

## Biologische Bekämpfung von Drahtwürmern mit entomopathogenen Pilzen

Eckard, S.<sup>1</sup>, Ansari, M.A.<sup>2</sup>, Schweizer C.<sup>1</sup>, Butt, T.M.<sup>2</sup> und Grabenweger, G.<sup>1</sup>

**Keywords:** Drahtwurm, *Agriotes*, Kartoffel, *Metarhizium anisopliae*, Virulenz

### Abstract

We investigated the virulence of three European isolates of the entomopathogenic fungus (EPF) *Metarhizium anisopliae* against three wireworm species which are important pests of arable crops and vegetables in Europe: *Agriotes lineatus*, *A. obscurus* and *A. sputator*. In laboratory experiments, up to 90 % of the wireworms were killed by the fungus, depending on the fungal isolate and the wireworm species. Speed of kill was generally low with first wireworms showing unambiguous signs of fungal infection after two to three weeks. Maximum mortality rates were reached after six to eight weeks post inoculation. The next steps of this investigation will be to determine the most suitable fungal isolate and the validation of the laboratory results under greenhouse and field conditions. The aim of the study is to develop an easily applicable formulation with the most effective EPF isolate as the main active ingredient. In addition, applications of the EPF will be combined with entomoparasitic nematodes (EPNs) and repellent semiochemicals. Possible synergistic interactions between EPFs and EPNs or repellents may contribute significantly to improved biological control of wireworms.

### Einleitung und Zielsetzung

Drahtwürmer, die im Boden lebenden Larven der Schnellkäfer, verursachen wirtschaftlich bedeutsame Schäden im Ackerbau, v.a. in Kartoffeln (Keiser *et al.* 2002). Die drei dominierenden Drahtwurmart in der Schweiz wie auch in anderen europäischen Regionen sind *Agriotes lineatus*, *Agriotes obscurus* und *Agriotes sputator* (Burghause and Schmitt 2011, Jossi *et al.* 2008, Parker and Howard 2001). Bisher wurden Drahtwürmer in erster Linie mit chemischen Bodeninsektiziden bekämpft. Viele dieser Insektizide verlieren jedoch in naher Zukunft ihre Zulassung und wirksame Alternativen sind bislang nicht verfügbar (siehe Annex I Liste EU 1107/2009/EG).

Im Boden lebende Pilze, die dem Artenkomplex *Metarhizium anisopliae* zugeordnet werden, sind natürliche Pathogene vieler Insekten und ihrer Larven, darunter auch Drahtwürmer (Kölliker *et al.* 2011). Die Virulenz dieser Pilze gegenüber verschiedenen Insekten variiert je nach Pilzstamm (Ansari *et al.* 2009), weshalb nur ausgewählte Stämme mit einer hohen Virulenz gegen einen bestimmten Zielorganismus als aussichtsreiche Kandidaten für die biologische Schädlingsbekämpfung in Frage kommen (Kabaluk and Ericsson 2007, Kabaluk *et al.* 2007).

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, die Virulenz dreier verschiedener Stämme von *M. anisopliae* an den oben genannten drei Schnellkäfer-Arten zu testen.

<sup>1</sup> Eidgenössische Forschungsanstalt Agroscope, Reckenholzstrasse 191, 8046 Zürich, corresponding author: Sonja.Eckard@art.admin.ch

<sup>2</sup> Department of Biosciences, College of Science, Swansea University, Singleton Park, Swansea, SA2 8PP, UK

Die Ergebnisse sollen Aufschluss darüber geben, ob einer dieser Pilzstämme zur biologischen Kontrolle der Drahtwürmer im Kartoffelbau eingesetzt werden könnte. Die Untersuchungen werden im Rahmen des EU-FP7-Projekts „INBIO SOIL“ weitergeführt. Das Projekt hat das Ziel, hochwirksame biologische Schädlingsbekämpfungsmittel gegen bedeutende Bodenschädlinge zu entwickeln. Eine Steigerung der Wirksamkeit soll einerseits durch innovative Formulierungstechnologien und andererseits durch die Nutzung von synergistischen Effekten erreicht werden. Letztere können durch einen kombinierten Einsatz von entomopathogenen Pilzen mit entomoparasitischen Nematoden oder mit repellenten Pflanzeninhaltsstoffen erzielt werden.

## Methoden

Die für die Virulenztests herangezogenen Larven von *A. lineatus*, *A. obscurus* und *A. sputator* entstammen einer Laborhaltung, welche im Mai und Juni 2012 mit Schnellkäfern aus in Naturwiesen aufgestellten Fallen etabliert wurde (nach Kölliker *et al.* 2009). Die separate Anzucht der Larvengeneration in Käfigen, die mit eindeutig bestimmten Adulten besetzt wurden, erlaubt die sichere Unterscheidung der Versuchstiere auf Artniveau.

