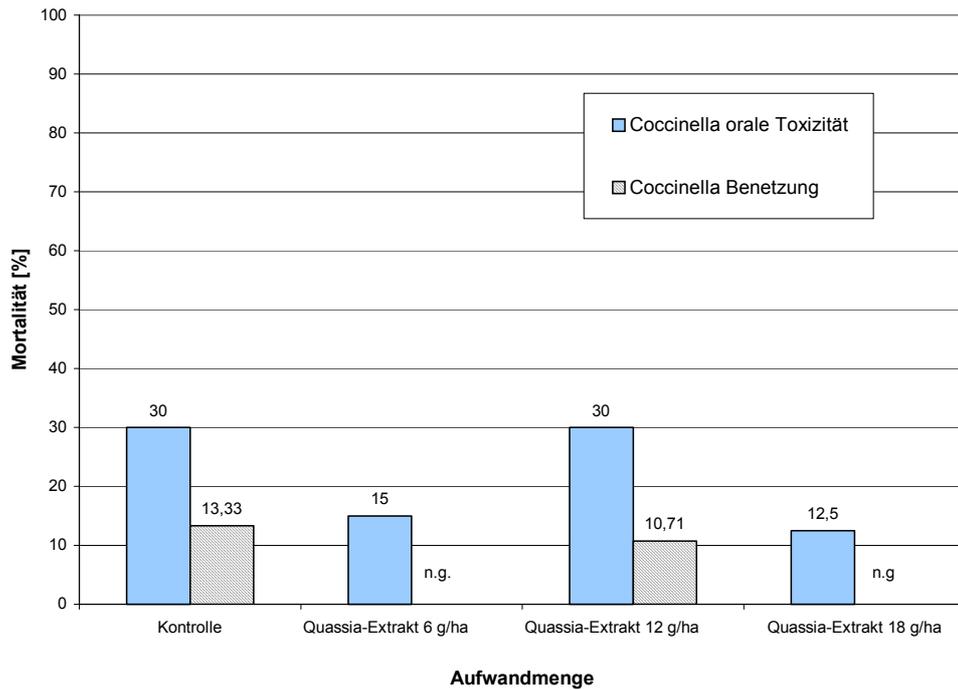


Abb. 29: Nebenwirkungen von Quassia-Extrakt auf Larven von *Coccinella septempunctata* bei oraler Aufnahme und Benetzung (n.g. = nicht geprüft).

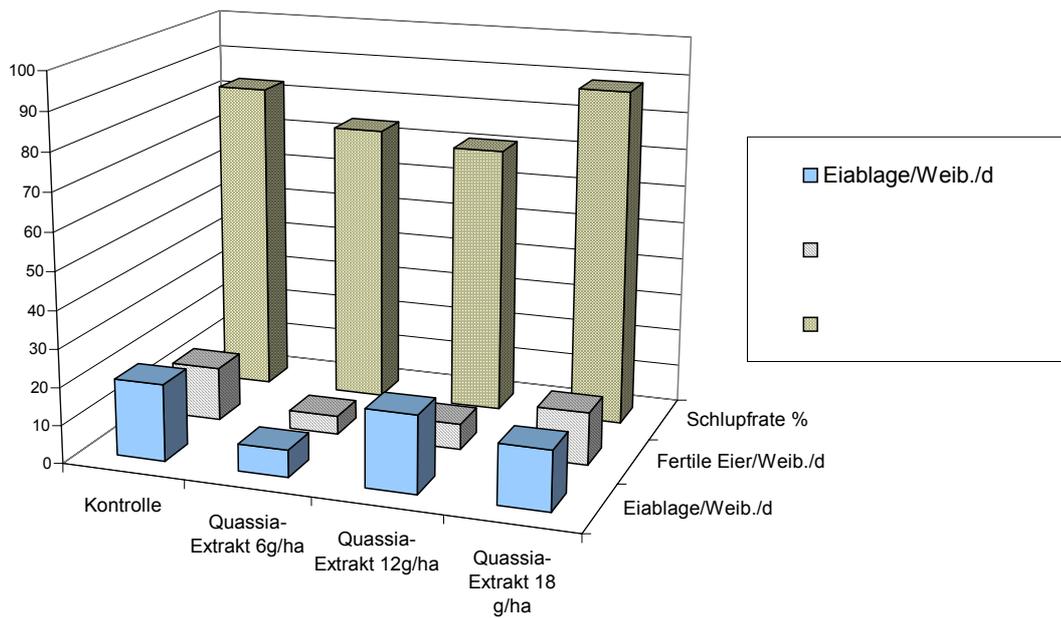


Abb. 30: Einfluss von Quassia – Extrakt auf die Reproduktionsleistung von *Coccinella septempunctata*.

### 3.1.2.4 Versuche mit *Chrysoperla carnea*

Auch bei *C. carnea* führte der Quassia-Extrakt weder bei oraler Verabreichung noch bei direktem Besprühen der Tiere zu höheren Mortalitäten als in der Kontrolle. Die Erhebung der Reproduktionsleistung muss bei *Chrysoperla* wiederholt werden, weil in keiner Variante Tiere geschlüpft waren und die Eiablage unter dem Erwartungswert lag.

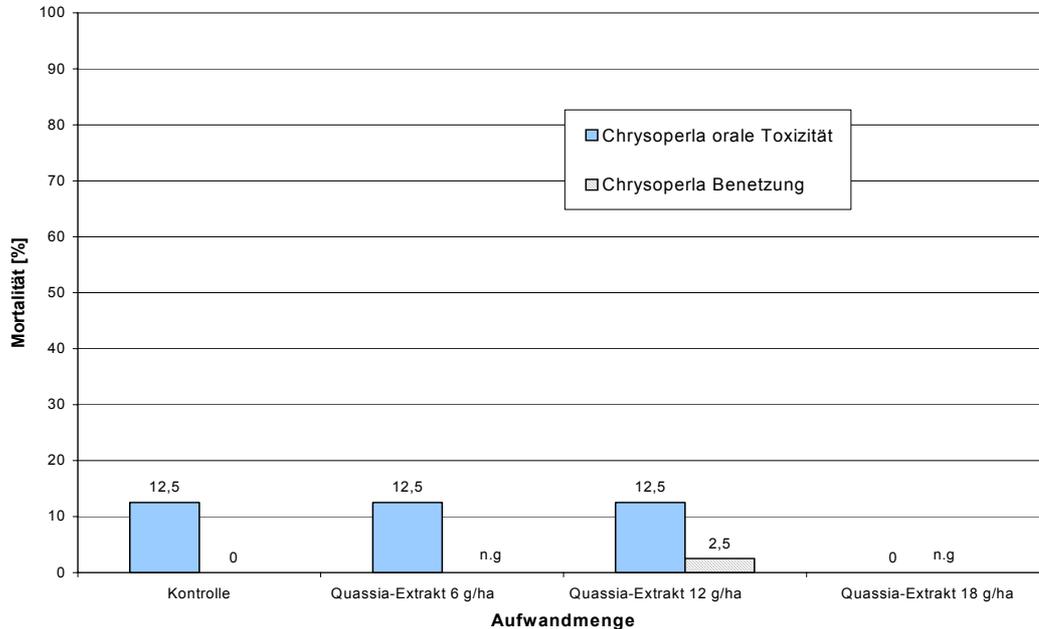


Abb. 31: Nebenwirkungen von Quassia – Extrakt auf *Chrysoperla carnea* bei oraler Aufnahme und Benetzung (n.g. = nicht geprüft).

Die Ergebnisse zur Reproduktion bei *Chrysoperla* können nicht verwendet werden, weil die Eiablage in allen Varianten unter der zu erwartenden Ablagerate blieb und in keiner Variante Tiere schlüpften. Es gab am 3. Versuchstag aufgrund einer technischen Störung eine über mehrere Stunden andauernde Temperaturerhöhung auf 40°C in der Klimakammer. Die beobachtete Störung der Fertilität und der Fekundität wurde sehr wahrscheinlich durch diesen Temperaturschock hervorgerufen.

### 3.1.2.5 Zusammenfassung Nebenwirkungen auf Nützlinge

Für alle Prüfsubstanzen wurden die Laborversuche mit für die Praxis relevanten Aufwandmengen durchgeführt.

Für *Aphelinus mali*, *Forficula auricularia*, *Coccinella septempunctata* und *Chrysoperla carnea* ist unter Freilandbedingungen kein schädigender Einfluss des Quassia-Extraktes zu erwarten.

## 3.1.3 Förderung der Blutlauszehrwespe

### 3.1.3.1 Untersuchungen zur Möglichkeit/Notwendigkeit der Entnahme von Material zur Überwinterung der Blutlauszehrwespe vor Saisonende

Auch bei diesen Proben konnte die Erfahrung der Praxis bestätigt werden, dass im Frühwinter kaum noch mit Zehrwespen besetztes Material in den befallenen Anlagen zu finden war. In Jork musste Material aus einer anderen Anlage verwendet werden, da in der im Sommer verwendeten Anlage keine Mumien mehr gefunden werden konnten.

Die Parasitierung der jüngeren Blattlausstadien (mittelgroße Blattläuse) war beim Termin Ende Juli in Ahrweiler und Süddeutschland etwas höher. Im August/September

war der Anteil der Puppen in den „schwarzen“ Läusen, d.h. in den Mumien höher als im Juli. Insgesamt waren aber immer alle Stadien vertreten.

Tab. 15: Entwicklungsstadien von *A. mali* in den verschiedenen Proben

Standort			vorhandene Entwicklungsstadien von <i>A. mali</i> (in %)					Parasitierung in %
Note für Ausbeute	Datum	Laustyp	kleine Larven	große Larven	frühe Puppen	ältere Puppen	Bl m. dkl. M.	
Bodensee <b>5</b>	27.7.	mittel	1,12	2,99				<b>4,1</b>
		groß	0,37	2,25				<b>2,6</b>
		schwarz		24,80	29,32	42,10	3,76	<b>100,0</b>
Bodensee <b>4</b>	6.8.	mittel	0,37	1,12				<b>1,5</b>
		groß	0,75	1,12				<b>1,9</b>
		schwarz		17,67	52,26	27,44	2,63	<b>100,0</b>
Bodensee <b>2</b>	5.9.	mittel	1,50	1,50				<b>3,0</b>
		groß	4,50	5,20				<b>9,7</b>
		schwarz		21,05	15,40	57,52	6,02	<b>100,0</b>
Ahrweiler <b>5</b>	29.7.	mittel	5,99	4,12				<b>10,1</b>
		groß	1,87	4,49				<b>6,4</b>
		schwarz		44,36	26,32	13,91	15,41	<b>100,0</b>
Ahrweiler <b>5</b>	7.8.	mittel	1,50	1,12				<b>2,6</b>
		groß	0,75	1,87				<b>2,6</b>
		schwarz		27,82	32,33	38,72	1,13	<b>100,0</b>
Ahrweiler <b>4</b>	28.8.	mittel	0,37	1,12				<b>1,5</b>
		groß	0,37	2,62				<b>3,0</b>
		schwarz		31,58	29,70	36,84	1,88	<b>100,0</b>
Ahrweiler <b>2</b>	22.11.	mittel	0	0				<b>0,0</b>
		groß	2,96	12,60				<b>15,6</b>
		schwarz		76,47	0,74	11,76	11,03	<b>100,0</b>
Jork <b>4</b>	7.8.	mittel	2,25	1,87				<b>4,12</b>
		groß	0,37	1,87				<b>2,24</b>
		schwarz		34,96	48,12	10,90	6,02	<b>100,0</b>
Jork <b>4</b>	29.8.	mittel	0	0,37				<b>0,37</b>
		groß	0	4,87				<b>4,87</b>
		schwarz		37,97	36,84	24,06	1,13	<b>100,0</b>
Jork <b>0</b> <i>altern. Anlage 5</i>	25.11.	mittel	0	0				<b>0</b>
		groß	0,73	0				<b>0,73</b>
		schwarz		90,85	0	4,22	4,93	<b>100,0</b>

Anfang März wurde eine erste Untersuchung (Sektion) der gekühlten Blutläuse aus den Sommerproben vorgenommen. Die untersuchten Parasitoidenlarven und –puppen waren alle nicht mehr am Leben.

