

**ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR LEBENSMITTEL-
VETERINÄR- UND AGRARWESEN**



„Landwirtschaft in der Zukunft – alles digital“



Tagungsbericht 2021

BERICHT

ALVA – Jahrestagung 2021

„Landwirtschaft in der Zukunft – alles digital“

4. - 5. Oktober 2021

Tagungsort
LFZ Franzisco Josephineum,
Schloß Weinzierl 1
3250 Wieselburg-Land

Tel: +43 7416 52437 0

Fax: +43 7416 52437-49

www.josephineum.at

Impressum

Herausgeber

Arbeitsgemeinschaft für Lebensmittel, Veterinär- und Agrarwesen

Präsident

Univ.-Doz. Dr. Gerhard Bedlan

Für den Inhalt verantwortlich

Die Autorinnen und Autoren

Zusammengestellt von

Mag. Astrid Plenk

ISSN 1606-612X

**Ganzheitlicher Einsatz des entomopathogenen Pilzes
Metarhizium brunneum BIPESCO 5 zur biologischen Kontrolle
des Rübenderbrüssler (*Asproparthenis punctiventris*)**

***Holistic approach of the entomopathogenic fungus Metarhizium brunneum
BIPESCO 5 for biological control of
sugar-beet weevil (*Asproparthenis punctiventris*)***

Maria Zottele¹, David Remesperger¹, Martina Mayrhofer²,
Herbert Eigner² & Hermann Strasser¹

Einleitung

Der Rübenderbrüssler, einer der wichtigsten Schadinsekten beim Anbau der Zuckerrübe, verursacht hohe Verluste in den niederösterreichischen Zuckerrübenanbaugebieten. Das Insekt gilt als Doppelschädling (sowohl Blätter als auch Rübenkörper werden von den Käfern beziehungsweise Larven geschädigt), der vor allem in trockenen und warmen Jahren massenhaft auftritt (Tielecke 1952) und die Ernte ganzer Felder innerhalb kürzester Zeit zerstört. Obwohl bereits Ende des 19. Jahrhunderts eine biologische Kontrolle des Schädlings mithilfe von insektentötenden Pilzen vorgeschlagen (Metschnikoff 1880) und untersucht wurde (Krassiltschik 1888), wurde dieser Ansatz weitestgehend vernachlässigt. Die damals verwendete Pilzart, heutzutage identifiziert als *Metarhizium brunneum*, ist in Österreich als Pflanzenschutzmittel gegen den Gartenlaubkäfer (*Phyllopertha horticola*) und Junikäfer (*Amphimallon solstitiale*) zugelassen. In dieser Studie soll nachgewiesen werden, ob sich der insektentötende Pilz *M. brunneum* für einen ganzheitlichen Einsatz zur Bekämpfung der Käfer und Larven eignet. Neben einer populationsregulierenden Wirkung des Pilzes sollen auch die indigenen entomopathogenen Pilzantagonisten im Boden bestimmt bzw. charakterisiert werden.

Material und Methoden

Versuchsflächen und Applikation: Insgesamt wurden 14 Ackerflächen in Niederösterreich untersucht. Alle Felder hatten eine Mindestgröße von 0,5 ha und wurden in den Jahren 2019 bis 2021 mehrmals beprobt und behandelt. Die Produkte GranMetTM-P Granulat und GranMetTM-WP Sporenpulver, auf Basis des Pilzes *M. brunneum* BIPESCO 5, wurden von der Firma Agrifutur s.r.l. hergestellt und entsprechend der jeweiligen Formulierung mit Düngerstreuer und Kreiselegge bzw. Rücken- oder Sattelspritze in den Frühjahren 2019, 2020 und 2021 auf den Flächen appliziert. Als präventiver Ansatz gegen die Larven wurde das Granulat flächendeckend mit einer Aufwandsmenge von 100 kg ha⁻¹ in den Boden eingebracht. In den Sprühversuchen wurden die Blätter der Zuckerrüben sowie die Fallrillen, welche gegen das Einwandern des Käfers um die Ackerflächen gezogen wurden, mit einer Sprühformulierung des Pilzes behandelt. Die Fallrillen wurden mit einer Dichte von 2 x 10¹³ Sporen ha⁻¹ und die Zuckerrübenblätter mit 3 x 10⁵ Sporen cm⁻² besprüht.

Probennahme - *Metarhizium*- Monitoring: Die *Metarhizium* Abundanz wurde zu Beginn und am Ende der Pflanzensaison erhoben. Dafür wurde mithilfe eines Rillenbohrers eine Mischprobe aus den Feldern entnommen (> 50 Einstiche pro Hektar) und die *Metarhizium* spp. Dichte in Kolonienbildenden Einheiten (KBE) pro Gramm Boden Trockengewicht bestimmt (Laengle et al., 2005). Zudem erfolgte eine Genotypisierung ausgewählter *Metarhizium* Isolate mittels SSR PCR Methode (Mayerhofer et al. 2015).

