

Öffentlicher Schlussbericht

von
**Nordwestdeutsche Forstliche
Versuchsanstalt** und **Biocare Gesellschaft für
biologische Schutzmittel mbH**
Grätzelstr. 2, 37079 Göttingen Wellerserstr. 57, 37586 Dassel

im Förderprogramm „Nachwachsende Rohstoffe“ des BMEL

Verbundvorhaben

Entwicklung von biologischen Bekämpfungsverfahren gegen den Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*) mit dem Eiparasitoiden *Trichogramma dendrolimi*

Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2019 – 30.06.2022

Berichtszeitraum: 01.04.2019 – 30.06.2022

Veröffentlicht am: 16.05.2023

Autoren: **Burkardt, Katharina; Heine, Verena; Rommerskirchen, Andreas;
Beitzen-Heineke, Elisa; Hurling, Rainer; Kastenbutt, Michael; Rohde, Martin**

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Schlussbericht

zum Vorhaben

Themen:

Verbundprojekt: Entwicklung von biologischen Bekämpfungsverfahren gegen den Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*) mit dem Eiparasitoiden *Trichogramma dendrolimi* (Akronym: BiDenT)

Teilvorhaben 1: Erarbeitung von Überschwemmungsverfahren im Forst zum Einsatz von Parasitoiden

Teilvorhaben 2: Entwicklung von wirtschaftlichen Massenzucht- und Ausbringungstechnologien

Zuwendungsempfänger:

Teilvorhaben 1: Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt (NW-FVA)

Teilvorhaben 2: BIO CARE Gesellschaft für biologische Schutzmittel mit beschränkter Haftung

Förderkennzeichen:

Teilvorhaben 1: 22018917

Teilvorhaben 2: 22024418

Inhalt

I. Kurzbericht	1
1. Aufgabenstellung und aktueller Stand	1
a) Aufgabenstellung	1
b) Wissenschaftlicher und technischer Arbeitsstand	2
2. Planung und Ablauf des Vorhabens	3
3. Resümee der wesentlichen Ergebnisse.....	4
a) Arbeitspakete und Meilensteine	4
b) Zusammenfassung	7
II. Ausführliche Darstellung der Ergebnisse	8
1. Erzielte Ergebnisse	8
1.1 Erarbeitung von Anforderungen an das Projekt.....	8
1.2 Wahl einer Nützlingsart und Festlegung auf <i>T. dendrolimi</i>	8
1.3 Laborzucht von <i>D. pini</i>	9
1.4 Wirksamkeit von <i>T. dendrolimi</i>	10
1.4.1 Parasitierungsraten des Parasitoiden.....	10
1.4.2 Entwicklungsdauer von <i>T. dendrolimi</i> in <i>D. pini</i> -Eiern unter Freilandbedingungen	15
1.4.3 Bedingungen für erfolgreiche Parasitierung durch <i>T. dendrolimi</i>	16
1.5 Aufbau einer <i>T. dendrolimi</i> -Massenzucht	20
1.5.1 Laborzucht von <i>T. dendrolimi</i>	20
1.5.2 Eignung von <i>S. cerealella</i> als Zuchtwirt.....	20
1.5.3 Up-Scaling der Laborzucht von <i>T. dendrolimi</i> zur massenweisen Produktion ..	23
1.6 Entwicklungen hubschraubergestützter Applikation und Flüssigformulierung	24
1.6.1 Mischung von <i>T. dendrolimi</i> mit verschiedenen Formulierungshilfsmitteln.....	24
1.6.2 Düsenauswahl und Prüfung der Ausbringungstechnik.....	26
1.7 Praxisnahe Prüfung der Zucht und Spritzapplikation von <i>T. dendrolimi</i>	28
1.8 Klärung kritischer Rahmenbedingungen für Freiland-Anwendungen	34
1.9 Optimierungen für Freilandanwendungen.....	38
2. Verwertung.....	41
a) Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen.....	42
b) Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende	43
c) Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende	43
d) Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit.....	43
3. Erkenntnisse von Dritten	44
Veröffentlichungen	44

Anhang.....	45
Teilvorhaben 1.....	45
1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens 1	45
2. Bearbeitete Arbeitspakete des Teilvorhabens 1	46
3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens 1	48
Teilvorhaben 2.....	50
1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens 2	50
2. Bearbeitete Arbeitspakete des Teilvorhabens 2	51
3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens 2	52
Literaturverzeichnis	53

I. Kurzbericht

1. Aufgabenstellung und aktueller Stand

a) Aufgabenstellung

Ziel des Verbundprojektes der Abteilung Waldschutz der Nordwestdeutschen Forstlichen Versuchsanstalt (NW-FVA) und der BIOCARE Gesellschaft für biologische Schutzmittel mbH ist es, ein Verfahren zur biologischen Bekämpfung eines wichtigen Kieferngrößschädling zu entwickeln. Dabei soll der Verursacher unregelmäßig großflächig auftretender Waldverluste, der Kiefernspinner *Dendrolimus pini*, durch die vorübergehende Überschwemmung gefährdeter Kiefernwälder mit Eiparasitoiden wirksam auf eine verträgliche Populationsdichte reguliert werden. Verstärkte Parasitierungen von *D. pini* sollen erwartete Schäden an Baumbeständen in einem solchen Maß verringern, dass möglichst auf den Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel verzichtet werden kann. Als Aufgabenschwerpunkte in diesem Vorhaben wurden vor Beginn der Arbeiten genannt:

1. die Festlegung auf eine oder mehrere wirksame Parasitoidenarten
2. die Erarbeitung von Verfahren zur Massenzucht sowie
3. die Entwicklung von Methoden zur großflächigen Ausbringung in befallenen Kiefernwäldern

Ausgangspunkt des Vorhabens war die gemeinsame Erarbeitung eines Anforderungskatalogs, welcher als die wesentliche inhaltliche Orientierung beider Projektpartner gilt. Die Darstellung biologischer, technischer und auch ökonomischer Anforderungen soll die in der Verfahrensentwicklung erforderlichen Untersuchungs- und Prüfschritte verdeutlichen und den Entwicklungsprozess zielführend steuern.

Um erforderliche Versuche ermöglichen zu können, sollten Zuchten des Zielorganismus wie auch von Parasitoiden regelmäßig ausreichende sowie vitale Versuchstiere bereitstellen. Da die grundsätzliche Verwendbarkeit von *Trichogramma dendrolimi* im biologischen Pflanzenschutz bereits bekannt war, fand früh eine Vorfestlegung auf die Art statt. Die Eignung weiterer Antagonisten sollte in einer frühen Phase des Projekts geprüft werden.

In Labortests sollte die Wirksamkeit der Parasitoiden und die Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Entwicklungsstadien von Eiern des Kiefernspinners untersucht (Raum-Zeit-Synchronisierung; Pro- oder Synovigenie; Erfolgskontrollen) sowie ökologische Rahmenbedingungen für erfolgreiche Parasitierungen identifiziert werden (Temperatur, Feuchte). Da zur Wirtsfindung in Baumstrukturen nur unklare Angaben aus Plantagen bestanden, wurde es erforderlich, regelmäßige Suchweiten des Parasitoiden unter den Bedingungen von Kiefernkronen zu erheben (Wirkungsradien).

Die Eignung und Wirksamkeit entsprechender Entwicklungen sollte in (Semi-) Freilandversuchen überprüft werden. Möglichkeiten und Grenzen der Überschwemmungsmethode sollten zusätzlich erarbeitet sowie Auswirkungen auf Nichtzielorganismen betrachtet werden.