Im April 2003 wurden alle Proben aus dem Kühllager entnommen und bei Zimmertemperatur warmgestellt. Aus den im Spätherbst gezogenen Proben schlüpften einige Zehrwespen (Besatz und Parasitierungsgrad sehr gering). Aus den im Sommer gezogenen Proben schlüpften keine Zehrwespen.

## Diskussion

Nach diesen Ergebnissen ist eine längere Lagerung der Parasitoide von Spätsommer bis April/Mai unter Praxisbedingungen ohne vorherige Induktion der Diapause nicht möglich. Eine Entnahme im Frühwinter, wenn die Diapause induziert ist, ergibt oft keine oder nur eine sehr karge Ausbeute an parasitierten Blutläusen, wie auch die Auswertung der Proben („Ausbeute“) zeigt. Bei der Diskussion dieser Ergebnisse mit den Praktikern wurde dann die Frage aufgeworfen, ob es möglich sei, bei im Freiland parasitiertem Material mit sehr jungen Parasitoidenlarven wenigstens zu einem gewissen Prozentsatz unter professionellen Bedingungen (Nützlingszucht) die Diapause zu induzieren.

### 3.1.3.2 Untersuchungen zur Möglichkeit der Diapauseinduktion, Lagerung und Wiederausbringung von Freilandmaterial bei einem professionellen Nützlingszüchter

Im Rahmen dieser Versuche sollten im Wesentlichen folgende Fragen geklärt werden:

- Ist es möglich, im August im Freiland geerntete Mumien in einem Nützlingszuchtbetrieb in Diapause zu versetzen? (Versuchs-Serie A)
- Unterscheidet sich der Anteil Diapause-induzierter Mumien zwischen den verschiedenen Entwicklungsstadien der Blutlauszehrwespe zu Beginn der Induktion voneinander? (Versuchs-Serie A)
- Wie muss das Diapause-Management beschaffen sein, um die preadulte Mortalität der Zehrwespen möglichst gering und die Fitness der geschlüpften Aphelinen möglichst hoch zu halten? (Versuchs-Serie B und C)
- Wie sind die optimalen Modalitäten für die Wiederausbringung des Materials? (Versuchs-Serie D)

## Versuche zur Diapause-Induktion (Serie A)

In diesem Versuch sollte geprüft werden, in welchem Umfang eine Diapause-Induktion bei verschiedenen Larvenstadien möglich ist. Dazu wurde mittels Sektion die Parasitierungsrate ermittelt. Außerdem erfolgte eine Schlupfkontrolle zu den Terminen, an dem nicht Diapause-induzierte Tiere schlüpfen mussten.

### Sektionen

Bei der ersten Mumien-Sektion am 5.12.2003, 50 h nach Parasitierungsbeginn, konnte bei 25-facher Vergrößerung keine Parasitierung erkannt werden. Die 30 untersuchten vitalen Blutläuse waren alle im L<sub>3-4</sub>-Stadium. Die Aphelinen hätten maximal 50 h alt sein können, was bei einer Temperatur von 24°C und einem Entwicklungsschwellenwert ( $t_0$ ) von *A. mali* von 8,2 ca. 32 Grad-Tage (DD) ausmacht. Die Entwicklungsphase der Aphelinen müsste demnach das Ei-Stadium gewesen sein.

In Vorversuchen ist u.a. die Parasitierungsrate erhoben worden. Bei optimaler Platzierung und Belichtung der zu parasitierenden Blutläuse, ergab sich nach 2x 16 h Parasitierungszeit bei 24°C eine 70-80%ige Parasitierungsrate.

Es wurde davon ausgegangen, dass bei der Versuchsserie A eine Parasitierungsrate von mindestens 50-70% vorlag, da die Vorgehensweise gleich war.

Die 2. Mumien-Sektion erfolgte an den Varianten A3 und A4 am 12.12.2003, also zwischen der Wartezeit nach der Parasitierung und dem Beginn der Diapause-Induktion. Alle 32 Blutlaus-Proben waren tot und mumifiziert, sie waren etwa im L<sub>3</sub> bis L<sub>4</sub>-Stadium als sie mumifizierten bzw. abstarben. Die Bestimmung der Blutlaus-Larven-Stadien erfolgte nach Maßangaben von ASANTE et al. (1990).

In der Klimakammer kam es zu leichten Verpilzungen an den unteren Triebbereichen, die sich dicht an der nassen Steinwolle befanden. Die Sektionsergebnisse widerspiegeln diesen methodischen Fehler.

- 22 von 32 Mumien waren parasitiert und enthielten vitale *A. mali*-Larven = 68,75%
- 12 von 32 Mumien enthielten tote, schwarz gefärbte Blutlaus-Larven = 37,50%.

Dennoch war auch bei diesen eine Parasitierung nicht auszuschließen.

Die vitalen *A. mali* befanden sich in einem späten Larvenstadium. Die Längen der Larven lagen durchschnittlich bei 0,5 mm (0,4 bis 0,8 mm). Es handelte sich hauptsächlich um gelbe oder gelb-schwarze, äußerlich schon differenzierte Larven sowie einige undifferenzierte schwarz-gelbe noch runde Larven.

#### Schlupfverlauf

Bei 20°C und einer Helldauer von 16 h verlief der Schlupf in den Varianten A2 und A4 offensichtlich ohne Diapause. Gemessen an den Untersuchungsergebnissen von BONNEMAISON (1965) hat die Induktion der Diapause weder im jungen Larvenstadium, noch in einem älteren Larvenstadium stattgefunden. 67,80% der Aphelinen schlüpften zwischen dem 20. bis 26. Tag nach Parasitierungsbeginn (s. Abb. 32). Würde die Diapause erfolgreich induziert worden sein, sollte laut BONNEMAISON (1965) der Schlupf zwischen dem 55. und 150. Tag erfolgen.

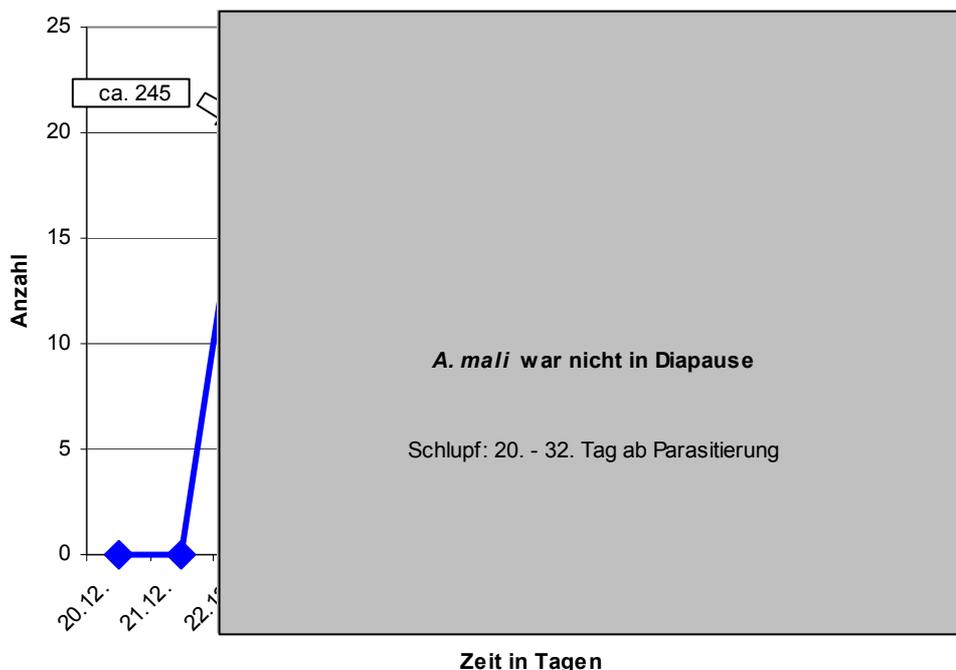


Abb. 32: Schlupf von *Aphelinus mali* in der Versuchsvariante A2 und A4, Dezember 2003. Serie A (A2 u. A4): N= 118 Mumien, Schlupf vom 20.12. - 28.12.03= 67,80 (%), Parasitierung: 03. - 05.12. 03

## Diskussion

Der Grund für die erfolglose Diapause-Induktion wird in einer zu hohen Parasitierungstemperatur vermutet. Während in den Versuchen von BONNEMAISON (1965) bei einer Temperatur von 20°C parasitiert wurde, lag die Temperatur in den Versuchen in Baruth 2003 bei 24°C ± 1°C. Wahrscheinlich spielt schon ab der Parasitierung, also ab dem Eistadium von *A. mali*, die Temperatur eine entscheidende Rolle für die Diapausierung. Zudem ist dies der einzige Unterschied zu den erfolgreichen Diapause-Induktions-Versuchen von BONNEMAISON (1965).

Unter diesen Umständen endete diese Versuchsserie vorzeitig. Die Versuchsfrage, ob die Diapause-Induktion, zwischen den verschiedenen Entwicklungsstadien der Blutlauszehrwespe unterschiedliche Quoten erreicht, kann somit in der Versuchs-Serie A nicht geklärt werden. Die Variante A1 befindet sich derzeit planmäßig im Kühllager, wenn auch klar ist, dass keine Diapause induziert worden sein kann. Die Zehrwespen der Variante A3 sind durch die verlängerte Wartezeit von +5 Tagen, noch in der Induktionskammer geschlüpft, da ebenfalls keine Diapause vorlag.

## Folgeversuche zur Diapauseinduktion

Um eine Aussage über die Diapauseinduktion treffen zu können, musste nach den Ergebnissen der ersten Versuche zunächst geklärt werden, unter welchen Klimabedingungen eine Diapause-Induktion überhaupt zustande kommt. Daher wurde der Versuche Serie A mit einer Parasitierungstemperatur von 20 °C zweimal wiederholt.

Der Schlupfverlauf im ersten Versuch (s. Abb. 33) lässt laut BONNEMAISON (1965) den Schluss zu, dass die Aphelinen sich zu rund 97% in Diapause befanden. In der Zeit vom 20. bis 32. ab der Parasitierung schlüpfte eine *A. mali*, am 30.01. eine Weitere. Es befanden sich demnach 2,86% der Aphelinen nicht in der Diapause.

