Kombination von *Bacillus thuringiensis*-Präparaten und NeemAzal-T/S zur Regulierung des Frostspanners *Operophtera brumata* L.

**Combination of *Bacillus thuringiensis* products and NeemAzal-T/S for the control of
the winter moth (*Operophtera brumata* L.)**

Christof Schulz, Jutta Kienzle, Philipp Haug, Sophia Kumpmann, Claus P.W. Zebitz¹

Abstract

The effects of the combination of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and NeemAzal-T/S (NA) on the winter moth *Operophtera brumata* L. were tested in laboratory and field trials. To optimize the efficacy the antifeedant-activity of both products have to be considered. If 3 l/ha or 2 l/ha NA (splitted application) NA is applied at the red bud stage against the rosy apple aphid, the addition of 40 % of the normal dosage of Bt-preparations can result in an earlier inhibition of the feeding activity of winter moth larvae. Thus, in years with heavy infestation or long feeding activity on the fruits the efficacy of a treatment with NA (3 l/ha) can be enhanced. If NA is used with 2l/ha, it is advisable to add Bt with 40 %. Higher dosage of Bt might lead to worse results due to its pronounced antifeedant-effect.

Einleitung

Beim Einsatz des pflanzlichen Präparates NeemAzal-T/S (NA) zur Regulierung der Mehligten Apfellaus *Dysaphis plantaginea* Pass. wurde wiederholt beobachtet, dass auch der Kleine Frostspanner *Operophtera brumata* L. durch die empfohlene Behandlung mit 3 l/ha zum Zeitpunkt „Rote Knospe“ mit erfaßt wird (KIENZLE et al., 1995; SCHULZ et al., 1997). Bei hohem Befall oder in Jahren mit rascher Fruchtentwicklung kann es jedoch noch zu leichten Fruchtschäden kommen, da der Fraßstop nicht sofort eintritt. Zur Regulierung der Mehligten Apfellaus wird aber in bestimmten Lagen ein Splitting der Behandlungen (2 l/ha Vorblüte, 1,5 l Nachblüte) empfohlen (KIENZLE et al., 1998). Eine reduzierte Aufwandmenge von 2 l, die dann vor der Blüte ausgebracht wird, erreichte in Freilandversuchen zwar innerhalb von drei Wochen vergleichbare Wirkungsgrade wie die Normalkonzentration, der Fraßstop trat aber deutlich später ein (SCHULZ, 1997, unveröff.).

Vor diesem Hintergrund schien es interessant, die Kombination der von NA und *Bacillus thuringiensis*-Präparaten (Bt) zu testen. Sollen hohe Wirkungsgrade und ein schneller und dauernder Fraßstop erzielt werden, muß dabei die fraßhemmende Wirkung der beiden Präparate beachtet werden.

MOAR und TRUMBLE (1987) beobachteten bei der Kombination von Bt und Neemextrakt gegen *Spodoptera exigua* Hübner eher antagonistische Effekte. TILLMAN (1992) konnte mit einer solchen Kombination gegen Kartoffelkäfer bei gleichzeitiger Anwendung keine Erfolge erzielen während eine zeitversetzte Behandlung mit den Präparaten dagegen zufriedenstellende Ergebnisse lieferte. Additive oder synergistische Wirkungen, die für den praktischen Einsatz jedoch bedeutend sind, ergaben sich gegenüber *S. frugiperda* (J.E. Smith) Diese traten jedoch nur bei sehr geringer Dosierung der Bt-Komponente auf (HELLPAP und

¹ Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, D-70593 Stuttgart

ZEBITZ, 1986).

Bei ersten Freilanduntersuchungen stellten KIENZLE et al. (1998) bei der Kombination geringer Aufwandmengen der beiden Präparate eine verbesserte Wirkung der Kombinationen im Vergleich zu den reduzierten Aufwandmengen der Einzelkomponenten fest. Die Effekte waren jedoch unterschiedlich, je nachdem ob Wirkungsgrad oder Fraßschaden berücksichtigt wurde. Daher müssen bei einer Beurteilung des Gesamteffekts einer solchen Kombination beide Parameter erfasst werden.

In der vorliegenden Untersuchung wurden in Labor- und in Freilandversuchen die Wirkung der Einzelpräparate im Vergleich zur Kombinationsbehandlung hinsichtlich der Fraßaktivität und der Mortalität der Larven verglichen.