Die abschließende Entwicklung eines praxisreifen Verfahrens zur Kontrolle des Kiefernspinners, die von der Grundentscheidung für einen bestimmten Eiparasitoiden bis zu dessen marktreifer Anwendung reicht, war innerhalb des rund dreijährigen Bearbeitungszeitraums nicht möglich. Zwar wurden wichtige Zwischenziele bei Festlegung und Massenzucht von *Trichogramma dendrolimi*, bei der Formulierung einer Spritzflüssigkeit und bei der hubschraubergestützten Applikationstechnik erreicht, doch sind bis zu einem praxistauglichen Verfahren noch wesentliche Weiterentwicklungen unerlässlich. Die erforderlichen Fortschritte sollen über ein Folgevorhaben erreicht werden.

b) Wissenschaftlicher und technischer Arbeitsstand

Um in Wäldern die Sicherung ökonomischer Belange und die Aufrechterhaltung vielfältiger Ökosystemleistungen gewährleisten zu können, muss der Waldschutz auf ein möglichst breites Spektrum an vorzugsweise nicht chemischen, bei Nichtverfügbarkeit aber auch chemischen Pflanzenschutzmitteln zurückgreifen können. Zur Bekämpfung des Kiefernspinners war zum Zeitpunkt des Projektstarts lediglich eine chemische Wirkstoffgruppe (Pyrethroide) zugelassen, inzwischen sind es zwei Wirkstoffgruppen (zusätzl. Tebufenozid), außerdem sind *B.t.*-Präparate im Einsatz. Ein insbesondere breiteres biologisches Spektrum an Pflanzenschutzverfahren wäre aber wichtig, um für unterschiedliche Ausgangssituationen die geeignetste Handlungsoption wählen zu können. Zugleich stellt der globale Klimawandel eine wachsende Herausforderung dar und so wird die Notwendigkeit eines wirksamen Pflanzenschutzes in Wäldern in den nächsten Jahrzehnten deutlich steigen (Möller 2013, Petercord 2013, Hoch et al. 2017). Es besteht eine große Dringlichkeit, weitere nachhaltige Waldschutzverfahren zu entwickeln. Die Anwendung natürlicher Regulatoren hat dabei zahlreiche Vorteile gegenüber verschiedenen anderen Pflanzenschutzmaßnahmen.

Die oft schwach strukturierten Kiefernwälder des norddeutschen Tieflandes haben ein hohes Gefährdungspotential durch Massenvermehrungen verschiedener nadelfressender Insekten, von denen der Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*, *Lepidoptera*, Familie Lasiocampidae) einer der schädlichsten ist (Weckwerth 1952, Möller 2009; 2016, Hentschel et al. 2018). Vor allem auf trockenen, nährstoffarmen Standorten war die Raupenart immer wieder in der Lage, existenzbedrohende Dichten aufzubauen (Schwerdtfeger 1981, Autorenkollektiv 1998, 1999, Möller 2007). In der Vergangenheit wurden bereits zahlreiche großflächige Pflanzenschutzmaßnahmen gegen Kiefernspinner notwendig, nachdem Experten sowohl die Wirtschaftlichkeit als auch die Ökologie der Bestände bedroht sahen (Gräber al. 2012). Untersuchungen zeigten einen Zusammenhang zwischen dem Beginn von Massenvermehrungen des Kiefernspinners und trockenen und warmen Vegetationszeiten (Majunke 2000; Ziesche 2015). Die für die nächsten Jahre prognostizierte Zunahme der Durchschnittstemperaturen und die Zunahme von Extremwetterlagen weisen auf ein in Zukunft noch höheres Gefährdungspotential durch den Kiefernspinner hin (Ziesche 2015). Schafellner und Möller (2018) klassifizierten die Art als Klimawandelgewinner.

Pro Raupe des Kiefernspinners wird ihr Gesamtnahrungsverbrauch auf bis zu 38 g geschätzt, was ca. 900 Nadeln entspricht (FNR 2022). Nach Erfahrungen liegt eine kritische Raupendichte basierend auf der Leimringmethode für einen 80-jährigen Bestand bei 160 Raupen. Insbesondere in dem Zeitraum nach der Überwinterung bis zur Verpuppung findet das Hauptfraßgeschehen statt, bei dem neben den Nadeln auch Knospen oder einzelne Triebe gefressen werden. Schon einmaliger Kahlfraß führt zum Absterben der Kiefern, wenn die Nadelverluste 80 % der Gesamtnadelmasse übersteigen (Apel 2000; Habermann und Geibler 2001).

Zur biologischen Bekämpfung des Kiefernspinners könnten Eiparasitoide wie Erzwespen (*Chalcidoidea*), die Teil der natürlichen Regulation von Lepidopteren sind, eine besondere Bedeutung haben (Kratochwil und Schwabe-Kratochwil 2001). Wu et al. berichteten für China bereits 1988 von dem erfolgreichen Einsatz der polyphagen Erzwespe *Trichogramma dendrolimi* gegen den unserem heimischen Kiefernspinner nahe verwandten *Dendrolimus punctatus*, dessen Dichte um 70-90 % reduziert werden konnte. Mittlere Parasitierungsraten durch *Trichogramma dendrolimi* gegenüber *D. punctatus* lagen im Rahmen der 16-jährigen Untersuchung zwischen 80-85 % und unter Gradationsbedingungen wurden sogar bis zu 95 % erzielt.

Trotz vorliegender Hinweise auf die Züchtbarkeit, Wirksamkeit, und Anwendbarkeit von *T. dendrolimi* gegen einen Kiefernschädling fehlen klare Informationen zur Nutzung dieser Erzwespenart im Waldschutz. Auch gibt es bisher nur wenige Versuchs- bzw. Anwendungsbeschreibungen von *T. dendrolimi* (z. B. zum Einsatz gegen den Apfelwickler *Cydia pomonella*

und den Pflaumenwickler *Grapholita funebrana*), insbesondere sind aber flächige Behandlungen an Waldbäumen nicht dokumentiert. Auch frühe Versuche von Wellenstein (1934), eine Erzwespe (*T. minutum*) bei der Forleulenbekämpfung einzusetzen, können hier keine Erkenntnisse liefern, da sie auf händischer Ausbringung des Parasitoiden beruhen, die für praktische Anwendungen ungeeignet ist.

Die Erzwespe *Trichogramma dendrolimi* wird nicht in der *Entomofauna Germanica* (Dathe et al. 2001) geführt, gilt aber nach der *Fauna Europaea* (Museum f. Naturkunde 2000-2004) in mehreren europäischen Ländern und in Deutschland als heimisch. Einen Beleg für das Auftreten der Erzwespe in Deutschland beschreibt das Centre for Agriculture and Bioscience International durch einen Fund, der nicht auf eine Ausbringung zurückzuführen war (CABI 2018). *Trichogramma dendrolimi* kann daher in Deutschland entsprechend § 40 Nr. 1 Abs. 2 Bundesnaturschutzgesetz zum Zweck des biologischen Pflanzenschutzes ohne Genehmigung durch zuständige Naturschutzbehörden ausgebracht werden. Für den Makroorganismus besteht auch keine Notwendigkeit einer pflanzenschutzrechtlichen Zulassung (vgl. Art. 2 der Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 vom 21.10.2009). Große Vorteile für den Einsatz liegen darin, dass weder Vorschriften über die Anzahl der Anwendungen oder erlaubte Aufwandmengen bestehen noch eine spezifizierte Indikation der Anwendung erforderlich ist. Weiterhin positiv ist die gesundheitliche Unbedenklichkeit des Parasitoiden für Menschen und Nutztiere.

2. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die NW-FVA ist Koordinator und federführend für dieses Verbundvorhaben. Sie übernahm in Kooperation mit BIO CARE die Definition der anstehenden Aufgaben und Entwicklungsschritte, die Planung von Versuchen und die Wahl von Testflächen für Freilanduntersuchungen. Der NW-FVA oblag es insbesondere, möglichen Verbesserungsbedarf aus waldschutzfachlicher Sicht zu identifizieren und in Zielvorgaben einzubinden. Die erforderlichen Abstimmungen und Realisierungen erfolgten in regelmäßigem, engem Austausch mit der Firma BIO CARE. Die NW-FVA übernahm im Verbund im Wesentlichen die Entwicklung und die Prüfung der technischen Aspekte einer hubschraubergestützten Applikation.

Die BIO CARE Gesellschaft für biologische Schutzmittel mbH ist eine der wenigen Firmen in Deutschland, die seit 1995 *Trichogramma*-Schlupfwesen (*T. brassicae*) zur biologischen Bekämpfung des Maiszünslers herstellt und vermarktet. Das Teilvorhaben brachte somit eine große Zuchterfahrung in die Vermehrung von vitalen, wirksamen *Trichogramma dendrolimi* ein. Erfahrungen und Kenntnisse des Unternehmens zur Erarbeitung von Ausbringungsmethoden wurden im Verbundvorhaben insbesondere bei der Entwicklung einer neuartigen Flüssigformulierung genutzt.

Des Weiteren wurde das Projekt durch die Firma Helix Fluggesellschaft mbH aus Neuenstein unterstützt, welche die hubschraubergestützte Applikation in einem Freilandversuch realisierte und bei der Auswahl geeigneter Spritzdüsen beratend zur Verfügung stand. Die Firma verfügt über eine 30-jährige Erfahrung mit Flugeinsätzen im Pflanzenschutz, bei denen sie auch Bekämpfungsmaßnahmen über Wald gegen verschiedene Schmetterlingsarten durchführt. Darüber hinaus ist sie außerdem mit Versuchsdurchführungen im Rahmen von Mittelprüfungen vertraut. Ihre Spritzgerätetechnik, die dem aktuellen technischen Stand entspricht (AS 350, fest montierte Simplex Sprühanlage, TeeJet-Düsen) wurde im Rahmen des Vorhabens dazu genutzt, die Erforderlichkeit technischer Anpassungen zu prüfen.

Mit verschiedenen anderen forstlichen Versuchsanstalten im Deutschen Verband Forstlicher Forschungsanstalten (DVFFA) bestehen direkte Kontakte, die für einen allgemeinen Informationsaustausch zum Verbundvorhaben genutzt werden.

3. Resümee der wesentlichen Ergebnisse

a) Arbeitspakete und Meilensteine

Arbeitspakete (AP) (lt. Planung im Antrag)	Bearbeitungszeitraum (lt. Balkenplan im Antrag)	Zielerreichung
AP 1 (NW-FVA, BIOCARE;) Allgemeiner Anforderungskatalog	06/2019 bis 09/2019	Vorläufig abgeschlossen 09/2019 Alle geplanten Arbeiten wurden durchgeführt. Ein allgemeiner Anforderungskatalog wurde erstellt und bei neuen Erkenntnissen laufend angepasst.
AP 2 Laborzucht Kiefernspinner (NW-FVA) und Eiproduktion <i>Trichogramma dendrolimi</i> (BIOCARE)	ab 09/2019 fortlaufend	Abgeschlossen Alle geplanten Arbeiten wurden durchgeführt. Kiefernspinnerzucht 06/19 übernommen, <i>T. d.</i> -Zucht seit 12/19. Die Zuchten werden aufrechterhalten für lfd. Versuche und Folgeprojekt. Stets stehen vitale Versuchstiere in den erforderlichen Mengen für Versuchszwecke bereit.
AP 3 (NW-FVA, BIOCARE) Untersuchungen zu Nützlingen	07-12/2019 und 07-12/2020 07/2019-03/2020 04-06/2020 und 04-09/2021 10/2019-06/2020 06/2020	Abgeschlossen Alle geplanten Arbeiten wurden durchgeführt. Kenntnisse zum natürlichen Parasitoidenspektrum und zur Eignung der verschiedenen Arten für biologischen Pflanzenschutz wurden zusammengetragen. Die Festlegung auf <i>Trichogramma dendrolimi</i> als wirksame und massenweise produzierbare Nützlingsart gegen <i>Dendrolimus pini</i> wurde getroffen.
AP 4 Entwicklung von Ausbringungsformen (BIOCARE) und angepasster Technik (NW-FVA, BIOCARE)	02-06/2021 und 04/2022 04/2021-05/2022 Gerätetechnik: Entscheidung 04/21 Formulierung: Entscheidung 06/21	In Arbeit Alle geplanten Arbeiten wurden durchgeführt. Grundlagen der LFZ-gestützten Ausbringung wurden erarbeitet und getestet, außerdem LFZ-Gerätetechnik geprüft, im Folgevorhaben noch Optimierungen zur LFZ-Applikation erforderlich Da für großflächige Bekämpfungen im Kronenraum von Wäldern bereits regelmäßig hubschraubergestützte Spritzapplikationen effektiv zum Einsatz kommen, wurde der aktuelle Stand der Hubschraubergerätetechnik an die massenweise Ausbringung von <i>T. dendrolimi</i> angepasst und außerdem eine Flüssigformulierung entwickelt, die im Labor die erforderlichen Fähigkeiten für Applikationen besaß (Verträglichkeit, Mischbarkeit, Anhaften an Zielobjekten, Regenfestigkeit).
		In Arbeit Die meisten Arbeiten sind erfolgt.

<p>AP 5 (NW-FVA, BIOCARE; Prüfung im Semi-Freiland und Optimierungen</p>	<p>09/2021-05/2022</p>	<p>Der bestehende Bedarf zu Optimierungen kann erst in einem Folgeprojekt weiter bearbeitet werden.</p> <p>Die ursprüngliche Planung sah zwei aufeinander aufbauende Freilandprüfungen (in 2020 u. 2021) vor. Unverschuldete Verzögerungen durch Krankheiten und Personalwechsel sowie umfangreicher erforderliche Vorversuche ließen lediglich eine Freilandprüfung im September 2021 zu. Sowohl die Gerätetechnik wie vor allem die Formulierung erfüllten in der praxisnahen Prüfung die gestellten Anforderungen nur zum Teil (unvollständige Dispersion der Zucht-Eier in der großen Spritzflüssigkeitsmenge, Wechselwirkungen einer tensidischen Komponente mit Rückständen in Gerätekomponenten).</p> <p>Aufgrund des Umfangs und der Komplexität der zu erarbeitenden Verbesserungen soll in einem Folgeprojekt Expertenwissen zu Formulierungen im biologischen Pflanzenschutz hinzugezogen werden. Die Eignung von Formulierungsprototypen muss im Folgeprojekt wiederholt in praxisnahen Versuchen überprüft werden.</p>
<p>AP 6 (NW-FVA, BIOCARE; Beschreibung und Publikation des praxisreifen Verfahrens und Marktreife von <i>Trichogramma</i>- Anwendungen</p>	<p>Innerhalb des Projektzeitraums nicht erfüllbar</p>	<p>Noch nicht begonnen</p> <p>muss Folgeprojekt vorbehalten bleiben. Arbeitsbedarf hier voraussichtl. ca. vier Monate. Die Arbeiten werden erst im nächsten Berichtszeitraum beginnen. Voraussetzung ist die Bewilligung eines Folgeprojekts.</p> <p>Die innovative Entwicklung einer Nützlingsanwendung im Wald hat gute Erfolgsaussichten in der Verfahrensentwicklung, die Praxis- u. Marktreife wurde noch nicht erreicht.</p>