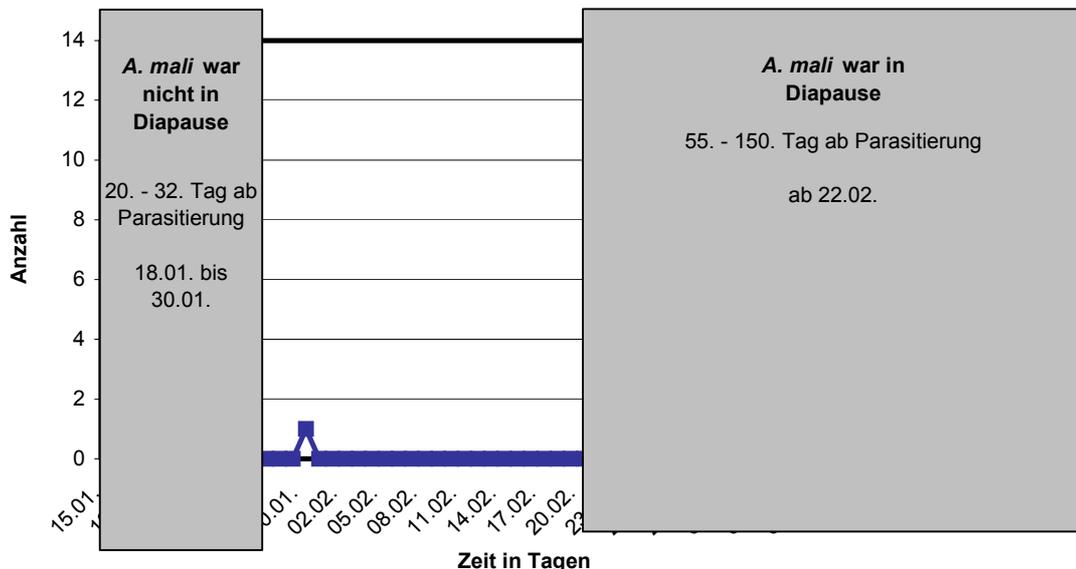


Abb. 33: Schlupf der *Aphelinus mali*, nach Parasitierung bei 20°C und Standard-Diapause-Induktion (1. Test), Dezember 2003 - März 2004. (N = 70 Mumien, Parasitierung: 27.12. - 29.12. 03)

### Sektionen

Am 12.01.04, 17 Tage nach Parasitierungsbeginn, wurden drei Mumien sezirt. Die drei *A. mali*-Larven waren vital und befanden sich noch im Larvenstadium. Verglichen mit Larven, die sich ohne Unterbrechung entwickeln, wäre dieses Stadium mit der Entwicklung nach 7 - 9 Tagen, d.h. von ca. 100-120 Grad-Tagen vergleichbar, was knapp 50% der totalen Entwicklungszeit entspräche.

Eine weitere Sektion von 2 Mumien wurde am 27.01.04 durchgeführt. Eine *A. mali*-Larve war vital und in einem etwas jüngeren Entwicklungsstadium als die Larven der 1. Sektion vom 12.01.04. Eine zweite *A. mali*-Larve war abgestorben. Die dritte Sektionsstichprobe mit 2 Mumien erfolgte am 16.02.04. Beide *A. mali*-Larven waren vital, der Entwicklungszustand war dem der ersten beiden Sektionen voraus, wobei noch kein Nymphenstadium erreicht wurde.

Am 24.02.04 fand eine vierte Sektio statt, dabei wurden 8 Mumien untersucht. 4 vitale Aphelinen befanden sich in einem älteren Larvenstadium, eine vitale Schlupfwespe befand sich im Nymphenstadium, 3 Nymphen waren abgestorben. Die Mortalitätsrate bei  $n=8$  betrug 37,5 %.

Am 30.01.04 wurde der Test bei gleicher Methode **wiederholt**, wobei während der Parasitierungsphase nur künstliches Licht gegeben werden konnte. Die Parasitierungsrate war entsprechend geringer, so standen für das Monitoring und die Sektionen nur 27 Mumien zur Verfügung. Bis zum 25.02.04 schlüpfte keine *Aphelinus mali*, wobei der Schlupfverlauf laut BONNEMAISON (1965) theoretisch schon am 22.02.04 hätte beginnen müssen, wenn keine Diapause vorliegt.

Bis zum 24.02.04 schlüpfte keine *Aphelinus mali*, jedoch 10 Aphelinen (37,0%) vom 25.-27.02.04. Bis zum 18.03.04 schlüpfte keine weitere *A. mali*. Die Sektions-Ergebnisse bestätigen dennoch die Annahme, dass sich die Schlupfwespen zum Großteil in der Diapause befanden.

### Sektionen

Die erste Mumien-Sektion erfolgte am 16.02.2004, also 16-18 Tage nach der Parasitierung. Bei einer Entwicklung ohne jede Unterbrechung würden sich die Aphelinen nach diesem Zeitraum unmittelbar vor dem Schlupf befinden, d.h. die Larven in den Mumien wären komplett differenziert.

Tatsächlich befanden sich die *A. mali* aber – wie schon im Versuch zuvor – in einem mittleren Larvenstadium, das kaum eine äusserliche Differenzierung zeigte. Bei einer Entwicklung, die ohne jede Unterbrechung abgelaufen wäre, entspräche dieses Larvenstadium dem 7.-9. Entwicklungstag bzw. einem Grad-Tage-Wert von 100-120. Die zweite Sektion erfolgte am 26.02.2004, also innerhalb der Zeitspanne, die zum Abschluss der Aphelinen führt, würde keine Diapause vorliegen. 5 Stichproben wurden untersucht, dabei war eine Mumie vertrocknet, 3 vitale Aphelinen befanden sich in Larvenstadien, eine vitale *Aphelinus mali* war bereits voll entwickelt und befand sich unmittelbar vor dem Schlupf.

### Diskussion

Die durchgeführten Untersuchungen deuten darauf hin, dass bei einer Parasitierungstemperatur von  $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  keine Diapause induziert werden kann. Knapp 70% der *A. mali* aus der Versuchsserie A2, die bei  $24^{\circ}\text{C}$  parasitiert wurde, schlüpften vom 20. bis 26. Tag ab Parasitierung und waren demnach nicht durch eine Diapause beeinflusst. Bei einer Temperatur von  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ist es jedoch offensichtlich möglich, die Diapause zu induzieren. Die Sektionsstichproben in den Tests 1 und 2 zeigten eine stagnierende Entwicklung in einem Zeitraum, der ohne Diapause bereits zum Schlupf der Aphelinen geführt hätte. Knapp 3% der Zehrwespen aus Test 1 schlüpften vor dem 55. Tag ab Parasitierung; sie befanden sich laut BONNEMAISON (1965) nicht in Diapause. Zwischen dem 08.03. und dem 18.03.04 schlüpften 6 *A. mali* (8,57%), diese hatten die Diapause bereits beendet. Weitere Schlupfdaten konnten in diesem Bericht nicht mehr erfasst werden.

Die Sektionsdaten vom 26.02.04 zeigten, dass etwa 60% der noch nicht geschlüpften Aphelinen vital waren und sich im späten Larven oder Nymphenstadien befanden. Die Mortalitätsrate lag bei knapp 40%. Es wird daher angenommen, dass sich etwa 60% der Aphelinen zu dieser Zeit in der Diapause befanden.

Der Test 2 unterscheidet sich in den Ergebnissen von Test 1. Hier waren offensichtlich etwa 37% nicht diapausierend. Die Sektionsstichproben wiesen dennoch auf eine Diapause-Rate von >50% hin. Es ist sehr wahrscheinlich, dass Störlicht während der Diapause-Induktion der Grund für die geringe Erfolgsquote ist. Reproduktionstests können aus zeitlichen Gründen, im Rahmen des Projektes nicht mehr stattfinden, da der Schlupf der 1. Testserie ab dem 22.02.04 erwartet wird.

Die Frage, ob es möglich ist das im August geerntete Freilandmaterial in einem Nützlingszuchtbetrieb in Diapause zu versetzen, ist negativ zu beantworten. Die Temperaturen im Freiland würden bei günstigen Parasitierungsbedingungen für die Blutlauszehrwespe sicher im Mittel  $\geq 24^{\circ}\text{C}$  betragen, so dass die anschließende Diapause-Induktion in Klimakammern zu einem hohen Prozentsatz erfolglos bleiben würde. Die Einlagerung von Zweigproben in einem Kühlraum der BBA führte möglicherweise aufgrund hoher Freilandtemperaturen zum Zeitpunkt der Parasitierung, d.h. ohne Diapauseinduktion, zum Absterben der Blutlauszehrwespen in den Mumien. Allerdings sind auch noch Störungen der Klimaanlage mit zu berücksichtigen, die sich nachteilig auf die Lagerung ausgewirkt haben könnten. Bei der Versuchsplanung hatte man nicht erwartet, daß die Temperatur während der Parasitierungsphase einen entscheidenden Einfluss auf die Diapauseinduktion ausübt.

### **Untersuchungen zum Diapause-Management (Serie B und C)**

Die Versuchsserien B und C sollten klären, unter welchen Diapause- bzw. Lagerbedingungen die geringste praeadulte Mortalität zu erwarten ist und unter welchen Bedingungen die beste Fitness der geschlüpften Aphelinen erreicht werden kann.

#### *Sektionen*

Für die erste Sektion der Mumien in der Kontrolle (Serie C), wurden nur 5 Stichproben untersucht. Die Aphelinen waren alle vital und befanden sich in spätem Larven- bzw. frühem Nymphenstadium. Würden blutlausbesetzte Apfelzweige im Freiland geschnitten werden, so wäre es aus technischen Gründen notwendig, die Mumien von den Ästen zu entfernen. Es würden demnach zunächst lose Mumien überwintern, bzw. eingelagert werden, die erst später auf Ausbringungskarten geklebt würden. Um diese Situation zu simulieren, wurden die mumifizierten Blutläuse vom Holz entfernt und anschließend im Kühlschrank gelagert. Am 3. Februar waren die Mumien 6 Wochen lang gekühlt. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich, dass ca. 90% der Mumien und Aphelinen eingetrocknet waren. Vorversuche, die im November 03 eingelagert wurden, zeigten nach 3,5 Monaten Lagerung unter gleichen Kühlbedingungen 50-70 % Mortalität bei Larven bzw. Nymphenstadien.

Um dennoch Kenntnisse über eine Lagerung ohne Diapause zu erhalten, wurden die Mumien der Versuchsserie A 1 als „Ersatzkontrolle“ verwendet. Bei diesen *A. mali* gelang die Diapause-Induktion nicht, sie wurden aber dennoch – nach Mumifizierung der Blutläuse – in die Kühlzelle im Pflanzenschutzamt Berlin gegeben ( $5^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , Photoperiode: 12:12). Die Mumien lagerten 7 Wochen in der Kühlzelle, ab dem 2.02.04 wurden Schlupfbedingungen gegeben (LT, 20-22°C). Da die komplette Schlupfphase nicht mehr für den Bericht erfasst werden kann (s. Abb. 5), sind 30 Mumien am 20.02.04 seziiert worden (Abb. 4). 66,6 % der Aphelinen waren abgestorben.

Auffällig war, dass der Anteil toter Larven sehr hoch (36,60%), der Anteil vitaler Larven aber sehr gering war (3,30%). Die Mortalitäts- bzw. Überlebensrate der Nymphen lag jeweils bei etwa 30%. Ob die Vitalität der Nymphen jedoch ausreicht, um schlüpfen zu können, bleibt fraglich.