Material und Methoden

a) Laborversuch

Es wurden im Freiland aus unbehandelten Anlagen gesammelte Larven verwendet. Sie wurden verschiedene Gewichtsklassen eingeteilt (Kl. 1: 1-2,5 mg [6 WDH]; Kl. 2: 2,6 - 5 mg [4 WDH]; Kl. 3: 5,1 - 7,5 mg [5 WDH]; Kl. 4: 7,5 - 10 mg [1 WDH]; Kl. 5: 10,1 - 12,5 mg [1 WDH]), um den unterschiedlichen Larvenstadien und einer damit verbundenen eventuellen unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber den Präparaten Rechnung zu tragen. Jeweils drei Larven wurden als eine Wiederholung auf einen Apfeltrieb in einen Glaszylinder gesetzt mit mindestens 17 Wiederholungen pro Variante. Beim notwendigen Wechsel der Apfeltriebe (Futter) alle 4-5 Tage wurden das Gewicht des Kots und die Anzahl lebender Tiere erfasst.

Die zu Versuchsbeginn verwendeten Triebe wurden in die entsprechenden Lösungen von Bt, NA bzw. deren Kombinationen davon getaucht. Das Futter für die späteren Termine wurde von getopften Boskoop-Bäumen geerntet, die zu Versuchsbeginn einmalig bis zur Tropfnässe behandelt worden waren und im Freiland standen.

Testsubstanzen waren Dipel ES (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) und NeemAzal-T/S (1 % Azadirachtin, 51 % pflanzliche Öle) (Tab. 1).

Die statistische Verrechnung der Ergebnisse erfolgte mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (Berücksichtigung der Gewichtsklassen) mit anschließendem Scheffé-Test.

b) Freilandversuche

Die Freilandversuche wurden an zwei Standorten auf Praxisbetrieben im mittleren Neckarraum im Frühjahr 1999 durchgeführt. Sie waren als randomisierte Blockanlagen mit 4 Wiederholungen aufgebaut. Standort A (überwiegend Elstar, M 9, 8.-14. Standjahr, 3,80 m x 1,50 m, etwa 16 Bäume pro Parzelle) wurde am 26.4. mit einem Motorrückensprühergerät (SOLO) und am Standort B (Pinova, M 9, Neuanpflanzung, 3,40 m x 0,70 m, 18 Bäume pro Parzelle) am 27.4. mit einem Motorfeinsprühergerät ("Geizhals M 20") jeweils bis zur Tropfnässe behandelt.

Die Anwendungskonzentrationen von NA wurden praxisüblich gewählt (Tab. 1). Als Bt-Präparat kam Xentari zum Einsatz (*Bacillus thuringiensis* var. *aizawai*). Um mögliche Effekte der Leerformulierung (LF) von NA zu erfassen wurde an Standort

B noch eine Mischung mit Bt untersucht. In einer Randreihe wurden zum Vergleich 20 Bäume mit 100% der empfohlenen Aufwandmenge von Bt behandelt. Die Tagesmitteltemperaturen in der folgenden Woche lagen um 15 °C (Wetterstation Hohenheim), so daß die notwendige Voraussetzung für die Aufnahme von behandelter Blattmasse durch die Larven vorlag.

Tab. 1: Versuchsvarianten (Angaben in % der Normalaufwandmenge von 3l/ha NA und 1l/ha Dipel bzw. 1 kg/ha Xentari)

Var.	Labor		Standort A (H##)		Standort B (W##)	
	NA	Bt	NA	Bt	NA	Bt
1	10		Kontrolle		Kontrolle	
2	5		67		67	
3		10	100		100	
4	10	10		40		40
5	5	5	67	40	67	40
6	Kontrolle		100	40	100	40
7					100 NA-LF (*)	40

(*) Leerformulierung

Direkt vor der Behandlung sowie 10 (bzw. 7) und 16 (bzw. 13) Tage nach der Spritzung erfolgte eine Befallszählung. Hierbei wurden an Standort A 1.000 zufällig ausgewählte Triebe pro Variante, an Standort B jeweils 14 Bäume pro Variante ausgewertet.