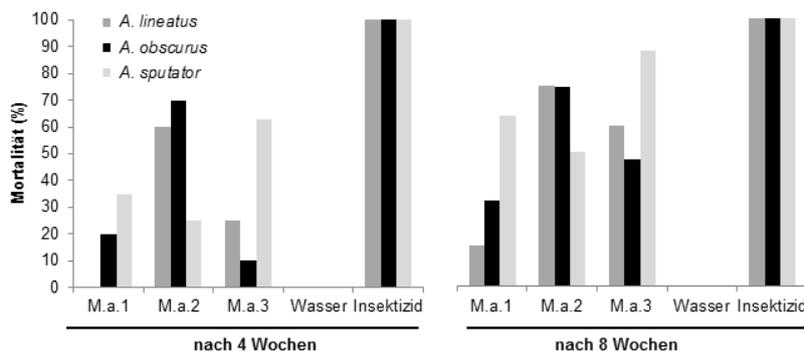
Bei den getesteten Stämmen von *M. anisopliae* handelt es sich um europäische Isolate von unterschiedlichen Wirtstieren: M.a.1 stammt aus Österreich und wurde von einem Apfelwickler (*Cydia pomonella*) isoliert, M.a.2 und M.a.3 wurden in der Schweiz bzw. in Großbritannien gefunden und stammen von einem Humusschnellkäfer (*A. obscurus*) bzw. einem Saatschnellkäfer (*A. lineatus*).

Von den Pilzstämmen wurden Sporensuspensionen mit einer Konzentration von  $10^8$  Konidien/ml in Leitungswasser mit 0,03 % Tween®80 angesetzt. Jeweils zehn Larven einer Art wurden 20 Sekunden in der Sporensuspension geschwenkt, durch ein Sieb gegossen und zum Entfernen überschüssiger Flüssigkeit kurz auf ein Filterpapier gebracht. Von dort wurden die Drahtwürmer einzeln in Plastikdosen mit 30 g feuchter, nicht steriler Ackererde überführt und mit Karottenscheiben gefüttert. Die Dosen wurden in einer verschlossenen Box bei 23°C und 65 % relativer Luftfeuchte im Dunkeln inkubiert. Als Kontrollen wurden jeweils zehn Larven pro Art mit Leitungswasser/Tween®80 bzw. mit einem Insektizid (Wirkstoff Ethoprophos in der Anwendungskonzentration von 60 kg/ha) behandelt. Binnen acht Wochen wurden die Dosen wöchentlich auf tote Larven untersucht. Tote Larven wurden solange aufbewahrt, bis die Todesursache (z.B. Verpilzung mit *M. anisopliae*) eindeutig erkennbar war. Das Experiment wurde ein weiteres Mal wiederholt.

## Ergebnisse

Die Pilzapplikation zeigte, abhängig vom eingesetzten Isolat und von der behandelten Drahtwurmart, sehr unterschiedliche Wirksamkeit. Der Stamm M.a.2 tötete im Versuchszeitraum 75 % der Larven von *A. lineatus* und *A. obscurus* und zeigte somit die höchste Virulenz gegen diese beiden Arten. Die Larven von *A. sputator* waren hingegen weniger empfindlich gegen die Behandlung mit M.a.2. Wie ein Vergleich der beiden Zeitpunkte in Abb. 1 zeigt, erreichte die Pilzbehandlung gegen *A. obscurus* und *A. lineatus* bereits nach vier Wochen schon eine Wirksamkeit von 70 % bzw. 60 %, während die Wirkung gegen *A. sputator* deutlich zeitverzögert einsetzte und bis zum Ende nur ein Niveau von 50 % erreichte. Im Gegensatz dazu zeigte M.a.3 gegen *A. sputator* bereits nach vier Wochen eine hohe Wirksamkeit von mehr als 60 %, nach acht Wochen sogar knapp 90 %, konnte jedoch gegen die anderen beiden Draht-

wurmarten bis zum Ende des Versuchszeitraumes nur ca. 50 % Wirksamkeit erreichen. Die Wirksamkeit von M.a.1 war mit 60 % nur gegen *A. sputator* nennenswert, die Mortalitätsraten der anderen beiden Drahtwurmartarten blieben acht Wochen nach der Behandlung auf niedrigem Niveau (Abb. 1).