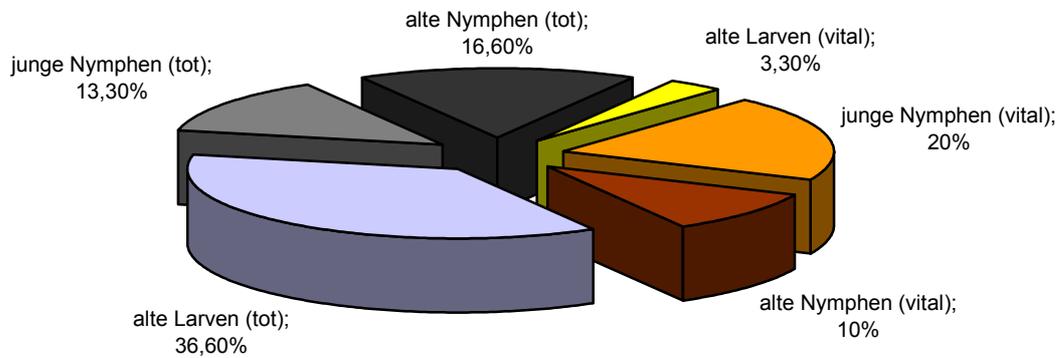


Abb. 34: Ergebnisse der Sektion, Mortalität und Vitalität der seziierten Aphelinen in den Mumien: Anteil toter und vitaler *Aphelinus mali* in den Mumien (n= 30) nach 7 Wochen Kühllager (5°C, Photoperiode 12:12)

**Schlupfverlauf der Serie A1 „Kontrolle“**

83 Mumien wurden einzeln in Gelatinekapseln gegeben, um den Schlupfverlauf zu dokumentieren. Abb. 5 zeigt den Schlupf der Aphelinen bis zum 13.03.04. Die Schlupfrate von 44% widerspiegelt in etwa die Sektionsdaten. Reproduktionstests konnten auf Grund des Zeitrahmens nicht mehr durchgeführt werden.

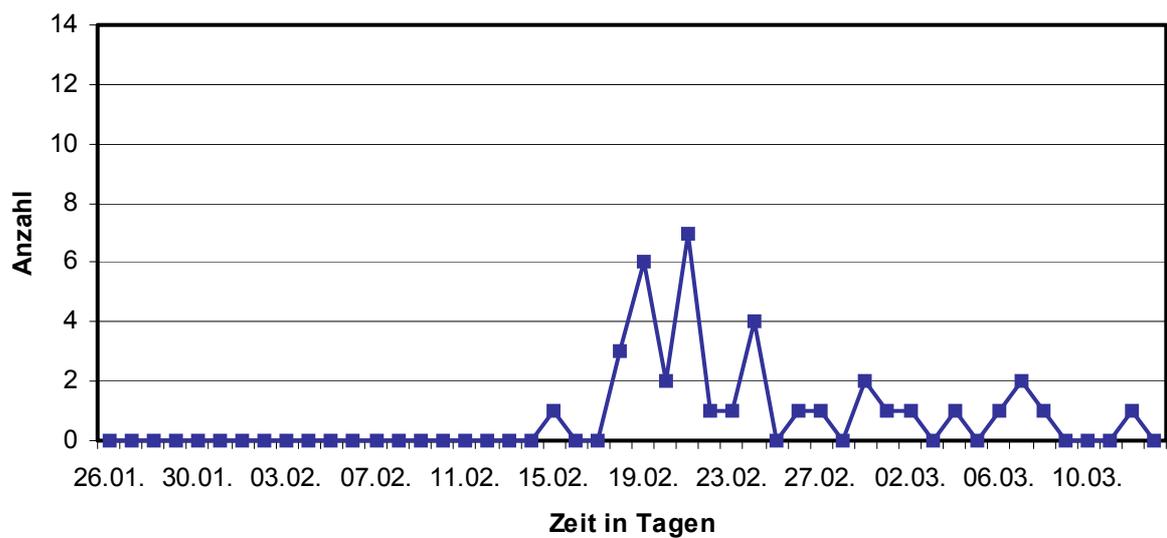


Abb. 35: Schlupf der *Aphelinus mali* nach 7 Wochen Lagerung ohne Diapause, Februar 2004. (Parasitierung: 10. - 13.12. 03, Lagerung ohne Diapause, Schlupf bis 13.03.04 = 44 (%), n= 83 Mumien).

## Diskussion

Die Sektions- und Schlupfergebnisse, die sich nach beschriebenen Licht- und Temperaturbedingungen zur Parasitierungs-, Lagerungs- und Wachstumsphase zeigten, bestätigen die Vermutung, dass eine 7-wöchige Lagerzeit zu hohen Mortalitätsverlusten führen würde. Da die Kühltemperatur  $< t_0$  lag, konnte theoretisch keine Entwicklung stattgefunden haben. Bezogen auf den hohen Anteil der abgestorbenen Larven (36,6%), kann daher angenommen werden, dass die Mortalität bei Larven, die sich nicht in der Diapause befanden, während der Kühlphase sehr hoch war.

## Untersuchungen zur Wiederausbringung der Mumien (Serie D)

Theoretisch ist durch die Untersuchungen zur Diapause-Induktion (Kap. 3) klargeworden, dass eine Diapause-Induktion der Mumien an geschnittenen Ästen nicht funktioniert. Die Tatsache, dass für eine erfolgreiche Induktion der Diapause eine bestimmte Schwellentemperatur zur Parasitierung nicht überschritten werden darf, macht es unmöglich, die Diapause bei Freilandmaterial zu induzieren. Die Frage nach den Ausbringungsmodalitäten des ursprünglich aus dem Freiland geschnittenen Mumienmaterial hat sich somit im Prinzip erledigt. Dennoch wurden Untersuchungen durchgeführt, die Aufschluss darüber geben, ob die Schlupfrate von Mumien, die keine Diapause durchlaufen haben, unterschiedlich ist, wenn sie auf dem Holz belassen, oder auf Ausbringungskarten geklebt wurden.

Die Schlupfquoten unterschieden sich im Endergebnis – also nach 10 tägiger Wartezeit bei ca. 24°C – nur geringfügig voneinander. Mumien, die sich am Holz befanden, schlüpften im Mittel zu 98,18%. Mumien, die auf Ausbringungskarten geklebt waren, schlüpften im Mittel zu 98,50%.

Bemerkenswert ist der unterschiedliche Schlupfverlauf zwischen den beiden Varianten. Der Schlupf von Ausbringungskarten verlief im Vergleich zur Holzvariante deutlich verzögert. Während zur ersten Bonitur (23.02.) in der Holzvariante bereits knapp 70% der Parasitoide geschlüpft waren, konnten in der Karten-Variante erst knapp 30% leere Mumien gezählt werden. Zur 2. Bonitur lag das Schlupfverhältnis bei 81,58% (Holz) zu 43,59% (Karte), 3. Bonitur: 91,81% (Holz) zu 82,67% (Karte), 4. Bonitur: 98,81% (Holz) zu 98,50% (Karte) (Abb. 6). Mit den Daten zur prozentualen Schlupfrate der 10 Karten wird deutlich, dass in diesem Versuch eine Schlupfverzögerung vorliegt.

### Schlupf-Daten der 10 Ausbringungskarten:

1. Bonitur: 0-50%; 2. Bonitur: 29-70%; 3. Bonitur: 67-100%; 4. Bonitur: 67-100%.

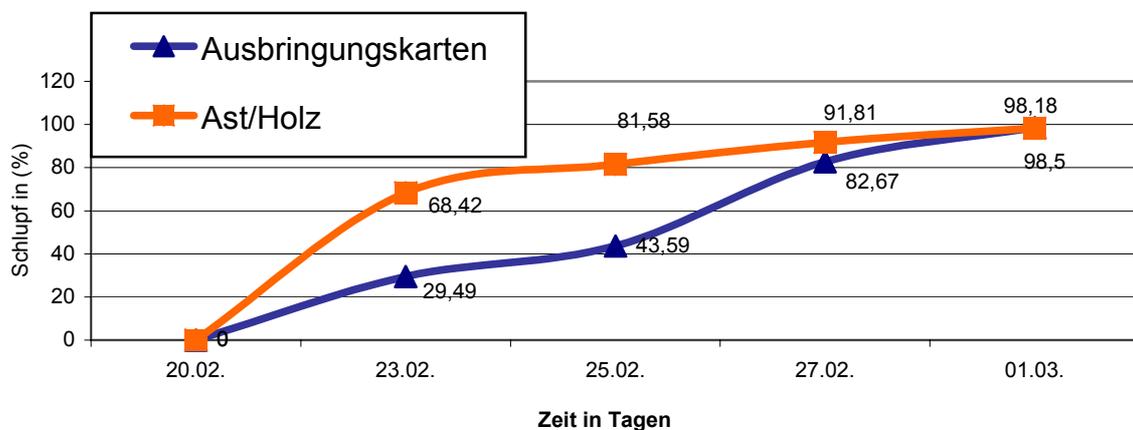


Abb. 36: Schlupf von Ausbringungskarten (arithmetisches Mittel aus 10 Karten) sowie vom Holz: „Abschlupf“ von *Aphelinus mali* (Hald.) von Ausbringungskarten (n= 78) und Ast/Holz (n= 114). Werte im arithmetischen Mittel.

## Diskussion

Der Schlupf von *Aphelinus mali* aus auf Ausbringungskarten aufgeklebten Mumien bzw. aus auf dem Holz belassenen Mumien, ist etwa gleich hoch. Nach 10 Tagen werden Werte von rund 98% erreicht. Bemerkenswert ist jedoch der etwas verzögerte Schlupf der Zehrwespen, wenn die Mumien vom Holz entfernt und auf die Ausbringungskarten geklebt wurden. Diese Untersuchungen sollten in jedem Fall wiederholt werden, da die Schlupfverzögerung wichtige Auswirkung auf die Ausbringungsstrategie haben kann.

## Zusammenfassende Diskussion

Die Ergebnisse der Versuche zur Diapause-Induktion (Kap. 3) deuten darauf hin, dass die Diapause bei *Aphelinus mali* nicht induziert werden kann, wenn die Temperaturen zur 2-3 tägigen Parasitierungsphase einen bestimmten Schwellenwert überschreiten. Während in den Versuchen von BONNEMAISON (1965) bei einer Temperatur von 20°C (LT) parasitiert wurde, lag die Temperatur in den Versuchen in Baruth 2003 bei 24°C ± 1°C (LT). Auch wenn zum 2. bzw. 4. Larvenstadium die Temperatur auf 20°C abgesenkt und 12:12 h (= KT) belichtet wurde, trat keine Diapause ein. Knapp 70% der *A. mali* aus dieser Versuchsserie schlüpften vom 20. bis 26. Tag ab Parasitierung und waren demnach nicht in Diapause gegangen. Hierdurch endete diese Versuchsserie vorzeitig. Die Frage, ob die Diapause-Induktion bei verschiedenen Entwicklungsstadien der Blutlauszehrwespe zu unterschiedlichen Diapause-Raten führt, konnte somit in der Versuchsserie A nicht geklärt werden.

Weitere Tests zur Diapause-Induktion zeigten, dass es offensichtlich gelingt, die Diapause zu induzieren, wenn zur 2-3 tägigen Parasitierungsphase statt 24°C 20°C ± 1°C gegeben werden. Die Aphelinen schlüpften demzufolge nicht zwischen dem 20.-32. Tag, sondern befanden sich in ruhenden aber vitalen Larvenstadien, was auf eine Diapause hinweist. Die Schlupfphase der ersten Testserie könnte ab dem 22.02.04 beginnen und sich über 100 Tage erstrecken. Zwischen dem 08.03. und 18.03.04 schlüpften 6 *Aphelinus mali*, weitere Daten konnten für diesen Bericht nicht mehr erfasst werden. Aufgrund der geschlüpften Zehrwespen sowie der Sektionsergebnisse wird angenommen, dass sich bei Test 1 70-90% der *A. mali* in Diapause befanden.

Die Frage, ob es möglich ist, das im August geerntete Freilandmaterial bei einem Nützlingsbetrieb in Diapause zu versetzen, ist offensichtlich negativ zu beurteilen. Die Temperaturen im Freiland würden bei günstigen Parasitierungsbedingungen für die Blutlauszehrwespe sicher ≥ 24°C betragen, sodass anschließend in Klimakammern zu einem hohen Prozentsatz keine Diapause induziert werden kann.