Wirksamkeit Prüfung: Auf zwei Zuckerrübenstandorten wurden Käfigsysteme aufgebaut und die Pflanzen mit einer BIPESCO 5 Sporendispersionsformulierung behandelt (negative Kontrolle: sporenfreie Suspension). Anschließend wurden 20 Käfer in das Fallensystem eingebracht und am nächsten Tag wieder abgesammelt und bis zu 8 Wochen in Quarantäne gehalten. Verendete Individuen wurden auf Verpilzung mit dem applizierten Stamm untersucht. Zudem wurden Pilzisolale im Biotest (Wirkstoffkonzentration 5 x 10⁶ Sporen pro Käfer) unter Laborbedingungen zur Bestätigung der Virulenz untersucht.

Indigene Antagonisten: Von unbehandelten Kontrollflächen wurden Käfer eingesammelt und ebenfalls in Quarantäne gehalten, um indigene Pilz-Antagonisten zu isolieren und anschließend mittels PCR Analysen zu identifizieren.

Pilzpersistenz auf Blattoberfläche: Die Persistenz des Pilz-Pathogens wurde auf den Rübenblättern sowie in der Bodenmatrix, nach erfolgter Sprühapplikation, untersucht. Die Probennahmen erfolgten in einem Zeitintervall bis zu 40 Tagen. Die Aufarbeitung der Proben wurde gemäß Laengle et al. 2005 (Bodenproben) beziehungsweise mit Hilfe der IXOCOINT Standardmethode durchgeführt (IXOCOINT 2007).

Ergebnisse und Diskussion

Auf allen Dauerbeobachtungsflächen konnte die *Metarhizium* spp. Abundanz durch die Massenapplikation auf über 10.000 KBE (Median-Werte) im Herbst 2020 angehoben werden. War die Pilzdichte nach der ersten Applikation im Herbst noch inhomogen auf und zwischen den Feldern verteilt - erkennbar durch eine breite Streuung der Werte zwischen 117 und 6.742 KBE (Abb.1A) - konnte eine homogene Verteilung durch die zweite Applikation im Frühjahr 2020 nachgewiesen werden. Auch im Bereich der behandelten Fallrillen, in einer Schichttiefe von 5-20 cm Boden, konnten im Juni 2020 Dichten von über 10.000 KBE festgestellt werden. In den GranMet™ behandelten Flächen konnte die Gegenwart des Produktionsstamms BIPESCO 5 nachgewiesen werden. Auf den Zuckerrübenblättern wurde der Pilz durch die Sprühapplikationen ebenfalls erfolgreich angereichert. Eine Persistenz von BIPESCO 5 konnte nach über drei Wochen bestätigt werden (Abb.1B). Bedingt durch das trockene Frühjahr 2019 war der Pilzabundanz-Wert von BIPESCO 5 auf den Rübenblättern nach 37 Tagen um das 38-fache niedriger als im Frühjahr 2020. In den Bodenproben der Blatt-Sprühbehandlungs-Flächen konnte unabhängig vom Niederschlagsereignis in den Frühjahren 2019 und 2020 eine Pilzabundanz von über 3.900 KBE bestimmt werden. Beim Käfermonitoring zeigte sich, dass der Käferdruck sowohl 2019 als auch 2020 in der Region Tulln und Umgebung als sehr stark eingestuft werden musste. In beiden Jahren stiegen die Fangzahlen in den Rübenanbauflächen ab Anfang April auf bis zu 900 Käfer pro Pheromonfalle und Woche an. Eine Abnahme konnte erst mit Beginn Mai festgestellt werden (< 200 Käfer pro Falle). Alle abgesammelten und in Quarantäne gehaltenen Käfer - behandelt sowie unbehandelt - wiesen eine hohe Verpilzungsrate auf. Die nach der Sprühapplikation aus dem Fallensystem abgesammelten Käfer wurden zu 53 % mit *M. brunneum* BIPESCO 5 verpilzt. Dieser hohe Wirkungsgrad konnte bereits von Krassiltschik (1888) für *Metarhizium* spp. nachgewiesen werden (Wirkungsgrad 55-80 %). Die Virulenz des eingesetzten Produktionsstamms konnte auch im Bioassay unter Laborbedingungen bestätigt werden. Nach 9 Tagen waren bereits über 90 % der behandelten Käfer durch *Metarhizium* getötet und mumifiziert. Diese Ergebnisse werden in großangelegten Freilandversuchen in der Pflanzensaison 2021 überprüft.