Mitte Mai erfolgte eine Fraßschadensbonitur. Hierbei wurden an beiden Standorten 400 Triebe pro Variante auf Fraßschäden untersucht. Die Einteilung der Fraßschäden erfolgte in vier Klassen: Klasse 1: Leichte Fraßstellen; Klasse 2: Stärkere Fraßschäden, aber nur an einem Blatt; Klasse 3: Stärkere Fraßschäden an mehreren Blättern; Klasse 4: ganzer Trieb stark geschädigt. Hieraus läßt sich der Fraßschaden als gewichteter Mittelwert berechnen. Auch bei der Fruchtbonitur Mitte Juli wurden an Standort A die jeweils 800 bonitierten Früchte/Variante in Befallsklassen eingeteilt (unbeschädigt / Fraßschaden < 1 cm² / Fraßschaden > 1 cm²) und auch ein gewichteter Mittelwert errechnet. Am Standort B wurden alle vorhandenen Früchte bonitiert, aufgrund des sehr schwachen Behangs der frisch gepflanzten Bäume wurde von einer Auswertung abgesehen.

Ergebnisse

a) Laborversuch

Bei der Erfassung des Kotgewichtes der Frostspanner, zeigten sich drei verschiedene Reaktionen (Tab. 2):

- Bei alleiniger Anwendung von NA (v.a. Var 1) trat der Fraßstopp erst 13. Tage nach Applikation (TnA) ein und war nicht reversibel.
- Bei Bt hingegen konnte ein sofortiger Fraßstopp beobachtet werden, der sich allerdings anschließend wieder abschwächte, denn vor allem nach 9. TnA zeigte sich bei Bt wieder ein deutlicher Anstieg der Fraßaktivität.
- In den Kombinationsvarianten erfolgte ein rascher und nachhaltiger Fraßstopp, eine statistische Absicherung zu Bt war jedoch aufgrund der großen Streuung durch die Gewichtsklassen nicht möglich.

Für die Mortalität der Larven (Befallsreduktion) zeigte sich im wesentlichen eine parallele Entwicklung.

Tab. 2: Kotgewicht aller Tiere einer Variante in mg (Befallsreduktion in % bezogen auf den Versuchsbeginn)

Variante	Boniturzeitpunkt					
	3 TnA	5 TnA	9 TnA	13 TnA	18 TnA	22 TnA
NA 10 %	(10 ac)	10,3 a (24 a)	13,0 a (63 ab)	14,0 bc (94 ac)	14,0 ab (100 a)	14,0 ab (100 a)
NA 5 %	(12 a)	15,1 b (24 a)	23,5 b (53 a)	26,4 c (78 b)	29,0 b (88 b)	29,5 a (90 b)
Bt 10 %	(44 b)	2,9 c (68 b)	4,8 ac (82 bd)	5,9 ab (90 ab)	8,1 a (92 b)	9,5 ab (94 ab)
NA 10 % + Bt 10 %	(54 b)	2,1 c (81 c)	2,4 cd (97 c)	2,5 a (100 c)	2,5 a (100 a)	2,5 b (100 a)
NA 5 % + Bt 5 %	(30 bc)	2,1 c (74 bc)	2,7 cd (89 cd)	2,7 ab (100 c)	2,7 a (100 a)	2,7 b (100 a)
Kontrolle	(4 ac)	37,1 d (4 a)	115,4 e (6 e)	170,4 d (8 d)	181,4 c (8 c)	184,5 c (10 c)

TnA: Tage nach Applikation

Werte mit verschiedenen Indizes in einer Spalte unterscheiden sich signifikant (Scheffe-Test, $p = 0.05$)

b) Freilandversuch

Am Tag der Behandlung wurden an Standort B zwischen 97 und 124 Frostspannern pro Variante gefunden. Nach 7 bzw. 13 Tagen ergaben sich für alle Varianten Wirkungsgrade (WG) nach Henderson und Tilton (UNTERSTENHÖFER, 1963) von jeweils 78 - 99 % (Tab. 3). Innerhalb der ersten 7 Tage ergab sich für die Kombinationen von NA und Bt eine bessere, d.h. "schnellere" Wirkung (WG um 90 %) gegenüber allen anderen Varianten (WG um 80 %). Sechs Tage später hatte sich der WG der NA-Varianten und der Kombination weiter erhöht und lag zwischen

92 und 99 %. Bei allen Bt-Varianten ohne Kombination mit NA lag der längerfristige Wirkungsgrad (13 d) mit 75 - 81 % deutlich unter dem der Kombinationen, einen Anstieg des WGs zwischen den beiden Terminen gab es bei diesen Varianten nicht, sondern es war eher ein Rückgang zu verzeichnen. Eine Wirkungssteigerung von Bt in Mischung mit der Leerformulierung ergab sich nicht.