Bei der Versuchsplanung hatte man diesen entscheidenden Einfluss der Temperatur zur Parasitierungsphase nicht erwartet. Durch den methodischen Unterschied zwischen den Versuchen von BONNEMAISON (1965) und den Versuchsserien bei der Firma Katz Biotech AG in Baruth 2003/2004 wurden Grenzen deutlich und somit die Möglichkeit für angepasste Strategien gegeben. Aufgrund dieser Erkenntnisse intensivierte man in diesem Projekt die Untersuchungen bezüglich Diapause-Induktion und Klimaführung. Weitere Versuche werden auf der Basis gewonnener Erkenntnisse in Eigenregie fortgesetzt.

Die Versuchs-Serie C sollte die Möglichkeiten und Probleme einer Lagerung ohne Diapause klären (Kontrolle). Bei ca. 4°C und einer rel. LF von 40-80% waren nach 6 Wochen ca. 90% der Mumien sowie der Aphelinen vertrocknet. Die Versuchsserie A1 wurde ersatzweise verwendet. Diese Mumien waren ohne Diapause in einem klimagesteuerten Lager untergebracht (5°C, rel. LF 70%, 12:12 Licht/Dunkel-Wechsel). Sektions- und Schlupfergebnisse der Zehrwespen deuten darauf hin, dass eine 7-wöchige Lagerzeit zu hohen Mortalitätsverlusten (ca. 60-70%) führen würde. Besonders bei den Larvenstadien gab es hohe Mortalitäten.

Bezüglich der Wiederausbringungsmodalitäten lässt sich sagen, dass die Schlupfraten von 98% bei Ausbringungskarten sowie auf Holz hoch ist und sich in der Endsumme kaum unterscheiden. Es ist jedoch offenbar mit einer geringen Schlupfverzögerung zu rechnen, wenn die Mumien auf Ausbringungskarten ausgebracht werden.

### 3.1.3.3 Untersuchungen zu den Nebenwirkungen von im Ökologischen Obstbau verwendeten Pflanzenbehandlungsmitteln auf die Blutlauszehrwespe

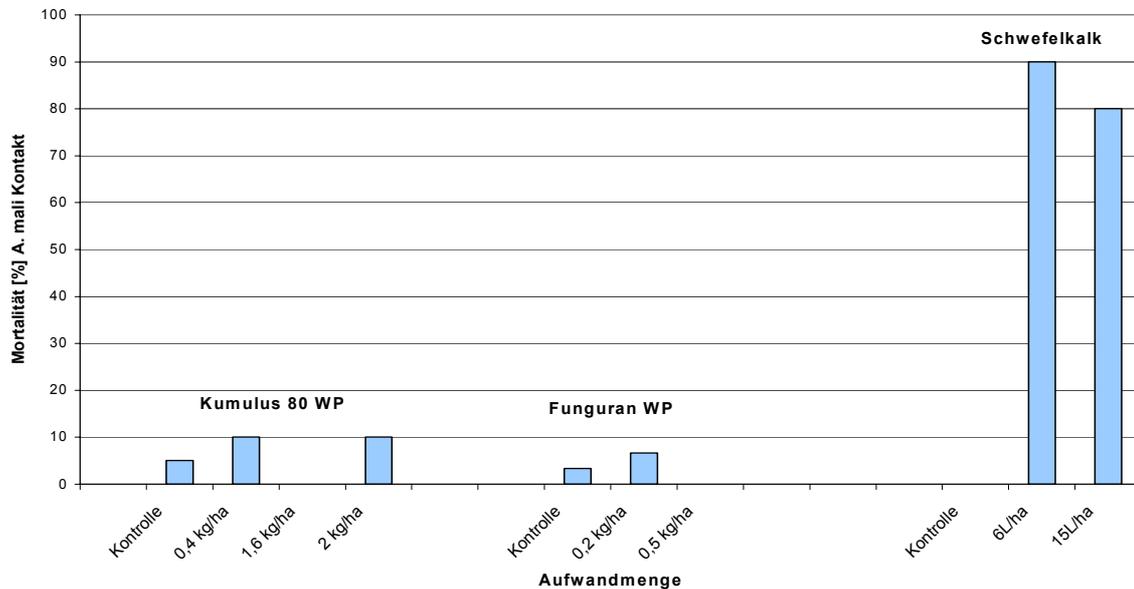


Abb. 37: Kontaktwirkung auf Glas von Kumulus (Netzschwefel), Funguran (Kupferoxychlorid) und Schwefelkalk (Calciumpolysulfid) bei *Aphelinus mali*.

Bei den Versuchen zu Nebenwirkungen von Schwefelpräparaten und Kupfer auf *Aphelinus mali* führten Kumulus und Funguran zu sehr geringen Mortalitäten von  $\leq 10\%$ . Schwefelkalk zeigte bei Kontakt auf Glas deutlich schädigende Wirkung auf *Aphelinus mali* (Abb. 37). Bei der Prüfung von Kumulus auf Glas ließen sich aus technischen Gründen maximal 2 kg/ha testen, weil für eine dickflüssigere Spritzbrühe das Durchlassvermögen der Spritzdüse am Potter Tower nicht ausreicht.

#### Diskussion

Beim Netzschwefel sollten zur Sicherheit noch höhere Aufwandmengen, bis zu 3kg/ha und m Kronenhöhe, untersucht werden. Außer beim Schwefelkalk ist bei keiner der geprüften Substanzen zu erwarten, dass sie im Freiland einen stark schädigenden Einfluss auf *Aphelinus mali* hat. Für eine bessere Einschätzung der Schwefelpräparate sollten Halbfreiland- oder Freilandversuche durchgeführt werden.

### 3.1.3.4 Erste Untersuchungen zur Darlegung der genetischen Diversität unterschiedlicher Populationen der Blutlauszehrwespe

#### DNA Extraktion

Trotz der geringen Körpergröße der untersuchten *Aphelinus mali*-Tiere gelang es, mit dem eingesetzten Protokoll aus den meisten Tieren zwischen 100 und 400 ng DNA von ausreichender Qualität für die durchzuführenden molekulargenetischen Analysen zu extrahieren.

#### AFLP-Analysen

In einem eingangs durchgeführten Primerscreening wurden insgesamt 7 verschiedene AFLP-Primerkombinationen mit einer unterschiedlichen Kombination von selektiven Nukleotiden getestet, um für die Genomgröße von *A. mali* geeignete Kombinationen zu bestimmen.

Für die Differenzierung von *A. mali*-Tieren aus unterschiedlichen geographischen Herkünften wurden 5 Primerkombinationen (E16/M17, E16/M18, E16/M19, E16/M25, E16/M35) ausgewählt, die in dem durchgeführten Screening scharfe und gleichmäßige Bandenmuster gezeigt hatten. In Abb. 38 sind AFLP-Bandenmuster von einigen *A. mali*-Tieren aus verschiedenen Herkünften dargestellt, die mit 2 verschiedenen Primerkombinationen erzielt wurden.

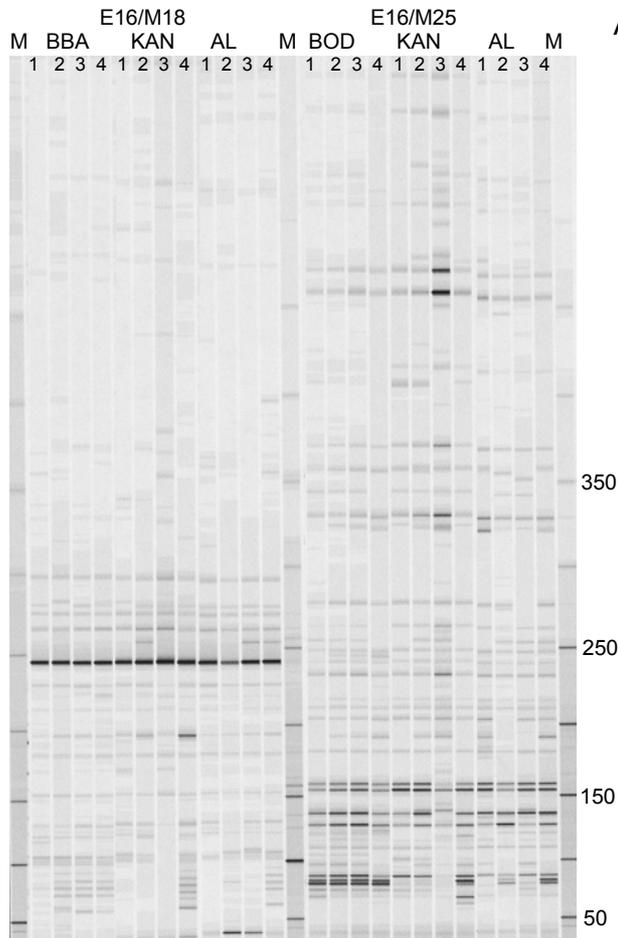


Abb. 38: AFLP-Bandenmuster von jeweils 4 *A. mali*-Tieren unterschiedlicher Herkunft mit 2 Primerkombinationen. BBA: Laborzucht; KAN: Kanada; AL: Altes Land; BOD: Bodensee. M bezeichnet einen Molekulargewichtsstandard (ALF sizer), die Größe einiger Banden ist angegeben (in bp).

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden insgesamt 36 *A. mali*-Tiere (6 Tiere von jeder Herkunft) in AFLP-Analysen untersucht. Die Größe der mit der Computer Software GelCompar ausgewerteten Banden lag zwischen 50 und 500 bp bei den Primerkombinationen E16/M17 und E16/M35 und zwischen 50 und 600 bp bei den Primerkombinationen E16/M18, E16/M19 und E16/M25. Von den mit den 5 eingesetzten Primerkombinationen erzielten Banden gingen durchschnittlich 57 (E16/M17 und E16/M35) bis 75 (E16/M25) Banden je Tier in eine Berechnung der genetischen Ähnlichkeiten mit ein. Anhand dieser Daten wurde eine binäre Matrix erstellt und die genetische Ähnlichkeit für alle paarweisen Isolatvergleiche nach DICE (1945) bestimmt.

Beim Vergleich der Tiere ließen sich Ähnlichkeitskoeffizienten zwischen 60 und 100 % ermitteln. Auf Basis dieser Ähnlichkeitskoeffizienten wurde eine Clusteranalyse nach dem UPGMA-Verfahren durchgeführt, um die Tiere entsprechend ihrer genetischen Ähnlichkeit in Gruppen zusammenzufassen. In Abb. 39a bis e sind diese Clusteranalysen für die einzelnen Primerkombinationen dargestellt.

Wenn alle mit den 5 Primerkombinationen erzielten Banden (insgesamt 314 Banden) mit Hilfe von GelCompar verrechnet wurden, dann lagen die nach DICE (1945) ermittelten genetischen Ähnlichkeiten zwischen den *A. mali*-Tieren aus verschiedenen Populationen zwischen 80 und 92 % (Abb. 40).

Insgesamt war in den Dendrogrammen keine eindeutige Auftrennung der Tiere nach ihrer geographischen Herkunft sichtbar. Eine Ausnahme bildeten Tiere der Herkunft Niederlande, die eine eigenständige Untergruppe bildeten (vgl. Abb. 39d und Abb. 40).