Meilensteine (M) (lt. Planung im Antrag)	Fälligkeit (lt. Balkenplan im Antrag)	Zielerreichung
<p>M 1: Erstellung eines Anforderungskatalogs und Definition von Anforderungen an Verfahren</p>	<p>06/2019</p>	<p>Der Meilenstein wurde erfüllt.</p>
<p>M 2: Kenntnisse zum Parasitismus und Wirkweise von <i>T. dendrolimi</i>; Auswahl anderer geeigneter Parasitoidenart</p>	<p>03/2019</p>	<p>Der Meilenstein wurde verspätet erfüllt. Erst ab 12/2019 standen erste <i>T. dendrolimi</i> zur Verfügung. 06/2020 waren Wirksamkeit u. Eignung bestätigt.</p>
<p>M 3: Festlegung von Formulierungskandidaten für Ausbringungsverfahren; Benennung günstiger Applikations- bedingungen</p>	<p>06/2020</p>	<p>Der Meilenstein wurde verspätet erfüllt. Verzögerung bis 06/2021 trat ein, weil umfangreichere Vorversuche erforderlich waren als zunächst geplant (u. a. Ermittlung der Dispersion). Außerdem führten mehrfache Personalwechsel und erforderliche Einarbeitungen zu Zeitverlust.</p>

<p>M 4: Zusammenführung Prüfergebnisse aus Semi-Freiland</p>	<p>12/2020; 12/2021</p>	<p>Der Meilenstein wurde verspätet erfüllt.</p> <p>Die praxisnahe Prüfung von Ergebnissen aus Labor- und Semi-Freiland bestätigen die prinzipielle Eignung von <i>T. dendrolimi</i> bei aviotechnischer Ausbringung.</p>
<p>M 5: Weiterentwicklung/Optimierung der Verfahren</p>	<p>03/2021; 12/2021</p>	<p>Der Meilenstein verzögert sich.</p> <p>Zur Optimierung der Gerätetechnik wurden nach einer praxisnahen Prüfung Ansätze erarbeitet. Optimierungen der Formulierung bleiben hingegen einem Folgevorhaben und Expertenwissen zu biologischen Pflanzenschutzmitteln vorbehalten. Außerdem sind bislang erst ansatzweise bearbeitete Fragen zum optimalen Anwendungszeitpunkt und zur genauen Bedarfsermittlung zu klären.</p>
<p>M 6: Kick-Off Meeting, Berichte, praxis- und marktreifes Verfahren</p>	<p>(06/2019, 04/2020, 04/2021, 04/2022)</p>	<p>Der Meilenstein verzögert sich.</p> <p>Kick-Off-Meeting am 24.07.2019 durchgeführt, Zwischenberichte für 2019 und 2020 abgeschlossen, vorläufiger Abschlussbericht am 16.12.2021 abgegeben.</p> <p>Praxis- und Marktreife des Verfahrens konnte noch nicht entwickelt, wichtige Grundlagen hierfür jedoch erarbeitet werden.</p>

b) Zusammenfassung

Wichtige Erkenntnisse und Zwischenziele konnten im gegebenen Projektzeitraum erfüllt werden, die Entwicklung eines praxisreifen Verfahrens zur Ausbringung des Eiparasitoiden *T. dendrolimi* gegen den forstschädlichen Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*) war im gegebenen Projektzeitraum jedoch nicht realisierbar.

Nach umfangreichen Recherchen zum Spektrum natürlicher Parasitoiden und zu deren Eignung für den Einsatz im biologischen Pflanzenschutz wurde *Trichogramma dendrolimi* als erfolgversprechendste Art sowohl in Bezug auf Wirksamkeit gegenüber *Dendrolimus pini* als auch auf die massenweise Produktion angesehen. Seit Dezember 2019 wird die Vermehrung der *Trichogramma dendrolimi* bei BIOCARE betrieben. Es wurden ein Verfahren zur Massenzucht der Erzwespenart auf dem Zuchtwirt *Sitotroga cerealella* erarbeitet und Kenntnisse zur regelmäßigen Suchweite des Parasitoiden gewonnen.

Daneben wurden hinreichende Parasitierungsraten von *T. dendrolimi* durch Überschwemmungsmethoden gegen den Kiefernspinner nachgewiesen, das für eine Parasitierung optimale Alter der Kiefernspinner-Eier ermittelt sowie die grundsätzliche Verträglichkeit von Flüssigformulierungen und hubschraubergestützter Applikation gezeigt.

Bei Untersuchungen zur Entwicklungsdauer von *Trichogramma dendrolimi* in *Sitotroga*-Eiern und ebenso von *D. pini*-Eiern unter kontrollierten Bedingungen stellte sich heraus, dass bei typischen Witterungsbedingungen zur Eiablagezeit des Kiefernspinners mit längeren Entwicklungszeiten sowohl für *T. dendrolimi* als auch für *D. pini* zu rechnen ist als unter Zuchtbedingungen. Bisherige Laborergebnisse legen nahe, dass erfolgversprechende Ausbringungen von *Trichogramma dendrolimi* für Bekämpfungsmaßnahmen bei anhaltend sommerlichen Temperaturen um ca. 24°C mit einem rund einwöchigen Vorsprung und bei anhaltend kühlen Temperaturen unter 17°C mit einem etwa zweiwöchigen Vorlauf vor der Eiablage des Kiefernspinners erfolgen sollten. Zugleich zeigt sich, dass der Parasitoid in engen Grenzen konserviert und seine Bereitstellung kurzfristig angepasst werden kann.

Im Rahmen einer Freilandprüfung konnte die massenweise Züchtung schlupfbereiter *Trichogramma dendrolimi* erfolgreich umgesetzt sowie die Verträglichkeit der hubschraubergestützten Applikation für den Parasitoiden und die grundsätzliche Eignung der Parasitoidenausbringung gegen den Zielwirt *Dendrolimus pini* bewiesen werden. Daneben wurde deutlich, dass die erforderliche homogene Verteilung der Eier trotz der aussichtsreichen Vorversuche im Labor bisher nicht für praxisübliche Tankfüllmengen realisiert werden kann. Die Schwierigkeiten bei der Formulierung eines Naturprodukts sollen durch Einbeziehung von Experten für Formulierungsfragen und Erfahrungen im Umgang mit anderen biologischen Pflanzenschutzmitteln in einem Folgevorhaben behoben werden. Bereits weitgehend geklärt wurden in weiterführenden Versuchen mit der Hubschrauber-Spritzanlage technische Anforderungen, mit denen sich eine Verstopfung von Düsen, die in der ersten Prüfung noch aufgetreten war, verhindern lassen sollte.

Aus sämtlichen während des Projektes erzielten Ergebnissen konnten wichtige Kenntnisse zu den Anforderungen und zu erforderlichen Optimierungen des Verfahrens erzielt werden, die die Anschlussfähigkeit weiterer Verfahrens-Entwicklungen in einem Folgeprojekt verbessern.