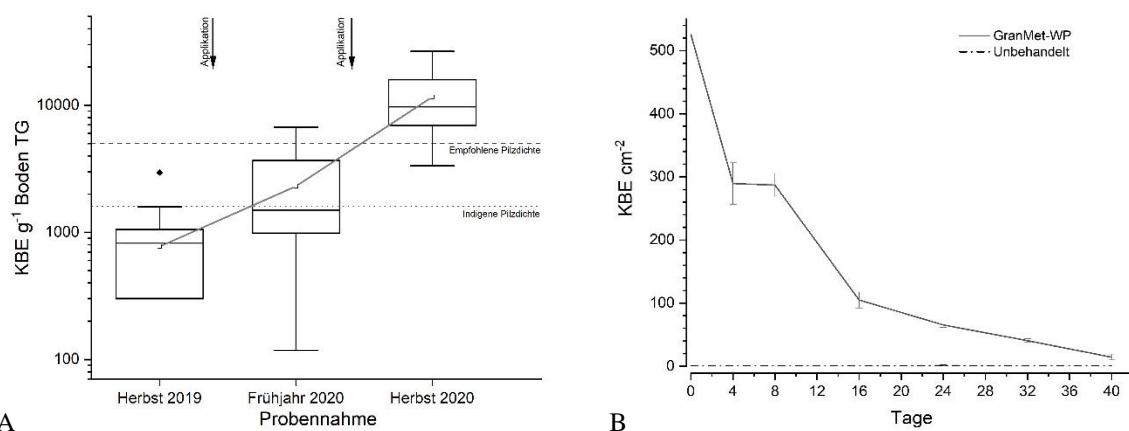


Abbildung 1: Entwicklung der Sporendichte nach Applikation im Boden (A) und auf den Zuckerrübenblättern im Topfversuch (B). Die Dichte ist als Koloniebildende Einheiten pro Gramm Boden Trockengewicht (KBE g⁻¹ Boden TG) bzw. als KBE pro cm² Blattoberfläche angegeben.

Zusammenfassung

Eine umweltfreundliche und nachhaltige Regulierung des Rübenderbrüsslers ist seit jeher gefordert und soll in Niederösterreich in Zuckerrübenflächen erprobt werden. Die Projektgruppe CURCUCONT ist bestrebt, einerseits den präventiven Einsatz des entomopathogenen Pilzes *Metarhizium brunneum* gegen die Entwicklung der Larven zu testen, andererseits durch Sprühapplikation mit Pilzsuspension eine direkte Bekämpfung der Käfer durchzuführen. Auf allen mit GranMet™ behandelten Dauerbeobachtungsflächen konnte die Pilz-Abundanz durch Massenapplikation auf über 10.000 Koloniebildende Einheiten pro Gramm Boden schon im zweiten Versuchsjahr angehoben werden. Auf den Zuckerrübenblättern wurde der Pilz durch die Sprühapplikation erfolgreich angereichert. Eine Persistenz von BIPESCO 5 konnte sowohl auf der Rübenpflanze als auch im Boden mit SSR-PCR Methode bestätigt werden. Die nach der Sprühapplikation aus dem Fallensystem abgesammelten Käfer waren zu über 50 % mit *M. brunneum* BIPESCO 5 verpilzt. Mit den Wirkungsversuchen 2021 soll eine praktische Bekämpfung des Rübenderbrüsslers bestätigt werden.

Abstract

An environmentally friendly and sustainable regulation of the sugar beet weevil is required and is being tested in sugar beet fields in Lower Austria. The double aim of the CURCUCONT project is to test the effectiveness of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* in preventing the development of the larvae and to directly target and control the beetle population by spray application of a fungal suspension. In the second year of the trial, all fields treated with a mass application of GranMet™ already showed a fungal abundance of more than 10,000 colony-forming units per gram of soil. The spray application led to the successful development of the fungus on the sugar beet leaves. Persistence of BIPESCO 5 was confirmed on the beet plant as well as in the soil by SSR-PCR method. More than 50% of the beetles collected from the trap system after the spray application were infected with *M. brunneum* BIPESCO 5. Efficacy trials in 2021 should confirm the practicality of the weevil control.

Danksagung

Das Projekt CURCUCONT wird mit Mitteln des Bundesministeriums für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus finanziert. Die Autoren bedanken sich bei den Landwirten für die Bereitstellung der Versuchs- und Kontrollflächen, sowie für ihre aktive Mitarbeit. Danke auch den Firmen Agrifutur s.r.l. (Italien) und Samen Schwarzenberger GmbH (Völs, Österreich) für die Bereitstellung der Produkte.