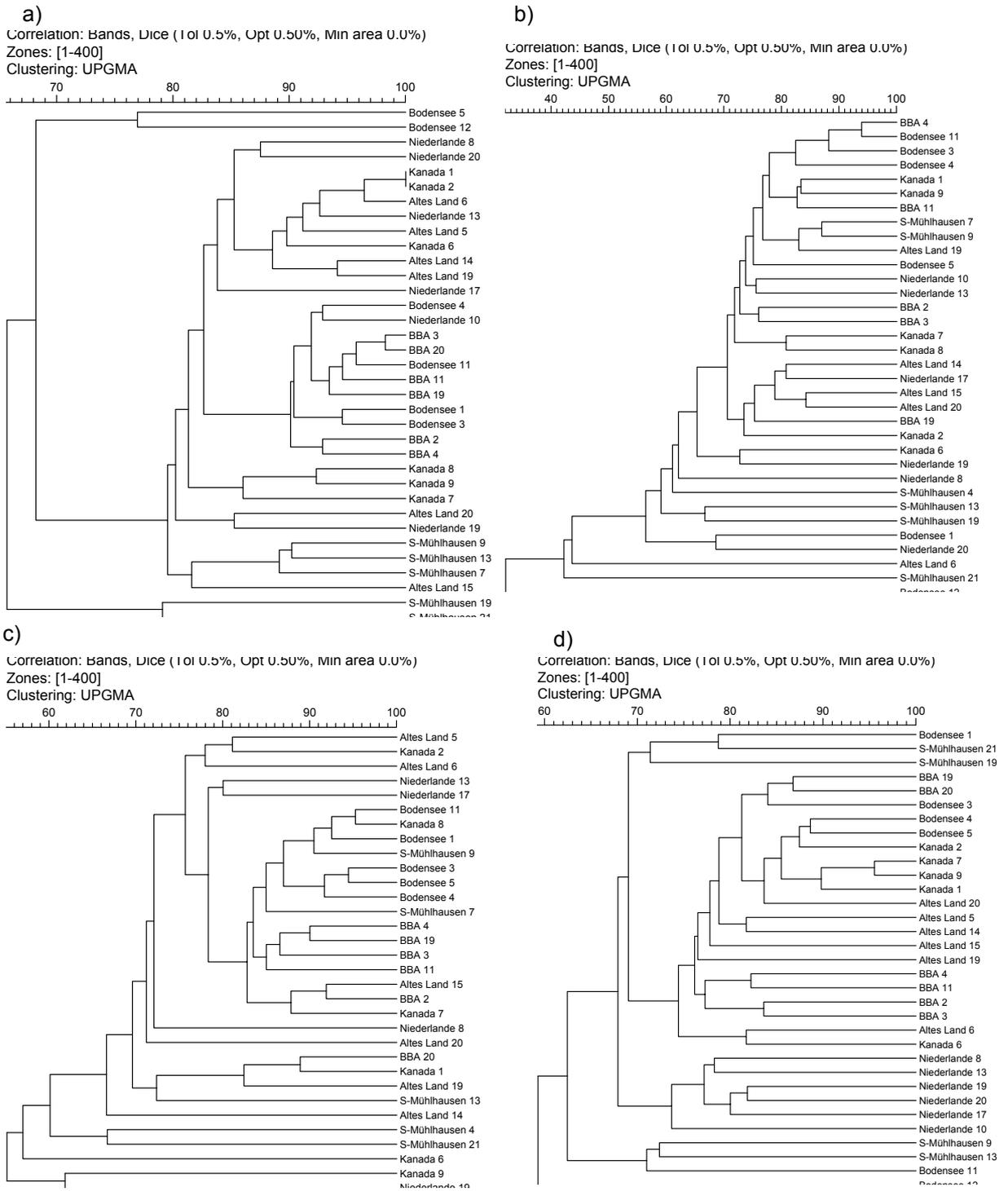


Abb. 39: Graphische Darstellung der genetischen Ähnlichkeiten (%) von *A. mali*-Tieren aus 6 verschiedenen geographischen Herkünften nach AFLP-Analyse mit 5 unterschiedlichen Primerkombinationen. Die Clusteranalyse wurde nach dem UPGMA-Verfahren durchgeführt. Datengrundlage bilden AFLP-Fragmente, die mit a) der Primerkombination E16/M17, b) der Primerkombination E16/M18, c) der Primerkombination E16/M19, d) der Primerkombination E16/M25 und e) der Primerkombination E16/M35 (siehe nächste Seite) erzeugt wurden.

Abb. 39 Fortsetzung.

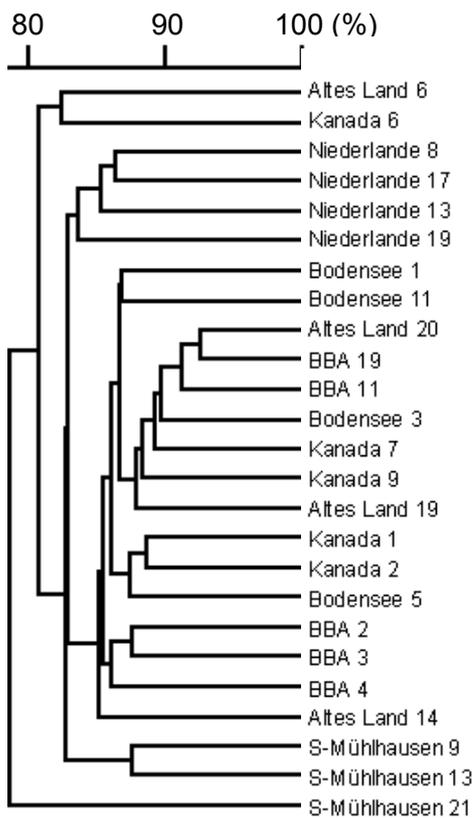
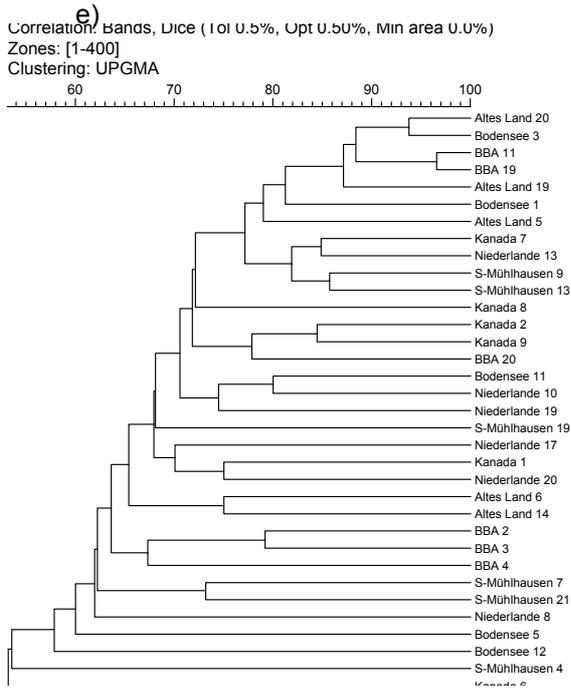


Abb. 40: Graphische Darstellung der genetischen Ähnlichkeiten (%) von *A. mali*-Tieren aus 6 verschiedenen geographischen Herkünften nach AFLP-Analyse mit 5 unterschiedlichen Primerkombinationen. Datengrundlage bilden 314 AFLP-Fragmente. Die Clusteranalyse wurde nach dem UPGMA-Verfahren durchgeführt.

Insgesamt zeigten die AFLP-Analysen aber, dass sich alle untersuchten *A. mali*-Tiere genetisch sehr ähnlich waren. Auffällig ist dabei, dass sich selbst die Tiere einer Laborzucht (BBA), von denen anzunehmen ist, dass sie aufgrund von Laborzuchtbedingungen genetisch sehr homogen sein sollten, nicht deutlich von den übrigen Freilandtieren unterschieden.

### PCR-RFLP der ITS2-Region

Mit Hilfe der eingesetzten Primer konnte unter den gewählten Bedingungen bei allen DNAs der untersuchten *A. mali*-Tiere eine spezifische Bande der ITS2-Region über eine PCR amplifiziert werden (Abb. 5). Diese Bande hatte bei allen Tieren (aus verschiedenen Herkünften) eine Größe von etwa 510 bp. Auffällig war das Auftreten einer kurzen zusätzlichen Bande (etwa 150 bp groß) bei den Tieren der Herkunft Niederlande. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung konnte allerdings nicht geklärt werden, um welche Genregion es sich bei dieser kurzen Bande handelte.

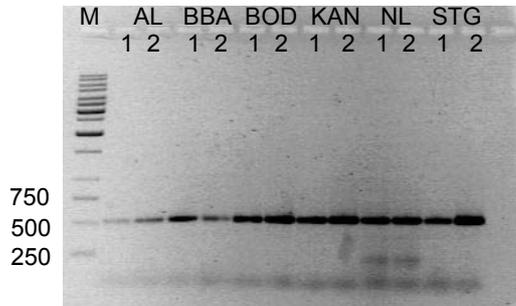


Abb.41: Amplifikation einer etwa 510 bp großen Bande der ITS2-Region bei jeweils 2 *A. mali*-Tieren aus unterschiedlichen geographischen Herkünften. AL: Altes Land; BBA: Laborzucht; BOD: Bodensee; KAN: Kanada; NL: Niederlande; STG: Stuttgart. M bezeichnet einen Molekulargewichtsstandard (1 kb Ladder), die Größe einiger Banden ist angegeben (in bp).

Nach Überprüfung einer gelungenen Amplifikation der ITS2-Region auf einem Agarosegel (Abb.41) wurde das PCR-Produkt mit drei unterschiedlichen Restriktionsenzymen verdaut. Mit den Enzymen *EcoRI* und *PstI* konnte das Produkt nicht gespalten werden. Das Restriktionsenzym *TaqI* spaltete das ITS2-PCR-Produkt bei allen Tieren einmal, so dass zwei Banden mit einer Größe von etwa 260 und 240 bp auf einem Agarosegel sichtbar waren. Zwischen den *A. mali*-Tieren aus unterschiedlichen geographischen Herkünften bestand hierbei kein Unterschied, d.h. ein Verdau des ITS2-PCR-Produktes mit *TaqI* war nicht zur Unterscheidung von Tieren einzelner Herkünfte geeignet.

### Diskussion

Insgesamt ist eine für Freilandsammlungen aus unterschiedlichen Regionen sehr große genetische Homogenität zu beobachten, die einzelnen Herkünfte unterscheiden sich nur unwesentlich. Einzige Ausnahme scheinen die Tiere aus den Niederlanden zu bilden, die sowohl nach AFLP-Analysen eine einzelne Untergruppe bilden (Abb. 4) als auch eine zusätzliche Bande nach Amplifikation der ITS2-Region zeigen (Abb. 5). Die Existenz verschiedener Biotypen kann nach diesen Untersuchungen nicht völlig ausgeschlossen werden. Sie weisen jedoch darauf hin, dass die untersuchten Tiere aus den verschiedenen Herkünften/Populationen relativ ähnlich sind und keine stark ausgeprägten regionalen Genotypen mit völlig unterschiedlichem Erbmateriale existieren. Die Untersuchungen von MOLS und BOERS (2001), die kanadische und holländische Biotypen mit unterschiedlichen Temperaturschwellen unterschieden, werden durch diese Ergebnisse nicht widerlegt. Die deutschen Blutlauszehrwespen wären dann aber eher dem kanadischen als dem holländischen Typus zuzuordnen. Bei der erwähnten Studie MOLS und BOERS (2001) ist grundsätzlich auch zu berücksichtigen, dass die Untersuchungen zum Einfluss der Temperatur auf die Blutlauszehrwespen nicht in einem Experiment gleichzeitig erhoben wurden sondern dass neu erhobene Daten zu den kanadischen Zehrwespen mit älteren Literaturdaten zu den holländischen Zehrwespen verglichen wurden.