**Abbildung 1: Mortalitätsraten der drei *Agrotis*-Arten vier und acht Wochen nach der Behandlung mit drei verschiedenen Stämmen des *Metarhizium anisopliae*-Komplexes (M.a.1-3), Wasser mit 0,03 % Tween® 80 (Kontrolle) und einem Insektizid (Ethoprophos).**

### Diskussion und Schlussfolgerungen

Im Laborversuch haben alle drei getesteten Pilzstämmen eine gewisse Virulenz gegen bestimmte Drahtwurmartarten bewiesen. Das erfolgversprechendste Isolat ist M.a.2 mit seiner hohen Virulenz gegen zwei der bedeutendsten Drahtwurmartarten in Europa, *A. lineatus* und *A. obscurus*. Die Wirkung der Pilzbehandlung manifestiert sich allerdings erst einige Wochen nach der Applikation. Für die Bekämpfung akuter Drahtwurmp Probleme in der laufenden Saison ist diese Zeitspanne sehr lang. Andererseits können sich die entomopathogenen Pilze im Boden etablieren und in der Folge über Jahre hinweg wirksam bleiben (Enkerli *et al.* 2004, Pilz *et al.* 2011). Mit einer einzigen Behandlung könnte daher eine dauerhafte Reduktion von Drahtwurmpopulationen erreicht werden.

Einer verminderten Wirksamkeit von *Metarhizium* unter Feldbedingungen z. B. aufgrund niedrigerer Temperaturen und Bodenfeuchte als unter Laborbedingungen (Kabaluk and Ericsson 2007) kann mit neuen Formulierungstechnologien entgegen gewirkt werden, wie sie im erwähnten Projekt entwickelt werden.

Außerdem werden zukünftige Untersuchungen zeigen, ob das Pilzisolat gemeinsam mit entomoparasitischen Nematoden oder pflanzlichen Repellentien ausgebracht werden kann. Diese Kombinationen können einen synergistischen, d. h. mehr als additiven Effekt haben und die Wirksamkeit der Behandlung gegen die Drahtwürmer deutlich erhöhen (Shah *et al.* 2007). Beide Ansätze, innovative Formulierungen und Kombinationen des Pilzisolats mit Nematoden oder Repellentien, werden in den kommenden drei Jahren im Rahmen des Projekts „INBIOSOIL“ getestet und könnten die biologische Drahtwurmbekämpfung einen entscheidenden Schritt voranbringen.

## Danksagung

Die Untersuchungen werden im Rahmen des EU-FP7-Projektes „INBIOSOIL“ durchgeführt und von der Europäischen Gemeinschaft kofinanziert.

## Literatur

- Anonymous, EU (2009): Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln und zur Aufhebung der Richtlinien 79/117/EWG und 91/414/EWG des Rates.
- Ansari, M. A., Evans M. and Butt T. M. (2009): Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop Protection* 28: 269-272
- Burghause, F. and Schmitt M. (2011): Monitoringergebnisse der Schnellkäfergattung *Agriotes* (Elateridae, Coleoptera) in den Jahren 2008 bis 2010 in Rheinland-Pfalz. *Gesunde Pflanzen* 63: 27-32
- Enkerli, J., Widmer F. and Keller S. (2004): Long-term field persistence of *Beauveria brongniartii* strains applied as biocontrol agents against European cockchafer larvae in Switzerland. *Biological Control* 29: 115-123
- Jossi, W., Schweizer C. and Keller S. (2008): Click-beetle species and biological control of wireworms. *Agrarforschung* 15: 76-81
- Kabaluk, J. T. and Ericsson J. D. (2007): Environmental and behavioral constraints on the infection of wireworms by *Metarhizium anisopliae*. *Environmental Entomology* 36: 1415-1420
- Kabaluk, J. T., Vernon R. S. and Goettel M. S. (2007): Mortality and infection of wireworm, *Agriotes obscurus* [Coleoptera: Elateridae], with inundative field applications of *Metarhizium anisopliae*. *Phytoprotection* 88: 51-56
- Keiser, A., Häberli M., Schnyder E., Berchier P. and Häni F. (2002): Qualitätssicherung im Kartoffelbau. *Agrarforschung* 9: 322-327
- Kölliker, U., Biasio L. and Jossi W. (2011): Potential control of Swiss wireworms with entomopathogenic fungi. *IOBC/wprs Bulletin* 66: 517-520
- Parker, W. E. and Howard J. J. (2001): The biology and management of wireworms (*Agriotes* spp.) on potato with particular reference to the U.K. *Agricultural and Forest Entomology* 3: 85-98
- Pilz, C., Enkerli J., Wegensteiner R. and Keller S. (2011): Establishment and persistence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in maize fields. *Journal of Applied Entomology* 135: 393-403
- Shah, F. A., Ansari M. A., Prasad M. and Butt T. M. (2007): Evaluation of black vine weevil (*Otiorhynchus sulcatus*) control strategies using *Metarhizium anisopliae* with sublethal doses of insecticides in disparate horticultural growing media. *Biological Control* 40: 246-252