Literatur

- IXOCONT (2007): Biologische Kontrolle von Zecken (*Ixodes ricinus* L) durch den insektentötenden Pilz *Metarhizium anisopliae* (Metch) Petch. https://www.dafne.at/prod/dafne_plus_common/attachment_download/7b50ceda9c1367897d7065a53b037b64/Ixocont_Endbericht_71207.pdf (Zugriff: 15. April 2021)
- KRASSILSTCHIK J. (1888): La production industrielle des parasites vegetaux pour la destruction des insectes nuisibles. In: Scientifique de la France et de la Belgique 199 (3/1), 461-472.
- LAENGLER T, PERNFUSS B, SEGER C, STRASSER H 2005: Field efficacy evaluation of *Beauveria brongniartii* against *Melolontha melolontha* in potato cultures. Sydowia 57(1), 54-93.
- MAYERHOFER J, LUTZ A, WIDMER F, REHNER S, LEUCHTMANN A, ENKERLI J 2015: Multiplexed microsatellite markers for seven *Metarhizium* species. In: Journal of Invertebrate Pathology 132, 132-134.
- METSCHNIKOFF E. 1880: Zur Lehre über Insectenkrankheiten. In: Zoologischer Anzeiger 3, 44-47.
- TIELECKE H. 1952: Biologie, Epidemiologie und Bekämpfung des Rübenderbrüsslers (*Bothynoderes punctiventris* Germ.). In: Beiträge zur Entomologie 2, 256-315.

Adressen der Autoren

¹ Leopold-Franzens Universität Innsbruck, BIPESCO Team Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck, hermann.strasser@uibk.ac.at

² Agrana Research & Innovation Center GmbH, Reitherstraße 21-23, A-3430 Tulln an der Donau

Out of the Dark: Einfluss von sichtbarem Licht auf Wachstum, Sporenproduktion und Virulenz von *Metarhizium brunneum*

*Out of the Dark: Influence of visible light on growth, spore production and virulence of *Metarhizium brunneum**

Maria Zottele, Mathias Larcher, Pamela Vrabl & Hermann Strasser*

Einleitung

Metarhizium brunneum (BIPESCO 5) ist ein entomopathogener Pilz, der in Österreich im biologischen Pflanzenschutz zur Bekämpfung von *Phyllopertha horticola* (Gartenlaubkäfern) und *Amphimallon solstitiale* (Junikäfer) eingesetzt wird. Obwohl bekannt ist, dass Licht nicht nur im Reich der Pflanzen, sondern auch im Reich der Pilze eine wichtige Rolle spielt (Tisch und Schmoll 2009, Fuller et al. 2015), wurde dieser Faktor bei physiologischen Studien mit *M. brunneum* bisher vernachlässigt. Ziel dieser Studie ist es daher, die Auswirkung von sichtbarem Licht (im Wellenlängenbereich von 380-750nm) auf die Sporenproduktion, das Pilzwachstum, sowie die Virulenz des Pilzes *M. brunneum* BIPESCO 5 zu untersuchen.

Material und Methoden

Produktionsstamm: *M. brunneum* BIPESCO 5 wurde aus der hausinternen Stammkultursammlung bezogen und auf Sabouraud-4%-Glukose Nährmedium (S4G) bei 25°C für 14 Tage angezüchtet. Von der Oberflächenkultur wurden die Luftkonidien mit 0,1% (w/v) Tween 80 abgeschwemmt und Stammlösungen von 5×10^7 Sporen pro mL hergestellt. Diese wurden in Sarstedt Cryovials (2 mL) bis zur weiteren Verwendung auf -80°C gelagert.

Aufbau Lichtversuch: Für die Inkubation unter unterschiedlichen Beleuchtungsregimen wurden Kartonschachteln (133x133x50 mm) mit einer farbigen LED (Wellenlänge: 393, 464, 520, 593, 608, und 631 nm) oder einer weißen LED bestückt. Im Kontrollansatz "Dunkel" wurde auf die LED-Beleuchtung verzichtet.

Die Sporenproduktion wurde auf Oberflächenkulturen (S4G Nähragarplatten) sowie auf dem Trägerstoff Gerstenkorn untersucht. Die Gerstenkörner wurden in Autoklaviersäcken (neoLab PP) nach Zugabe von 30 % (v/w) deionisiertem Wasser 2-mal bei 121°C für 20 min autoklaviert. Anschließend wurde das sterile Ausgangsprodukt (1 kg Gerstenkörner) mit 120 mL einer sieben Tage alten Kulturbüre, welche bei 25°C in absoluter Dunkelheit inkubiert wurde, beimpft und in leere Petrischalen überführt. Pro Platte wurden ca. 100 Körner für 14 Tage bei 25°C, 60 % rF und einer 24-stündigen Beleuchtung (bzw. Dunkelheit) inkubiert. Für den Versuch mit Oberflächenkulturen auf einem S4G Nährmedium wurden die Platten mit der aufgetauten Stammlösung mithilfe einer Impfnadel inokuliert und unter denselben Kulturbedingungen wie beim Gerstenkorn-Ansatz in den Lichtboxen inkubiert.

Auswertung Pilzwachstum: Das Pilzwachstum auf der Nähragarplatte wurde durch Vermessen des Koloniedurchmessers bestimmt sowie die Sporenproduktion pro cm² Myzelrasen ermittelt. Das Wachstum auf dem Trägerstoff Gerste wurde durch die Bestimmung der Sporedichte pro Gramm Korn beurteilt.