II. Ausführliche Darstellung der Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

1.1 Erarbeitung von Anforderungen an das Projekt

Als Grundlage für die Verfahrenserarbeitung und als Ausgang für einzelne Entwicklungsschritte wurde ein allgemeiner Anforderungskatalog erstellt, der einen zielgerichteten und strukturierten Entwicklungsprozess unterstützte. Anhand der dort formulierten Anforderungen konnten sowohl die Fragestellungen zu einzelnen Teilfunktionen identifiziert als auch entsprechende Untersuchungen geplant und umgesetzt werden. Im Laufe des Projektes wurde der Katalog mehrfach entsprechend den jeweils anstehenden Aufgaben oder neuen Erkenntnissen erweitert.

Beispielsweise wurden Anforderungen definiert, welche sich durch die Zielart *Dendrolimus pini*, durch den zum Einsatz kommenden Parasitoiden *Trichogramma dendrolimi* als biologisches Bekämpfungsmittel oder durch das Einsatzgebiet Kieferbestand ergeben. Die festgelegten Kriterien wurden im Anschluss in dem Katalog mit Anforderungen an technische Funktionen für eine massenweise Produktion und an eine wirksame Applikation verknüpft.

1.2 Wahl einer Nützlingsart und Festlegung auf *T. dendrolimi*

Kenntnisse zum Antagonistenspektrum in Kiefernwäldern wurden zusammengetragen und dazu genutzt, die Wahl des Nützlings auf eine Art zu legen, die schon aufgrund ihrer deutlichen Relevanz in der natürlichen Regulation eine besondere Eignung und hohe Wirksamkeit gegenüber dem Kiefernspinner besitzt. Neben der hohen Parasitierungsrate bestand eine wesentliche Anforderung in der massenweisen Züchtbarkeit. Die zahlenmäßig ausreichende Großproduktion mit einer gleichbleibend hohen Qualität effizienter Parasitoide ist Voraussetzung für ihre Verwendbarkeit im Pflanzenschutz.

Da bereits verschiedene Quellen übereinstimmend über die regelmäßig beobachteten Arten berichten und wesentliche neue Erkenntnisse zu relevanten Parasitoiden nicht zu erwarten waren, wurde auf eine eigene Freilandstudie verzichtet, zudem deren Ergebnisse erst spät im Projektverlauf vorgelegen hätten und für das eigene Vorhaben kaum noch nutzbar gewesen wären.

In die Auswertung der Literatur wurden nationale und internationale Veröffentlichungen einbezogen (Bathon 1999; Choi 2019; Hirose 1968, 1986; Hyun 1968; Glowacka-Pilot 1974; Jahn 1964; Möller 2009, 2011; Orr 1988; Schwerdtfeger 1981; Sierpiska 1998, Skrzecz 2002; Smith 1996, Weckwerth 1952, Wu et al. 1988; Zimmermann 2010). Daneben erfolgten Kontaktaufnahmen zu Wissenschaftlern, die auf dem Gebiet des Parasitismus bei Lepidopteren forschen (S. A. Hassan, R. G. Kleespies). Bemühungen, von chinesischen Experten Informationen zu dortigen *Trichogramma*-Anwendungen in Kiefernwäldern zu erhalten, blieben unbeantwortet.

Verschiedene Autoren nennen übereinstimmend *Trichogramma dendrolimi* und *T. brassicae*, sowie *Telenomus laeviusculus* und *Anastatus bifasciatus* als teilweise effiziente Parasitoide von Eiern des Kiefernspinners. Über *T. dendrolimi* wird berichtet, dass sich die Art im Bestand bis zu 15 m weit verbreite, die Parasitierungsrate zwischen 80 % und 85 % schwanke, aus einem Kiefernspinnerei 20-30 Parasitoide dieser Art schlüpfen und die Lebensdauer von *Trichogramma dendrolimi* mit fünf bis sieben Tagen relativ kurz sei. Dagegen soll *Telenomus laeviusculus* mit bis zu 300 m im Bestand größere Distanzen zurücklegen, eine in etwa

vergleichbare Parasitierungsrate zwischen 80 % und 95 % bei allerdings lediglich sechs bis acht Nachkommen pro Kiefernspinner-Ei besitzen und sich durch eine vergleichsweise deutlich höhere Langlebigkeit von acht bis neun Monaten auszeichnen. *Anastatus bifasciatus* kann nach Literaturangaben im Bestand 60-80 m zurücklegen und bei nur 8 % Parasitierungsrate entwickeln sich aus einem parasitierten Kiefernspinnerei zwischen 6-20 Tiere, deren Lebensdauer mit 80-120 Tagen ebenfalls vergleichsweise hoch angegeben wird. Für *T. brassicae* waren Angaben zur Parasitierungsrate bei Kiefernspinnern nicht zu ermitteln, es wurde lediglich erwähnt, dass diese Art an parasitierten Eiern gefunden wurde.

Die Züchtbarkeit der Parasitoide auf Ersatzwirten und die Möglichkeit, die Eier in großen Mengen zu vermehren, besteht bei *Trichogramma dendrolimi* und bei *T. brassicae*, die bereits kommerziell gezüchtet und zur biologischen Bekämpfung eingesetzt werden. Dagegen ist *Telenomus laeviusculus* bisher kommerziell nicht verfügbar und auch für *Anastatus bifasciatus* fehlt eine entsprechende Anwendung.

T. brassicae, die übergangsweise im Projekt eingesetzt wurde, solange *T. dendrolimi* nicht zur Verfügung stand, zeigte in hier nicht weiter dargestellten Versuchen gegenüber verschiedenen Eizuständen von *T. dendrolimi* keine nennenswerte Wirksamkeit.

Aufgrund der hohen Parasitierungsrate, außerdem kurzer Lebensdauer, die allenfalls begrenzte Nebenwirkungen von Überschwemmungsverfahren auf Nichtziel-Arthropoden erwarten lassen, und der Tatsache, dass die Züchtbarkeit in großen Mengen bereits bestätigt ist, wurde *T. dendrolimi* für die weitere Verfahrensentwicklung gewählt.

1.3 Laborzucht von *D. pini*

Zur Bereitstellung von hochwertigen Kiefernspinner-Eiern zu Versuchszwecken wurde eine kontinuierliche Laborzucht betrieben. Der Umfang der Zucht sowie der einzelnen Entwicklungsstadien wurden jeweils im Vorfeld an geplante Versuche angepasst. Dabei musste eine unterschiedliche Mortalität jüngerer oder älterer Stadien berücksichtigt werden. Der durchschnittliche Betreuungsaufwand der Zucht umfasste vier Stunden pro Tag und stieg vor Versuchen mit hohem Bedarf an Eiern deutlich an. Urlaubs- oder krankheitsbedingte Ausfälle mussten durch studentische Hilfskräfte ausgeglichen werden. In regelmäßig wöchentlichem Abstand war die Beschaffung und Bereitstellung einer größeren Menge frischer Kiefernzweige als Futter erforderlich.

Im gesamten Projektzeitraum traten weder Krankheiten noch eine unnatürlich hohe Mortalität unter den Tieren auf, der gesundheitliche Zustand der Zuchttiere war erfreulich gut.

Um eine unterschiedliche Eignung verschiedener Kiefernspinner-Eier für Versuchszwecke beurteilen zu können, wurde neben der Erfassung der Eier nach ihrem Alter, nach einer zuverlässigen und möglichst einfachen Differenzierbarkeit befruchteter und unbefruchteter Eier gesucht. Durch ein einfaches Experiment konnte bestätigt werden, dass sich zunächst grüne Eier nach etwa 2-3 Tagen braun verfärbten, wenn sie befruchtet waren, während unbefruchtete Eier langfristig grün blieben.