### 3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse gehen direkt in die Beratungsempfehlung für die Ökologischen Obstbaubetriebe mit ein. In jedem Jahr wurde aufgrund der neuen Erkenntnisse die Beratungsempfehlung für die Betriebe zur Regulierung der Sägewespe überarbeitet. Bei den Treffen der Versuchsansteller war zu diesem Zweck auch die Beratung (Beratungsdienst Ökologischer Obstbau e.V., die anderen Beratungseinrichtungen waren auch als Versuchsansteller beteiligt) vertreten. Erfahrungen und Fragen aus der Praxis flossen so auch in die Versuchsanstellung mit ein.

Die Ergebnisse wurden so umgesetzt und angewendet. Sie wurden 2003 und 2004 an der Ökologischen Obstbautagung sowie an regionalen Veranstaltungen zum Ökologischen Obstbau der Praxis vorgestellt.

Außerdem wurde ein Foliensatz mit den Ergebnissen und der daraus abzuleitenden Beratungsempfehlung für die Beratung erstellt.

#### Publikationen

H. Bathon, J. Kienzle, K. Yamada, C.P.W. Zebitz, K.Klopp, J. Zimmer, P. Ternes, H. Vogt (2003): Untersuchungen zur Regulierung der Apfelsägewespe *Hoplocampa testudinea* Klug im Ökologischen Obstbau. Poster an der Entomologentagung der DGaE, Halle/Saale, 24.-28.3.2003.

Jutta Kienzle, Horst Bathon, Jürgen Zimmer, Karsten Klopp, Harald Rank; Kazuhisha Yamada, Claus P.W. Zebitz, Pia Ternes, Heidrun Vogt: Neue Ergebnisse zur Regulierung der Apfelsägewespe im Ökologischen Obstbau. *Öko-Obstbau* 1/03: 19-24

Kienzle, J.; Zimmer, J.; Klopp, K.; Maxin, P.; Yamada, K.; Bathon, H.; Zebitz, C.P.W.; Ternes, P.; Vogt, H.: Control of the apple sawfly *Hoplocampa testudinea* Klug in organic fruit growing and possible side effects of control strategies on *Aphelinus mali* Haldeman and other beneficial insects. Proceedings 11 th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit Growing, Weinsberg, 2004: 7-14.

Jutta Kienzle, Horst Bathon, Jürgen Zimmer, Karsten Klopp, Harald Rank; Kazuhisha Yamada, Claus P.W. Zebitz, Pia Ternes, Heidrun Vogt: Neue Ergebnisse zur Regulierung der Apfelsägewespe im Ökologischen Obstbau 2004. *Öko-Obstbau* 1/04, in Vorbereitung

Kienzle, J.; Bathon, H.; Zebitz, C.P.W.; Yamada, K.; Klopp, K.; Zimmer, J.; Vogt, H.; Ternes, P.: Regulierung der Apfelsägewespe mit Quassiaauszügen im Ökologischen Obstbau. Angemeldeter Beitrag zur 54. Deutschen Pflanzenschutztagung in Hamburg vom 20.-24.9.04.

## 4 Zusammenfassung

Ziel des Projekts war es, die bestehenden großen Unsicherheiten bezüglich Qualität und Terminierung, Kombinationsmöglichkeit mit anderen Präparaten sowie Nebenwirkungen auf die Blutlauszehrwespe und andere Nützlinge des traditionell zur Regulierung der Sägewespe eingesetzten Quassiaholzauszuges auszuräumen.

Des weiteren sollten mögliche Managementstrategien für eine Förderung der Blutlauszehrwespe auf ihre Praxistauglichkeit überprüft und gegebenenfalls optimiert werden.

Folgende Erkenntnisse wurden aus dem Projekt gewonnen und sind für die Praxis relevant:

- Quassia wirkt vor allem auf die Larven der Apfelsägewespe. Wichtig ist daher, dass Quassia ausgebracht wird, bevor die ersten Larven schlüpfen. Das Eistadium zum Ausbringtermin ist nicht von Bedeutung, die Eier müssen auch nicht direkt getroffen werden (d.h. eine Ausbringung kann, wenn die Blüte offen ist, auch vor Ende der Eiablage erfolgen).
- Die wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe Quassin und Neoquassin wirken unterschiedlich stark: Besonders bei älteren Larven ist die Wirkung von Neoquassin schlechter. Sie lässt sich auch durch eine höhere Aufwandmenge nicht verbessern.
- In verschiedenen Hölzern waren Quassin und Neoquassin in unterschiedlichem Verhältnis vorhanden.
- Zur Beurteilung der Qualität von Quassiaholz müssen Quassin und Neoquassin daher getrennt bewertet werden (Sekundärbefall!).
- Eine Empfehlung für die Selbstherstellung von Quassia mit möglichst hoher Ausbeute wurde erarbeitet.
- Eine Behandlung mit Quassia-Extrakt vor starkem Regen ist wirksam.
- Es gibt einerseits Hinweise, dass auch geringe Aufwandmengen schon sehr gut wirken, andererseits gibt es auch Fälle, wo erst sehr hohe Aufwandmengen (18 g/ha) eine ausreichende Wirkung zeigten. Hier sind noch weiterführende Untersuchungen notwendig, um der Praxis gesicherte Empfehlungen für den Einsatz niedrigerer Aufwandmengen geben zu können (Spritztechnik!).
- Zwei Behandlungen sind wohl in den meisten Fällen nicht notwendig, es muss aber noch untersucht werden, inwieweit zweimal behandelt werden muss, wenn bei der ersten Spritzung ein Teil der Blüten noch geschlossen ist.
- Die Kombination von Quassia mit NeemAzal-T/S scheint wenig sinnvoll, da Quassia auch den Sekundärbefall reduziert
- Bei Quassia-Behandlungen sind im Freiland keine Nebenwirkungen auf die Blutlauszehrwespe sowie den Gemeinen Ohrwurm, den Siebenpunkt-Marienkäfer und die Florfliege zu erwarten.
- Die Strategie, Blutlauszehrwespen bereits im Sommer in den Anlagen zu sammeln und ins Kühllager zu bringen, ist nicht praxistauglich, da diese Tiere im Kühllager die Zeit bis zum Frühling nicht überdauern können.
- Eine Induktion der Diapause und darauffolgende Lagerung früher Stadien, die im Freiland gesammelt wurden, ist auch unter den Bedingungen eines professionellen Nützlingszüchters nicht möglich, da die Temperatur bei der Eiablage bereits die Induktion der Diapause massgeblich beeinflusst, so dass mit Freilandmaterial aus dem Spätsommer fast nie eine Diapauseinduktion erreicht werden kann.
- Die Nebenwirkungen weiterer im Ökologischen Obstbau verwendeter Präparate auf Blutlauszehrwespen wurden in einem ersten Versuch abgeschätzt. Bei Netzschwefel- und Kupferpräparaten kann eine starke Nebenwirkung im Freiland weitgehend ausgeschlossen werden. Bei Schwefel-Kalk-Brühe sind weitere Untersuchungen notwendig, um eine Aussage über eine mögliche Schädigung der Zehrwespen im Freiland zu ermöglichen.
- Die Populationen der Blutlauszehrwespe aus verschiedenen Regionen in Deutschland, Holland und Kanada sind genetisch weitgehend homogen. Nur die holländische Population unterschied sich etwas von den anderen Herkünften. Es gibt bisher keine Hinweise auf stark unterschiedliche regionale Biotypen.

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

Die Gegenüberstellung erfolgt anhand der im Projektantrag formulierten wissenschaftlich-technischen Arbeitsziele.

- Überschlag über das quantitative Vorkommen der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe in einer Größeren Stichprobe von auf dem Markt angebotenen Quassiaholz: **Ziel erreicht.**
- Optimierung der Anleitung zur Selbsterstellung von Quassiaauszügen: **Ziel erreicht.**
- Ergebnisse zu den Effekten der wichtigsten aktiven Inhaltsstoffe von Quassia auf verschiedene Eireifungsstadien der Sägewespe (Terminierung, Anzahl Behandlungen), auf die Blutlauszehrwespe und andere relevante Nützlinge: **Ziel erreicht.**
- Erstellung einer Dosis-Wirkungs-Kurve mit definierten Quassia-Extrakten im Freiland: **Erste Ansätze, Ziel noch nicht vollständig erreicht.**
- Erarbeitung von ersten Anhaltspunkten zur Notwendigkeit von Doppelbehandlungen bei zwei Schlupfhöhepunkten der Sägewespe: **Erste Anhaltspunkte, aber noch keine definitive Aussage möglich.**
- Erarbeitung einer optimalen Kombinationsstrategie von Quassia mit NeemAzal-T/S (Kostenminimierung) unter Berücksichtigung der Nebenwirkungen auf Nützlinge: **Ziel erreicht, Kombination nicht notwendig.**
- Evaluierung einer Arbeitsversion eines Modells zur Embryonalentwicklung der Sägewespenlarven (Graf, Wädenswil) auf Tauglichkeit zur Integration in die Bestimmung des Einsatztermins von Quassia: **Erste Anhaltspunkte, wird von Praxis fortgeführt.**
- Evaluierung der Möglichkeit einer Optimierung der Effizienz der Blutlauszehrwespe durch Verfrühung des Schlupfes während der kühlen Frühsommerperiode durch „Warmstellen“: **Konnte witterungsbedingt nicht durchgeführt werden.**
- Evaluierung der Möglichkeit/Notwendigkeit, in den Regionen Material zur Überwinterung der Blutlauszehrwespe vor Saisonende zu entnehmen (zu Saisonende sind je nach Witterungsverlauf oft nur wenige Zehrwespen im zur Überwinterung geeigneten Stadium vorhanden): **Ziel erreicht, Verfahren definitiv nicht praktikabel.**

## 6 Literaturverzeichnis

- ALFORD, D.A. 1986: Farbatlas der Obstschädlinge. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart
- ASANTE S. K. & DANTHANARAYANA W. 1992: Development of *Aphelinus mali* an endoparasitoid of woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* at different temperatures. Entomol. Exp. Appl. 65: 31-37.
- ASANTE S. K. 1997: Natural enemies of the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) (Hemiptera: Aphididae): A review of the world literature. Plant Protection Quarterly. 12(4). 166-172.
- ASANTE S.K. 1995: Functional responses of the European earwig and two species of coccinellids to densities of *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) (Hemiptera: Aphididae). Journal of the Australian Entomological Society. 34(2). 105-109.
- ASANTE, S.K. & DANTHANARAYANA, W. 1992: Development of *Aphelinus mali* an endoparasitoid of woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* at different temperatures. Ent. Exp. Appl. 65: 31-37.
- ASANTE, S. K.; DANTHANARAYANA, W. 1990: Laboratory rearing of woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) (Hemiptera: Aphididae). Plant Protection Quarterly Vol. 5 (2) 1990.
- BAIER, B. 2001: Effects of Quassia products on predatory mite species. IOBC/WPRS Bulletin 24, 4, 39-46.