Auswertung PR1 Protease Aktivität: *Metarhizium* Sporen wurden mithilfe von 0,05 M Tris HCl + 0,1% (w/v) Tween 80 vom Trägerstoff gelöst und eine Suspension mit einer Konzentration von 1×10^7 Sporen mL⁻¹ hergestellt. 350 µl dieser Sporensuspension wurden mit 350 µl einer 2 mM Succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilide Lösung (in Tris-HCl + Tween) vermengt und für 90 min bei Raumtemperatur in einem Überkopfschüttler inkubiert. Um die Enzymreaktion zu stoppen, wurden 700 µl 0,5 M HCl zugegeben und die Lösung anschließend durch ein Nylonnetz (Maschenweite 40 µm) filtriert. Die Absorption des Filtrates wurde mithilfe eines TECA-Photometers bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen und die Aktivität als Abbau des Succinyl-Nitroanilides in mM pro Zeiteinheit (min) berechnet.

Ergebnisse und Diskussion

Das Radialwachstum des Pilzes *M. brunneum* BIPESCO 5 konnte mit den Farbspektren violett (393 nm), blau (464 nm) und grün (520 nm) sowie mit dem Lichtspektrum einer weißen Leuchtdiode

im Vergleich zum Wachstum in vollständiger Dunkelheit signifikant gesteigert werden ($p < 0,002$). Während Kolonien ohne Beleuchtung einen Koloniedurchmesser von 61-62 mm aufwiesen, erreichten violett, blau, grün und weiß belichtete Kolonien einen Durchmesser von 68-69 mm. Auch die Sporendichte konnte unter Weißlicht, sowie unter Blau- und Grünlicht gesteigert werden; wohingegen eine Beleuchtung mit anderen Wellenlängen keinen signifikanten Unterschied in der Sporenproduktion zeigte. Während bei Dunkelheit 4×10^6 Sporen cm^{-2} und bei Beleuchtung im roten Bereich (631 nm) 2×10^6 Sporen cm^{-2} produziert wurden, führte Blaulicht zu einer mittleren Sporendichte von 9×10^7 Sporen cm^{-2} (Abb. 1). Den positiven Einfluss von blauem Licht auf die Sporenproduktion konnten auch Oliveira et al. (2018) bei *M. robertsii* feststellen.

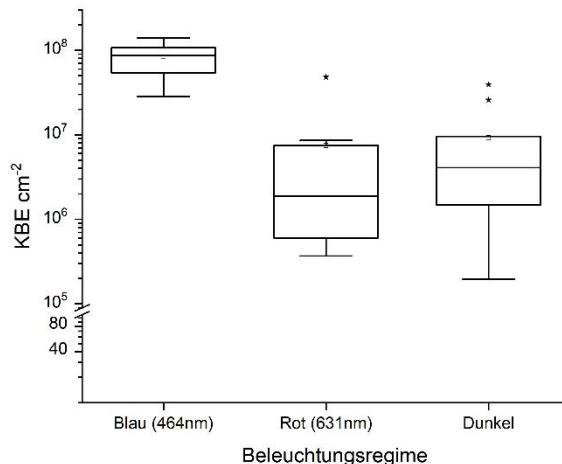


Abbildung 1: Sporendichte cm^{-2} nach 14-tägiger Inkubation bei 25°C unter Blau- und Rotlicht im Vergleich zu dunkel inkubierter Myzelbiomasse. Sternmarkierungen zeigen Ausreißerwerte.

Auch auf dem Trägerstoff Gerste konnte die höchste Pilz-Sporendichte unter mit Blaulicht nachgewiesen werden (Abb.2).

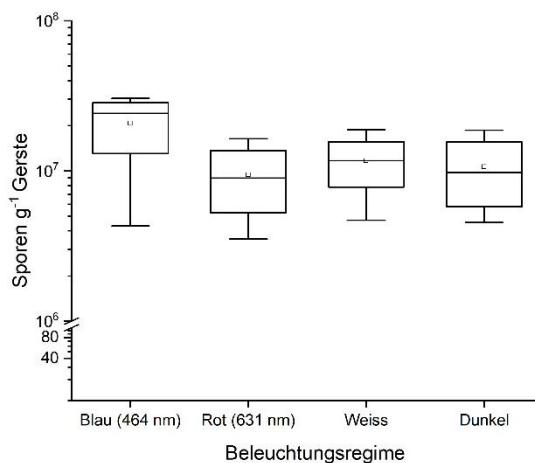


Abbildung 2: Sporenproduktion von *M. brunneum* auf Gerste nach 14-tägiger Inkubation bei 25°C . Die beimpften Körner wurden ohne Licht bzw. mit blauer, roter und weißer Belichtung inkubiert.