Durch weitere Versuche konnte geklärt werden, ob und bei welchen Temperaturen sich Kiefernspinnereier aufbewahren lassen, ohne an Vitalität einzubüßen. Nach Misserfolgen mit dem Einfrieren von Eiern erwiesen sich sehr junge (einen Tag alte) Eier des Kiefernspinners bei 2°C im Kühlschrank als für höchstens zwei Wochen weitgehend unbeschadet lagerfähig. Ältere Eier zeigten sich gegenüber der Kühlung robuster.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass sich der für das Aufkleben von Eiern auf Eikärtchen verwendete Leim (Tragant- oder DKB-Leime) nicht in einer Veränderung der Schlupfrate bemerkbar macht.

1.4 Wirksamkeit von *T. dendrolimi*

In den durchgeführten Laborversuchen mit Kiefernspinnern wurden regelmäßig 10 (im Einzelfall bis zu 300) vitale Eier auf Kärtchen aufgeklebt und in atmungsaktiv verschlossenen 100 ml-Glasröhrchen gegenüber *Trichogramma dendrolimi* präsentiert. Die Erzwespen wurden dabei teilweise als adulte Tiere eingesetzt, wenn eine definierte Anzahl weiblicher Tiere erforderlich war. In anderen Fällen kam eine abgewogene Menge von 1 oder 2 g parasitierter, vier Tage alter *Sitotroga*-Eier zum Einsatz. Um eine Verwechslung zwischen den ursprünglich eingesetzten Trichogrammen und den geschlüpften, zur Bestimmung der Parasitierungsrate und des Schlupferfolgs herangezogenen Trichogrammen auszuschließen, wurden die Kiefernspinner-Eier nach einer Woche (d. h. vor dem Schlupftermin) allein in frische Glasröhrchen gegeben. Im Anschluss wurden die Eier täglich auf Verfärbung, Ausbohrlöcher und Schlupf von Parasitoiden kontrolliert. Nach weiteren 14 Tagen wurden die Proben eingefroren und standen so abrufbar für das Auszählen von Parasitierungen, des Parasitoiden-Schlupfs und des Geschlechterverhältnisses zur Verfügung. In Auswertungen wurden die Ergebnisse auf statistische Unterschiede durch lineare Regressionsanalysen mit der Statistik-Software R statistisch geprüft.

Die Rahmenbedingungen in den Versuchen waren für Trichogrammen günstig mit konstant 25°C Raumtemperatur, 70% relative Luftfeuchte und 16L:8D Langtagbedingungen (16 Std. hell, 8 Std. dunkel) (Lenteren 2003).

1.4.1 Parasitierungsraten des Parasitoiden

In einem ersten Versuch zur Wirksamkeit von *Trichogramma dendrolimi* gegenüber dem beabsichtigten Parasitierungsziel wurden adulten Erzwespen sowohl befruchtete als auch unbefruchtete *D. pini*-Eier zur Verfügung gestellt. Wie auch in späteren Versuchen, parasitierte *Trichogramma dendrolimi* die Eier von *Dendrolimus pini* mit einer hohen Rate von 90 %, wobei befruchtete Eier des Kiefernspinners deutlich bevorzugt wurden. Der Schlupf von Trichogrammen war nach 10-14 Warmtagen zu beobachten. Aus einem Kiefernspinner-Ei schlüpften durchschnittlich 37 Trichogrammen.

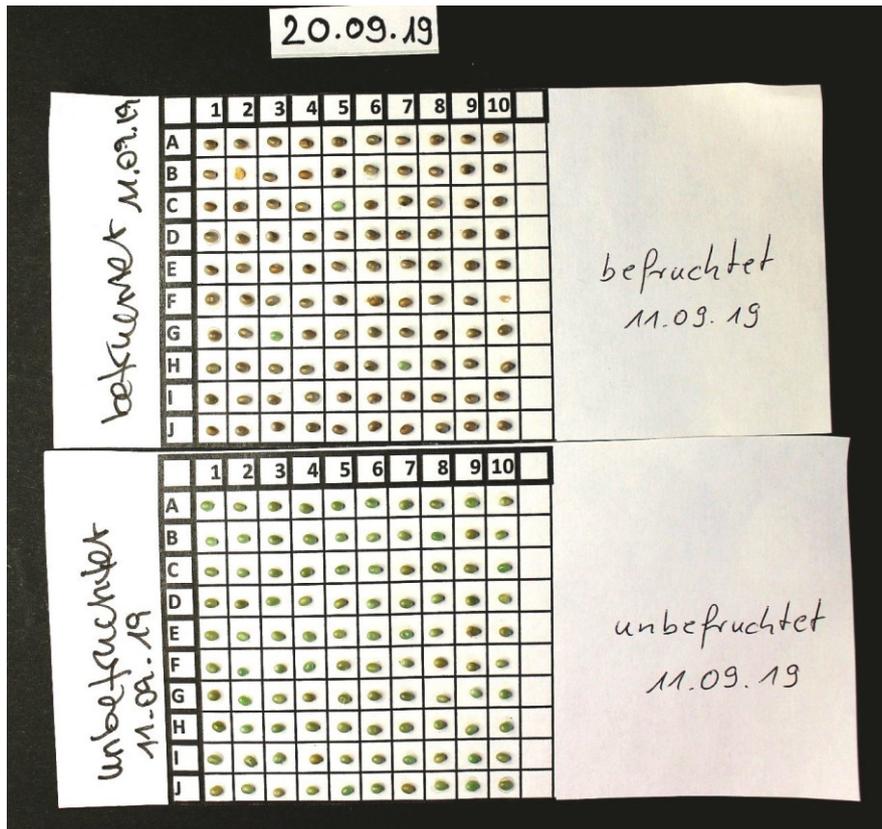


Abbildung 1: Auf Eikärtchen aufgeklebte Eier des Kiefernspinners. Unbefruchtete Kiefernspinnereier bleiben vorwiegend grün gefärbt, während sich befruchtete Eier nach einigen Tagen braun verfärben.

Ein Tastversuch sollte Einblick geben, wie viele Kiefernspinner-Eier ein Weibchen von *T. dendrolimi* durchschnittlich parasitiert und wie viele Parasitoide im Mittel benötigt werden, um eine bestimmte Anzahl von *D. pini* zu parasitieren. Jeweils zehn frisch abgelegten *Dendrolimus pini*-Eiern (nicht älter als 24 Std.) wurde eine bestimmte Anzahl von *T. dendrolimi*-Weibchen hinzugegeben (0, 1, 10, 20, 30, 50 oder 100 Stk.) (Tabelle 1). Nach einer ausreichenden Entwicklungszeit wurden unter dem Binokular die Anzahlen der geschlüpften und der nicht geschlüpften Kiefernspinner, ebenso die Parasitierungs- und Schlupfraten der Parasitoide bestimmt, außerdem erfolgte eine Geschlechtsbestimmung der Trichogrammen.

Tabelle 1: Die Versuchsglieder zur Untersuchung der Parasitierungsrate.