Tab. 3: Kombiniertes Einsatz von NeemAzal-T/S (NA) und *Bacillus thuringiensis* (Bt) zur Regulierung des Kleinen Frostspanners (Standort B): Wirkungsgrad nach HENDERSON/TILTON 7 bzw. 13 Tage nach Applikation (Konzentrationsangaben in % der empfohlenen Aufwandmenge, LF = Leerformulierung)

Variante	Bt 40%	NA-LF + Bt 40 %	Bt 100 %	NA 67 %	NA 100 %	NA 67% + Bt 40 %	NA 100 % + Bt 40 %
7d	80	79	88	79	78	90	89
13d	76	81	75	99	98	97	92

Der Befall mit dem Kleinen Frostspanner war am Standort A recht gering und lag zwischen 31 und 46 Tieren/1.000 Triebe. Deswegen war auch der Fruchtschaden gering. Trotzdem sind eindeutige Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Varianten festzustellen (Tab. 4). Während die Bt-Variante kaum den Schaden reduzierte, war dies bei allen anderen Varianten der Fall, am deutlichsten in der kombinierten Anwendung.

Tab. 4: Kombiniertes Einsatz von NeemAzal-T/S (NA) und *Bacillus thuringiensis* (Bt) zur Regulierung des Kleinen Frostspanners (Standort A): Einfluß auf Schädigung der Früchte Befallsstärke in % pro 100 Frostspanner Ausgangsbefall (Konzentrationsangaben in % der empfohlenen Aufwandmenge)

Variante	Kon- trolle	Bt 40%	NA 67 %	NA 100 %	NA 67% + Bt 40 %	NA 100 % + Bt 40 %
Befallsstärke	0,73	0,63	0,26	0,18	0,07	0,12

Diskussion

Im vorliegenden Laborversuch wurden die unterschiedlichen Auswirkungen von NA und Bt auf die Fraßaktivität der Larven des Kleinen Frostspanners deutlich. Bei Anwendung als Einzelkomponente führen Neeminhaltsstoffe zu einem verzögerten Fraßstopp innerhalb von 1-2 Wochen. Im Gegensatz dazu setzt der Fraßstopp bei Aufnahme von Bt innerhalb sehr kurzer Zeit ein (1-3 Tage).

War die aufgenommene Menge von Bt nicht lethal, war der Fraßstopp reversibel, so daß die überlebenden Tiere nach einer gewissen Zeit die Fraßaktivität wieder

aufnahmen. Dies konnte bei sublethalen Dosen von Bt auch an *Manduca sexta* L. elektronenmikroskopische Aufnahmen nachgewiesen werden (SPIES und SPENCE, 1985).

Die zeitliche Verzögerung der Fraßaktivität dürfte im Freiland die Entstehung von Fruchtschäden begünstigen. Dies dürfte besonders dann der Fall sein, wenn bei verzetteltem Auftreten der Larven und einmaliger relativ früher Behandlung die später auftretenden Larven nur noch sublethalen Bt-Dosen ausgesetzt sind.

In den vorliegenden Versuchen konnte auch nachgewiesen werden, daß die geschilderten Nachteile der beiden Präparate bei alleiniger Anwendung durch eine Kombination überwunden werden können, so daß es in diesen Versuchen zu einem schnellen und irreversiblen Fraßstopp kommt. Dies kann sich unter bestimmten Bedingungen für den Einsatz in der Praxis als sehr sinnvoll erweisen:

Wird NA zur Regulierung der Mehligigen Apfellaus in voller Aufwandmenge eingesetzt kann ein Zusatz von Bt empfehlenswert sein, wenn ein hoher Befall durch Frostspanner vorhanden ist oder wenn - witterungsbedingt oder aufgrund relativ später Behandlung - Fruchtschäden bereits 1-2 Wochen nach der Behandlung entstehen können.