Unter Blaulicht wurden 2×10^7 Sporen g^{-1} Gerste und somit die doppelte Sporenmenge im Vergleich zur dunkel-inkubierten Pilzcharge produziert. Mit weißem Licht konnte ebenfalls nur eine geringfügige Steigerung der Sporenproduktion gegenüber der Dunkel-Inkubation erzielt werden. Bei länger-welligem Lichtspektrum (d.h. roter LED) wurde kein Unterschied zu dunkel inkubierten Kulturen festgestellt. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Pilz-Protease Aktivität ebenfalls durch die Belichtung deutlich beeinflusst wurde. Unter Verwendung der blauen bzw. grünen Licht konnte eine er-

höhte Aktivität der geernteten Pilzsporen nachgewiesen werden. Weitere Untersuchungen sind in Planung. Auch soll der Einfluss des Beleuchtungsregimes auf die Produktion toxisch relevanter Sekundärmetabolite (v.a. Destruxine) untersucht werden.

Zusammenfassung

Seit wenigen Jahren wird vermehrt die Bedeutung des sichtbaren Lichtes auf das physiologische Verhalten von Pilzen diskutiert. So gut wie keine Studien wurden bisher zum Thema Lichteinfluss auf das Wachstum und die Virulenz von insektentötenden Pilzen durchgeführt. Daher war unser Ziel, die Auswirkung von sichtbarem Licht bzw. ausgewählter Farbspektren auf den Produktionsstamm *Metarhizium brunneum* BIPESCO 5, auf Nähragar als auch auf Pilzgerste, zu prüfen. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl das Radialwachstum vergrößert als auch die Sporenproduktion von *M. brunneum* durch das sichtbare Lichtspektrum, besonders im kurzwelligeren Bereich des sichtbaren Lichtes (u.a. Blaulicht), gesteigert wird.

Abstract

Since a few years, the importance of visible light on the physiological behaviour of fungi has been increasingly discussed. Basically, so far only a minority of studies focused on the influence of light on the growth and virulence of entomopathogenic fungi. Therefore, our aim was to test the effect of visible light or selected colour spectra on the production strain *Metarhizium brunneum* BIPESCO 5, both on nutrient agar and on barley kernels. It was shown that radial growth and spore production of *M. brunneum* was enhanced by the visible light spectrum, especially in the shorter wavelength range of visible light (i.e. blue light).

Literatur

- FULLER, K.K., LOROS, J.J., DUNLAP, J.C. (2015): Fungal photobiology: visible light as a signal for stress, space and time. In: Current Genetics 61(3), 275-288.
- OLIVERIA, A.S., BRAGA, G.U.L., RANGEL, D.E.N. (2018): *Metarhizium robertsii* illuminated during mycelial growth produces conidia with increased germination speed and virulence. In: Fungal Biology 122, 555-562.
- TISCH, D., SCHMOLL, M. (2009): Light regulation of metabolic pathways in fungi. In: Applied Microbiology and Biotechnology 85, 1259-1277.

Adresse der Autoren

Leopold-Franzens Universität Innsbruck, BIPESCO Team Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck,

*Ansprechpartner: Dr. Hermann Strasser, hermann.strasser@uibk.ac.at

Bekämpfung des Maikäfers im Steilgelände durch Injektion von MelocontTM-Flüssigformulierungen mit der MMexit Applikationstechnik

Control of cockchafer in steep slopes by injecting MelocontTM liquid formulations with the MMexit application technique

Hannah Embleton, Maria Zottele & Hermann Strasser*

Einleitung

Der Maikäfer-Engerling (*Melolontha melolontha*) verursacht große Schäden im heimischen Grünland, unter anderem auch in Salzburg, Tirol und Vorarlberg. Besonders in Steilhanglagen ist eine erfolgreiche Bekämpfung mit dem empfohlenen insektenpathogenen Wirkstoff MelocontTM-Pilzgerste beträchtlich erschwert, da die Vredo-Säschlitztechnik nur bedingt eingesetzt werden kann. Aus diesem Grund wurde vor zwei Jahren eine intensive Suche nach Applikations-Alternativen gestartet. Im Versuchszeitraum 2019 und 2020 wurden MelocontTM-Flüssigprodukte, basierend auf dem *Beauveria brongniartii* Produktionsstamm BIPESCO 2, mittels der neuen MMexit Technik ausgebracht, um zeitgleich die Applikationstechnik und die Produkte auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Folgende Parameter wurden dafür in den großangelegten Versuchsflächen untersucht: (i) Bestimmung der Maikäfer-Befallsdichte (alle Stadien); (ii) Beurteilung der *Beauveria*-Dichte im Boden (1 cm bis 20 cm); (iii) Beurteilung der Wirkung von *Beauveria* durch Bestimmung der Infektionsrate der Maikäfer und Engerlinge in den pilzbehandelten Versuchsflächen. Als Kontrollflächen wurden unbehandelte Grünländflächen in unmittelbarer Nähe der Versuchsflächen ausgewählt. Zurzeit werden die Prototyp-Flüssigformulierungen im Topfversuch unter Beigabe von Maikäfer-Engerlingen über eine Zeitspanne von 16 Wochen geprüft.