Nr.	<i>T. dendrolimi</i> -Anzahl	Beschreibung
1	Kontrolle	10 aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen
2	1 Weibchen	Jeweils 1 Weibchen von <i>T. dendrolimi</i> und 10 aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Röhrchen
3	10 Weibchen	gleiche Menge Getreidemotteneier - parasitiert von <i>T. dendrolimi</i> - wie Eier von <i>D. pini</i> (10 aufgeklebte <i>D. pini</i> -Eier pro Röhrchen)
4	20 Weibchen	zweifache Menge Getreidemotteneier - parasitiert von <i>T. dendrolimi</i> - wie die Anzahl Eier von <i>D. pini</i> (10 aufgeklebte <i>D. pini</i> -Eier pro Röhrchen)

5	30 Weibchen	dreifache Menge Getreidemotteneier - parasitiert von <i>T. dendrolimi</i> - wie die Anzahl Eier von <i>D. pini</i> (10 aufgeklebte <i>D. pini</i> -Eier pro Röhrchen)
6	50 Weibchen	fünffache Menge Getreidemotteneier - parasitiert von <i>T. dendrolimi</i> - wie die Anzahl Eier von <i>D. pini</i> (10 aufgeklebte <i>D. pini</i> -Eier pro Röhrchen)
7	100 Weibchen	zehnfache Menge Getreidemotteneier - parasitiert von <i>T. dendrolimi</i> - wie die Anzahl Eier von <i>D. pini</i> (10 aufgeklebte <i>D. pini</i> -Eier pro Röhrchen)

Dieser Versuchsaufbau zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl an durchschnittlich beobachteten Parasitierungen von zehn Kiefernspinnereiern und der Menge an eingesetzten Parasitoiden. Mit steigender Anzahl an Trichogrammen nahm die Anzahl an parasitierten Eiern zu (Abbildung 2). Parasitierte ein einzelnes *T. dendrolimi*-Weibchen durchschnittlich 0,6 Kiefernspinnereier, wurden bei der Erhöhung auf gegenüber den Kiefernspinner-Eiern 10-fachen Menge an Parasitoiden durchschnittlich 8,5 von 10 Eiern parasitiert. Im untersuchten Wertebereich scheint ein quasi-linearer Zusammenhang zwischen der Anzahl pro Kiefernspinnerei vorhandener Parasitoiden und der erreichbaren Parasitierungsrate vorzuliegen. Es wurden signifikante Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Parasitoidenmengen festgestellt (Abbildung 2). Die zehnfache Menge an Parasitoiden unterschied sich, ebenso wie die fünffache und dreifache Menge an Parasitoiden signifikant zwischen allen anderen Versuchsgliedern. Lediglich zwischen der fünffachen und dreifachen Menge und der dreifachen und zweifachen Menge konnte kein Unterschied festgestellt werden. Die zweifache Menge wiederum unterschied sich von der zehnfachen, fünffachen, der 1 Weibchen-Behandlung und der Kontrolle jedoch nicht von der einfachen Menge. Kein signifikanter Unterschied konnte zwischen der 1 Weibchen-Behandlung und der Kontrolle beobachtet werden.

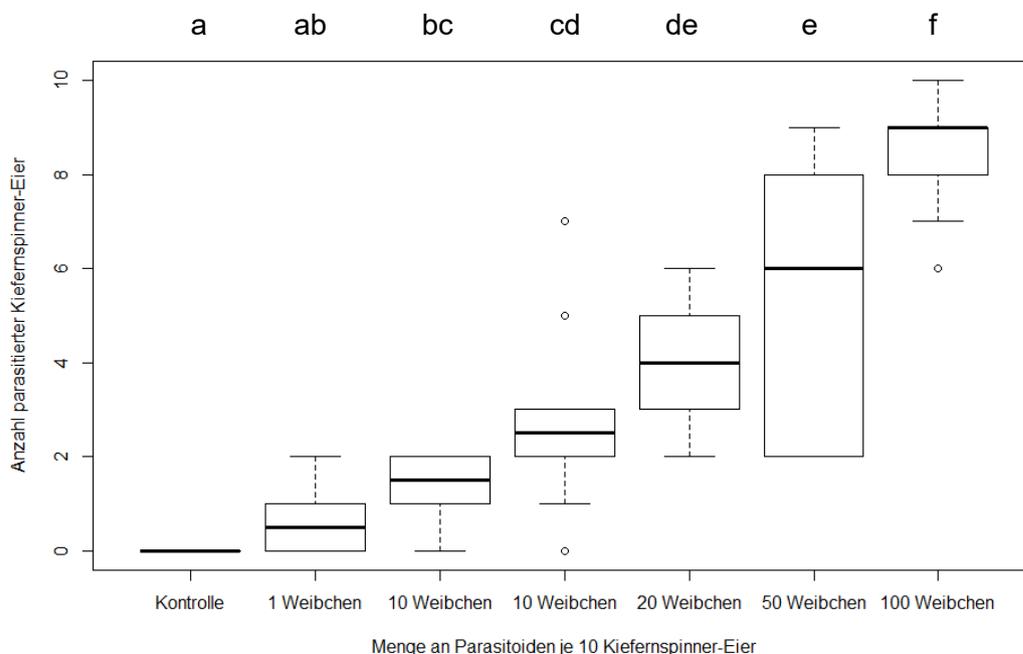


Abbildung 2: Anzahl parasitierter Kiefernspinner-Eier in Abhängigkeit von der Menge der eingesetzten Parasitoide. Dargestellt sind die Mediane und die jeweiligen Standardabweichungen. Unterschiedliche Buchstaben repräsentieren statistisch signifikante Unterschiede auf dem 5% Niveau laut Bonferroni-Korrektur.

Aus den Beobachtungen kann geschlossen werden, dass bei einer hinreichenden Menge von Ziel-Eiern jedes Erzwespen-Weibchen ein Kiefernspinner-Ei parasitieren kann, aber die Parasitierungsrate sich nur begrenzt durch die Menge der Parasitoide steigern lässt.

In diesem Versuch wurden bei starken Schwankungen der Einzelergebnisse durchschnittlich 30 geschlüpfte Parasitoide pro parasitiertem Kiefernspinner-Ei beobachtet (Abbildung 3). Auffallend war hierbei, dass es zwischen der Behandlung mit nur einem Weibchen und der zehnfachen Menge der eingesetzten Tiere keinen deutlichen Unterschied gab.