- BIGLER, F. & WALDBURGER, M. 1988: A semi-field method for testing the initial toxicity of pesticides on larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera, Chrysopidae). IOBC/WPRS Bulletin XI/4, 127-134.
- BLOKSMA, J.; WIJNEN, T.; BROUWER, G.; LARVANT, Q. 1994: Bestrijding van de appelzaagwesp met het plantaardige middel Quassia. Onderzoek Fruitteelt. Louis Bolk Instituut, Driebergen
- BONNEMAISON, L. 1965: Observations ecologiques sur *Aphelinus mali* Haldemann parasite du puceron lanigère *Eriosoma lanigerum* Hausmann). Ann. Soc. Ent. Fr. 1 (1): 143-176.
- BRADLEY, S.J., MURRELL, V.C., SHAW, P.W. & WALKER, J.T.S., 1997: Effect of orchard pesticides on *Aphelinus mali*, the Woolly Apple Aphid Parasitoid. Proc. 50th N. Z. Plant Protection Conf.: 218-222.
- CANDOLFI, M. P., BLÜMEL, S., FORSTER, R., BAKKER, F.M., GRIMM, C., HASSAN, S.A., HEIMBACH, U., MEAD-BRIGGS, M.A., REBER, B., SCHMUCK, R. & VOGT, H. (eds.) 2000: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. IOBC/WPRS, Gent.
- CHENG-TE, L.; YUN-PEI, W.; PENG-GI, T. 1960: Investigations on the biology and utilization of *Aphelinus mali* Hald., the specific parasite of the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* Hausm. Acta entomologica sinica 10: 1-39.
- COHEN, H., HOROWITZ, A. R., NESTEL, D. & ROSEN, D., 1996: Susceptibility of the Woolly Apple Aphid Parasitoid, *Aphelinus mali* (HYM.: Aphelinidae), to common pesticides used in apple orchards in Israel. Entomophaga 41: 225-233.
- DAIDO, M.; FUKAMIYA, N.; OKANO, M.; TAGAHARA, K.; HATAKOSHI, M. & YAMAZAKI, H. 1993: Antifeedant and insecticidal activity of Quassionids against Diamondback Moth (*Plutella xylostella*). Biosci. Biotech. Biochem. 57: 244-246
- DICE L.R., 1945: Measures of the amount of ecological association between species. Ecology 26: 297-302.
- DICKER, G.H.L. 1953: Some notes on the biology of the apple sawfly, *Hoplocampa testudinea* (Klug). The Journal of Horticultural Science Vol. XXVIII: 238-245
- DOU, J.D. MCCHESENEY, R.D. SINDELAR, D. K. GOINS, I. A. KHAN, L. A. WALKER (1996): Int. J. of Pharmacognosy 34: 349-354
- EGGLER, B.D. & GROß, A. 1996: Quassia-Extrakt: neue Erkenntnisse bei der Regulierung von Schaderregern im Obstbau. Mitt. d. Biol. Bundesanst., 321, 425.
- EVENHUIS, H.H. 1958: Ecological investigations on the woolly aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausm), and its parasite *Aphelinus mali* (Hald.) in the Netherlands. Mededeling No. 160. Instituut vor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, Nederland, 103 pages.
- GOLBA, B., 2002: Alternativen zum Einsatz von kupferhaltigen Präparaten im Apfelanbau. Berichte aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heft 109.
- GRAF, B.; HOEPLI, H.U.; HOEHN, H. 1994: Apfelsägewespe: Folgen nun die "mageren" Jahre. Obst- und Weinbau 15: 348-349.
- GRAF, B.; HOEPLI, H.U.; HOEHN, H.; HABIB, R.(ED.); BLAISE, P. 1996: Modelling spring emergence of the apple sawfly *Hoplocampa testudinea* Klug (Hymenoptera, Tenthredinidae). Proceedings of the 4th international symposium on computer modelling in fruit research and orchard management, Avignon, France, 4-8 September 1995. Acta-Hort. 416: 263-271.
- HÖHN, H., HÖPLI, H. U. & Graf, B., 1996: Quassia und Neem: exotische Insektizide im Obstbau. Schweiz. Z. Obst-Weinbau, 3: 62-63.
- JANSONIUS, P. 2001: Praxisergebnisse aus den Niederlanden. Dokumentation der Veranstaltung der ÖON am 18.1.2001 in Jork; Hrsg. ÖON, 2001: 38-39.
- KIENZLE, J. & SCHULZ, C. 2001: Strategien zur Regulierung der Apfelsägewespe. In: Dokumentation der Veranstaltung der ÖON zur Apfelsägewespe am 18.1.2001 in Jork; Hrsg. ÖON, 2001: 38-39.
- KIENZLE, J.; KOPP, B. & SCHULZ, C. 2002: Control of the apple sawfly (*Hoplocampa testudinea*) with *Quassia amara*: Quality and combination with NeemAzal-T/S. In: Proceedings of the 10th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing and Viticulture at Weinsberg. Im Druck
- LENFANT, C & SAUPHANOR, B. 1992: Des perce-oreilles dans les vergers, qu'en faire? Phytoma-La défense des végétaux 445, 44-52.
- MEAD-BRIGGS M.A., BROWN K., CANDOLFI M.P., COULSON M.J.M., MILES M., MOLL M., NIENSTEDT K., SCHULD M., UFER A. & MCINDOE E.: A laboratory test for evaluating the effects of plant protection products on the parasitic wasp, *Aphidius rhopalosiphii* (DeStephani-Perez) (Hymenoptera: Braconidae). In: Candolfi et al.2000: Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. IOBC/WPRS, Gent : 13-23.
- MOLS P.J.M & BOERS J.M.: Comparison of a Canadian and a Dutch strain of the parasitoid *Aphelinus mali* (Hald.) (Hym., Aphelinidae) for control of woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* (Hausmann) (Hom., Aphididae) in the Netherlands: A simulation approach. Journal of Applied Entomology. [print] 125(5). June, 2001. 255-262.
- MUELLER, T.F., BLOMMERS, L.H.M. & MOLS, P.J.M. 1988: Earwig (*Forficula auricularia*) predation on the woolly apple aphid (*Eriosoma lanigerum*). Entomol. Exp. Appl. 47: 145-152.

- MUELLER, T.F.; BLOMMERS, L.H.M. & MOLS, P.J.M. 1992: Woolly apple aphid (*Eriosoma lanigerum* Hausm., Hom., Aphidae) parasitism by *Aphelinus mali* Hal. (Hym., Aphelinidae) in relation to host stage and host colony size, shape and location. *Journal of Applied Entomology* 114, 143-154.
- RAVENSBERG, W.J. 1981: The natural enemies of the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum* (Hausm.)(Homoptera: Aphididae), and their susceptibility to diflubenzuron. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 46, 437-441.
- REINEKE A. & KARLOVSKY P. 2000: Simplified AFLP protocol: replacement of primer labeling by the incorporation of  $\alpha$ -labeled nucleotides during PCR. *BioTechniques* 28: 622-623.
- REINEKE A., KARLOVSKY P. & ZEBITZ C.P.W., 1998: Preparation and purification of DNA from insects for AFLP-analysis. *Insect Molecular Biology* 7: 95-99.
- SAUPHANOR, B. & STÄUBLI, A. 1994: Evaluation au champ des effets secondaires des pesticides sur *Forficula auricularia*: Validation des résultats de laboratoire. *IOBC/WPRS Bulletin* 17, 10, 83- 88
- SAUPHANOR, B., BLAISINGER, P & SUREAU, F. 1992: Méthode de laboratoire pour évaluer l'effet des pesticides sur *Forficula auricularia* L. (Dermaptera: Forficulidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 15 (3): 117-121.
- SAUPHANOR, B., BLAISINGER, P. & SUREAU, F. 1992: Méthode de laboratoire pour évaluer l'effet des pesticides sur *Forficula auricularia* L. (Dermaptera: Forficulidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 15, 3, 117- 121.
- SCHMUCK, R., CANDOLFI, M.P., KLEINER, R., MEAD-BRIGGS, M., MOLL, M., KEMMETER, F., JANS, D., WALTERSDORFER, A. & WILHELMY, H. 2000: A laboratory test system for assessing effects of plant protection products on the plant dwelling insect *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). In: M.P. CANDOLFI, S. BLÜMEL & R. FORSTER et al. (eds.): Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. *IOBC/WPRS, Gent*, 45-56.
- SNEATH P.H.A.. & SOKAL R.R., 1973: Numerical Taxonomy. Freeman and Company, San Francisco.
- SOLOMON, M.G., CROSS, J.V., FITZGERALD, J.D., Campbell, C.A.M., Jolly, R.L. Olszak, R.W. Niemczyk, E. & Vogt, H. 2000: Review: Biocontrol of pests of apples and pears in Northern and Central Europe: 3. Predators. *Biocontrol Science and Technology* 10, 91-128.
- SPRENGEL, L. 1930: Stand der Kenntnisse über die biologische Bekämpfung der Blutlaus (*Eriosoma lanigerum* Hausm.) mit *Aphelinus mali* Hald. in Europa. *Die Gartenbauwissenschaft* 4, Heft 1, 11-37.
- TERNES, P., CANDOLFI, M.P., UFER, A. & VOGT, H. 2001: Influence of leaf substrates on the toxicity of selected plant protection products to *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae) and *Aphidius rhopalosiphii* DeStefani Perez (Hymenoptera: Aphidiidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 24 (4), 7-15.
- TRIMBLE, R.M.; BLOMMERS, L.H.M.; HELSEN, H.H. 1990: Diapause termination and thermal requirements for postdiapause development in *Aphelinus mali* at constant and fluctuating temperatures. *Entomol. exp. appl.* 56: 61-69.
- VILLALOBOS, R., MARMILLOD, D., OCAMPO, R., MORA, G. & ROJAS, C., 1999: Variations in the Quassin and Neoquassin content in *Quassia amara* (Simaroubaceae) in Costa Rica : Ecological an management implications. *Acta Hort. (ISHS)* 502: 369-376.
- VOGT, H. & JUST, J. 2000: Auswirkung von *Quassia*-Präparaten auf die Florfliege, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 376: 441-442.
- VOGT, H. & JUST, J. 2000: Auswirkung von *Quassia*-Präparaten auf die Florfliege, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 376, 441-442.
- VOGT, H. 2000: Sensitivity of non-target arthropod species to plant protection products according to laboratory results of the IOBC WG 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *IOBC/WPRS Bulletin* 23 (9): 3-15.
- VOGT, H. 1998a. Erarbeitung, Optimierung und Validierung von Methoden zur Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Nutzorganismen am Beispiel von *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae). *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 346:69-81
- VOGT, H. (Hrsg.) 1998b: 100 Jahre Pflanzenschutzforschung. Pflanzenschutz und Naturhaushalt. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtsch.* 346, 109 Seiten.
- VOGT, H. 2000: Sensitivity of non-target arthropod species to plant protection products according to laboratory results of the IOBC WG 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *IOBC/WPRS Bulletin* 23 (9), 3-15.
- VOGT, H. 2001: Effects of Quassia products on *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera, Chrysopidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 24 (4), 47-52.
- VOGT, H., BIGLER, F., BROWN, K., CANDOLFI, M.P., KEMMETER, F., KÜHNER, CH., MOLL, M., TRAVIS, A., UFER, A., VIÑUELA, E., WALDBURGER, M. & WALTERSDORFER, A. 2000: Laboratory method to test effects of plant protection products on larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). In: M.P. Candolfi, S. Blümel & R. Forster et al. (eds.): Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. *IOBC/WPRS, Gent*, 27-44.
- WICHTL, M. 1997: Teedrogen. Stuttgart, 667 S.
- ZIJP, J.P. & BLOMMERS, L.H.M. 1997: Prediction of flight of apple sawfly *Hoplocampa testudinea* using temperature sums. *Entomol. Experim. et Appl.* 84: 71-75.