Material und Methoden

MelocontTM-Dipersionsformulierungen wurden sowohl in Gortipohl (Montafon, Vorarlberg), als auch in Unken (Heutal, Salzburg) mit Hilfe der MMexit Prototypmaschine appliziert. Die Produkte MelocontTM-Liquid und MelocontTM-WP Sporenpulver wurden von der Firma Agrifutur s.r.l (Alfianello/Italien) zur Verfügung gestellt. Bodenproben wurden an den Versuchsstandorten aus einer Bodentiefe von 1 cm bis 10 cm und von 10,5 cm bis 20 cm mit Hilfe eines Rillenbohrers (ϕ 2 cm) gezogen. Anschließend wurde die Dichte des Pilzes mit Hilfe einer Standard-Methode nach Anzucht auf einem Selektivnährmedium nachgewiesen (Längle et al., 2005).

MelocontTM Liquid:

Beauveria Pilzbiomasse (Blastosporen) wurden mit einer Sporedichte von 1×10^{12} Sporen ha^{-1} direkt mit dem MMexit Motor-Injektor gleichmäßig in den Boden injiziert (Gesamtvolumen der Lösung: 200 L).

MelocontTM WP Sporenpulver:

MelocontTM-Sporenpulver, mit einer Sporedichte von 5×10^9 Sporen g^{-1} , wurde direkt im MMexit Tank angerührt und in den Boden mit einer Konzentration von 1×10^{12} Sporen ha^{-1} appliziert.

MelocontTM gewaschene Pilzgerste:

Die „gewaschene Pilzgerste“ wurde unter Verwendung der MelocontTM-Pilzgerste (Pfl. Reg. Nr. 3717) hergestellt. Die Sporen-Biomasse-Suspension wurde vom Gerstenkorn-Produkt getrennt und auf ihr tatsächliches Endvolumen mit Wasser verdünnt. 50 kg MelocontTM-Pilzgerste wurden zur Herstellung des Sporenkonzentrates verwendet. Mit dieser Suspension konnte ein Hektar landwirtschaftliche Fläche behandelt werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die Dispersionslösungen des Wirkstoffes MelocontTM konnten mit Hilfe der MMexit Applikationsmaschine (Stachelwalzen-Injektor von der Firma TerraTec, Bings/Bludenz; Bild 1), in eine Bodenschichttiefe von 4 bis 7 cm appliziert werden (d.h. 80 Injektionen pro Quadratmeter). Im selben Arbeitsgang konnte zusätzlich die geschädigte Wiese mit Saatgut nachgesät werden. Durch das geringe Eigengewicht

der Maschine konnten sowohl stark geschädigte Steilhänge als auch staunasse Böden befahren werden - dies wurde eindrucksvoll bei einer Steilhangapplikation in Unken im Juli 2020 demonstriert.

Unter Verwendung der MMexit (Anbaugerät an den Ibex Motormäher), konnte nach einer einmaligen MelocontTM-Liquid Applikation eine signifikante Erhöhung der Pilzdichte im Boden erzielt werden. Die gewünschte *Beauveria*-Abundanz von > 1.000 Koloniebildende Einheit pro Gramm Boden Trockengewicht (KBE g⁻¹ Boden TG) konnte in Unken in beiden untersuchten Bodenschichttiefen (1 cm bis 10 cm und 10,5 cm bis 20 cm) nahezu um das 4-fache übertroffen werden. Auch die Anwendung von MelocontTM-WP als Flüssigformulierung kann für Steilhangapplikationen empfohlen werden. Die MMexit Applikation in Gortipohl führte zu einer guten und gleichmäßigen Anreicherung des Pilzwirkstoffs im Boden. So konnte noch am Ende der Pflanzsaison 2020 eine Pilzdichte von über 2.000 KBE g⁻¹ Boden TG nachgewiesen werden. Auch das Sporenprodukt „MelocontTM gewaschene Pilzgerste“ wurde in Unken getestet, und führte zu einer Pilzdichte von > 6.000 KBE g⁻¹ TG. Auch die Applikation der „gewaschenen Pilzgerstekörner“ selbst führte immer noch zu einer Pilzabundanz > 5.000 KBE g⁻¹ TG. Somit wurde erstmals auch eine erfolgreiche Mehrfachanwendung des MelocontTM-Pilzgersteproduktes gezeigt bzw. kann schon jetzt den Landwirten eine praxisrelevante Anwendung für Steilhangapplikationen empfohlen werden.