Wird die Anwendung von NA hingegen gesplittet (2 l NA/ha), erscheint eine Kombination mit Bt noch ratsamer, da dadurch ein sehr viel schnellerer Fraßstopp ausgelöst wird, als dies bei dieser Konzentration von NA allein der Fall wäre und somit ein möglicher Fruchtschaden deutlich vermindert werden kann. In diesen Fällen erscheint eine Zumischung von Bt in der hier geprüften Anwendungskonzentration von 40 % der Normalaufwandmenge betriebswirtschaftlich als sinnvoll.

Höhere Aufwandmengen sind nicht nur ökonomisch uninteressanter, sie können auch zu schlechteren Ergebnissen führen (Kumpmann, unveröffentlicht, mündl. Mitteilung, 2000). Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass durch höhere Bt-Konzentrationen ein starker sofortiger Frassstopp eintritt, der die Aufnahme von größeren Mengen des Neempräparates verhindert.

Dank

Wir danken der VW-Stiftung für die Finanzierung dieses Forschungsprojektes (AZ II/74037).

Den beteiligten Beratern und Betrieben ein herzliches Dankeschön für die Unterstützung.

Literatur

- HAUG, P. (1999): Auswirkungen von Kombinationen von NeemAzal-T/S und *Bacillus thuringiensis* auf den Kleinen Frostspanner *Operophtera brumata* L. Dipl.arbeit, Universität Hohenheim.
- HELLPAP, C. und ZEBITZ, C.P.W. (1986): Kombinierte Anwendung von Niem-Samen-Extrakt mit *Bacillus-thuringiensis*-Produkten bei der Bekämpfung von *Spodoptera frugiperda* und *Aedes togoi*. J. Appl. Ent. 101, 515-524.
- KIENZLE, J., SCHULZ, C., ZEBITZ, C.P.W. (1995): Zweijährige Erfahrungen mit dem Einsatz von NeemAzal in ökologisch wirtschaftenden Obstbaubetrieben. In: Fördergem. Ökol. Obstbau e.V. (Hrsg.) (1995): 7. Internationaler Erfahrungsaustausch über

Forschungsergebnisse zum Ökologischen Obstbau, Weinsberg. S. 128-132.

- KIENZLE, J., SCHULZ, C., ZEBITZ, C.P.W. (1998): Untersuchungen zur Wirkungssicherheit und Wirtschaftlichkeit von NeemAzal-T/S sowie erste Ergebnisse zur Kombination mit *Bacillus thuringiensis* zur Regulierung des Kleinen Frostspanners (*Operophtera brumata* L.). In KIENZLE, J. und ZEBITZ, C.P.W. (1998): Biologische Pflanzenschutzverfahren im Erwerbsobstbau: Praxis, Beratung und Forschung im Gespräch. 131-140.
- MOAR, W.J., TRUMBLE, J.T. (1987): Toxicity, joint action and mean time of mortality of Dipel 2X, avermectin B1, neem and thuringiensin against beet armyworms (*Lepidoptera: Noctuidae*). *J. Econ. Entom.* 80, 588-592.
- SCHULZ, C., KIENZLE, J., HERMANN, P., ZEBITZ, C.P.W. (1997): NeemAzal-T/S - Ein neues botanisches Insektizid für den Obstbau. In: *Gesunde Pflanze* 49, 95-99.
- SCHULZ, C. (1997, unveröff.): Entwicklung eines Produkts zur umweltverträglichen Blattlausregulierung im Obstbau auf der Basis nachwachsender Rohstoffe. Abschlußbericht an die Bundesstiftung Umwelt. 14-15.
- SPIES, A.G. und SPENCE, K.D. (1985): Effect of sublethal *Bacillus thuringiensis* crystal endotoxin treatment on the larval midgut of a moth, *Manduca*: SEM study. *Tissue and Cell* 17, 379-394.
- TILLMAN, M. (1992): Kombinierte Anwendung der Präparate *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* und NeemAzal-S gegen Larevn von *Leptinotarsa decemlineata* Say, (*Coleoptera, Chrysomelidae*) und *Epilachna variegata* Muls. (*Coleoptera, Coccinellidae*) Diplomarbeit, Uni Giessen. In: SCHMUTTERER, H. : Side effects on beneficials and other ecologically important non-target organisms. In: SCHMUTTERER, H. : (1995): *The Neem Tree*. 507.
- UNTERSTENHÖFER, G. (1963): Die Grundlagen des Pflanzenschutz-Freilandversuches. *Pflanzenschutz-Nachrichten "Bayer"* 16, 154-155.