Die erfolgreiche Anwendung von MelocontTM-Sporensuspensionen zur Maikäferbekämpfung wurde in einer ersten Pilot-Feldstudie schon im Jahr 2005 in San Michele (Trentino/Italien) aufgezeigt. Die Entwicklung dieser heute vielversprechenden Dispersionsformulierungen wurde jedoch damals wegen der zu hohen Produktionskosten und wegen einer zu geringen Nachfrage von Anwendungen nicht mehr weiterverfolgt. Durch die Injektion einer 1×10^{13} sporenhaltigen Suspension, verteilt auf einen Hektar Grünland, konnte eine *Beauveria* Abundanz von über 6.500 KBE g⁻¹ Boden TG erreicht werden (Strasser et al. 2010).

Die parallel zur Feldstudie durchgeführten und noch laufenden Topfversuche bestätigen die gute Persistenz von *B. brongniartii*. Sowohl die MelocontTM-Sporenpulver-Formulierung, das gewaschene Pilzgerste-Suspensionsprodukt, als auch die *Beauveria*-Kulturbrühe gewährleisten eine ausreichend hohe Pilzdichte im Boden.



Bild 1: Applikation von MelocontTM-Dispersionsformulierungen mit der MMexit. Die MMexit ist ein Anbaugerät an den Ibex Motormäher von der Firma TerraTec, welcher zur Bekämpfung von Engerlingen im Steilhang eingesetzt wird (© BIPESCO).

Zusammenfassung

Eine maschinentaugliche Lösung zur nachhaltigen Bekämpfung von Engerlingen im Steilhanggelände ist in Sicht. Die Stachelinjektoren der MMexit-Maschine ermöglichen nicht nur das problemlose Manövrieren im Steilhang, sondern auch die gleichmäßige Injektion von Dispersionsformulierungen. Es konnte gezeigt werden, dass der insektenpathogene Pilz *Beauveria brongniartii* nach Applikation der

Prototyp-Formulierungen erfolgreich im Boden etablieren werden kann. Die Feldexperimente in West-österreich bestätigten, dass durch den Behandlungen eine signifikante Erhöhung der Pilzdichte im Boden erzielt werden konnte. Eine Wiederholung der Topfversuche soll die Etablierung von *B. brongniartii* im Boden und die Wirkung der Dispersionsformulierung gegen Maikäfer-Engerlinge bestätigen.

Abstract

The cockchafer (*Melolontha melolontha*) causes great damage in grassland. In valleys, the damaged grassland can be treated with the Melocont™ fungal barley by means of the existing Vredo sowing slit technology. However, this is not possible in steep alpine slopes, as is the case in regions of Salzburg, Tyrol and Vorarlberg. Consequently, an intensive search for application alternatives has been launched. In the trial period of 2019 and 2020, Melocont™ liquid products based on *Beauveria brongniartii*, production strain BIPESCO 2, were applied using the new MMexit technique, in order to simultaneously test the application technique and the products for their effectiveness.

It was shown that the insect pathogenic fungus *Beauveria brongniartii* can be successfully established in the soil after application of the prototype formulations. The field experiments in Western Austria confirmed that a significant increase in fungal density in the soil could be achieved after the treatments. A repeat of the pot experiments should confirm the establishment of *B. brongniartii* in the soil and the effect of the dispersal formulation against cockchafer grubs.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei den Landwirten in Salzburg, Tirol und Vorarlberg für die Bereitstellung der Versuchs- und Kontrollflächen. Ein besonderer Dank gilt der Firma Agrifutur s.r.l (Alfianello/Italien) und der Firma Samen Schwarzenberger GmbH (Völs/Tirol), welche uns für Testzwecke Melocont™ Pilzgerste und die Flüssigwirkstoffe zur Verfügung gestellt haben, sowie all jenen Studenten*innen des Institutes für Mikrobiologie (Leopold-Franzens Universität Innsbruck) und Helfern, die mit viel Engagement und Können die zum Teil schweißtreibende Feldarbeit durchgeführt haben. Auch möchten wir uns beim Amt der Salzburger Landesregierung, dem Amt der Tiroler Landesregierung und dem Amt der Vorarlberger Landesregierung für die finanzielle Unterstützung bedanken.

Literatur

LAENGLER T, PERNFUSS B, SEGER C, STRASSER H 2005: Field efficacy evaluation of *Beauveria brongniartii* against *Melolontha melolontha* in potato cultures. *Sydowia* 57(1), 54-93.

STRASSER H, NEUHAUSER S, KIRCHMAIR M 2010: Nachhaltige Bekämpfung von Maikäferengerlingen in exponierten Steilhangflächen. https://www.dafne.at/dafne_plus_homepage/index.php?section=dafneplus&content=result&come_from=&&project_id=2808 (Zugriff, 15. April 2021).

Adresse der Autoren

Leopold-Franzens Universität Innsbruck, BIPESCO Team Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck,

*Ansprechpartner: Dr. Hermann Strasser, hermann.strasser@uibk.ac.at