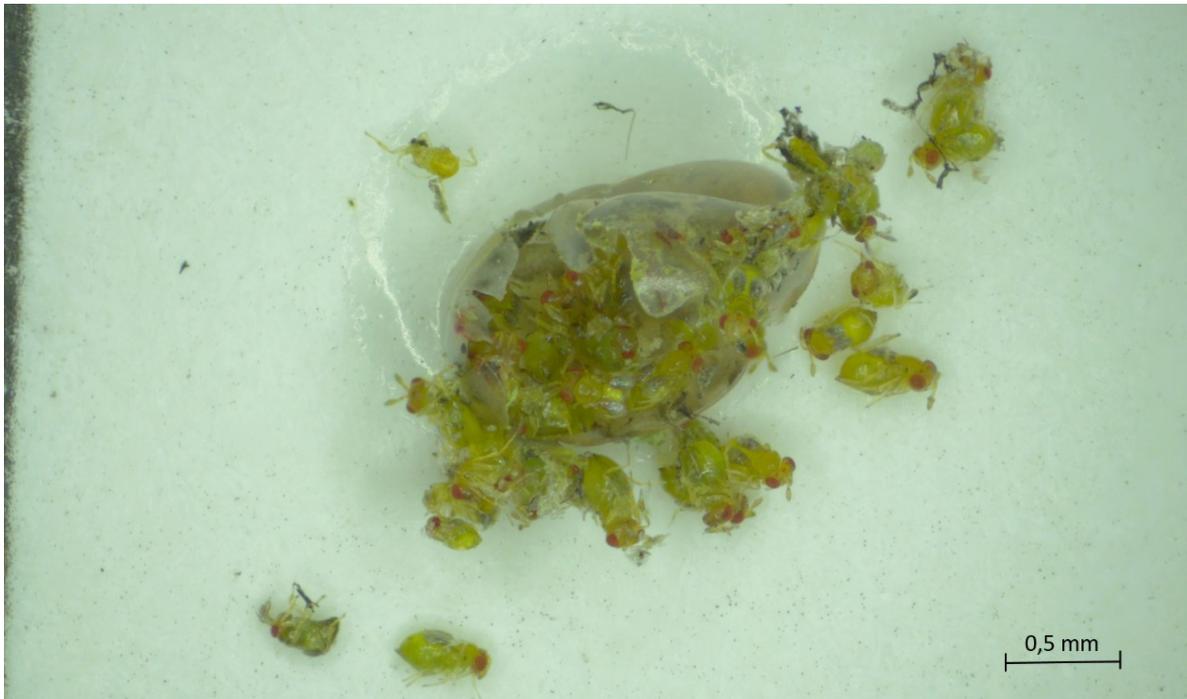


Abbildung 3: Parasitiertes Kiefernspinner-Ei mit frisch geschlüpften *T. dendrolimi*.

Die Anzahl an geschlüpften Parasitoiden pro Kärtchen unterschied sich signifikant zwischen der zehnfachen, der einfachen und zweifachen Menge an eingesetzten Parasitoiden und der einfachen und der dreifachen Menge. Zwischen allen anderen Versuchsgliedern waren die Unterschiede nicht signifikant unterschiedlich (Abbildung 4). Jedoch war die maximale Anzahl an geschlüpften Parasitoiden pro Ei bei der zehnfachen Menge höher und erreichte Maximumwerte bis zu 189 geschlüpften Parasitoiden (Abbildung 4).

Aus dem Ergebnis kann abgeleitet werden, dass die erforderliche Ausbringungsmenge für Bekämpfungen aufgrund der großen Anzahl geschlüpfter Parasitoide pro Kiefernspinner-Ei möglicherweise herabgesetzt werden kann, falls in zukünftigen Untersuchungen das Aufkommen einer Folgegeneration der ausgebrachten Trichogrammen festgestellt wird.

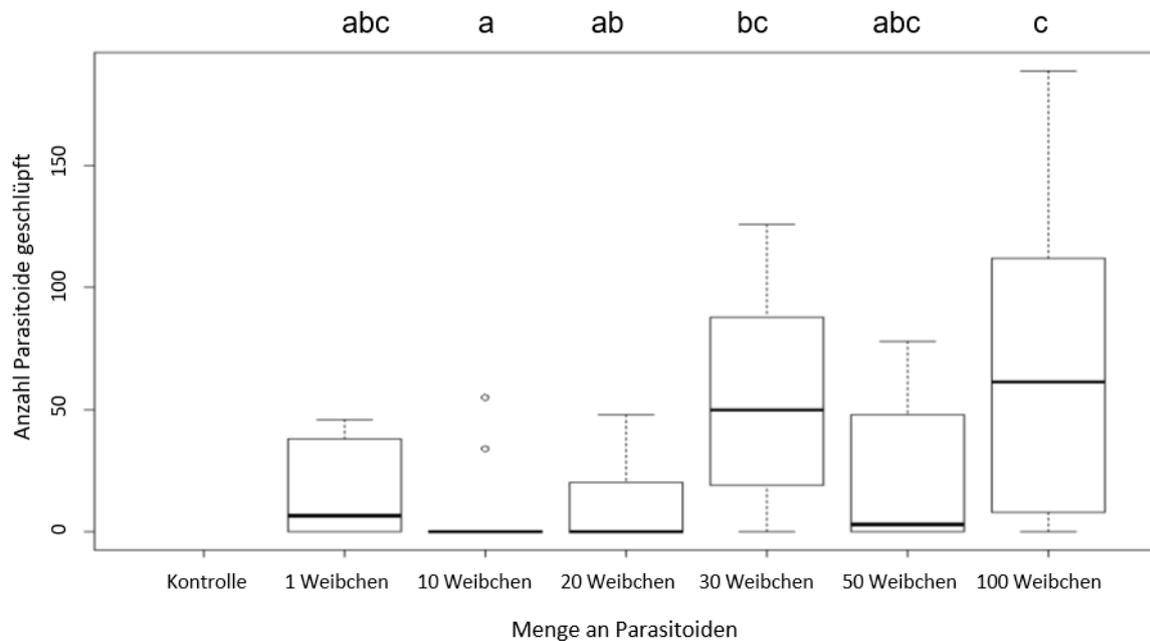


Abbildung 4: Durchschnittliche Anzahl geschlüpfter *T. dendrolimi* pro 10 Kiefernspinner-Eiern in Abhängigkeit von der Menge der eingesetzten Parasitoide. Dargestellt sind die Mediane und die jeweiligen Standardabweichungen. Unterschiedliche Buchstaben repräsentieren statistisch signifikante Unterschiede auf dem 5%-Niveau laut Bonferroni-Korrektur.

Da vor allem die *Trichogramma dendrolimi*-Weibchen für Parasitierungen wesentlich sind und damit für den Erfolg von biologischen Pflanzenschutzmaßnahmen eine große Bedeutung haben, wurde auch der Anteil geschlüpfter Weibchen im Versuch bestimmt. Er lag im Median bei 90%, wobei Einzelergebnisse zwischen 0% und 100% schwankten und zwischen den Versuchsvarianten keine statistisch signifikanten Unterschiede festzustellen waren.

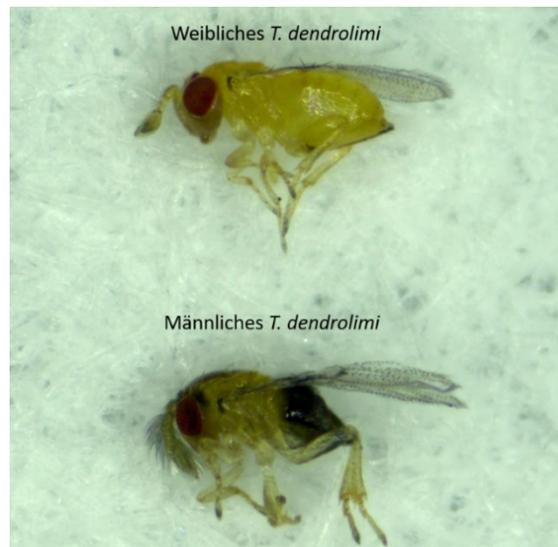


Abbildung 5: Weibliches und männliches *Trichogramma dendrolimi* mit den für die Art typisch roten Augen. Die gelben Weibchen besitzen ein tendenziell dickeres Abdomen und ihre Antennen weisen vorne eine nierenförmige Verdickung auf, während männliche *T. dendrolimi* meist ein kleineres und dunkleres Abdomen aufweisen. Ein eindeutiges Unterscheidungsmerkmal stellen die stark gefächerten Antennen der männlichen *T. dendrolimi* dar.

Insgesamt zeigen die im Labor bereits erzielten Ergebnisse, dass der Parasitoid *Trichogramma dendrolimi* ein großes Potential aufweist, bei massenhafter Ausbringung einen hohen Parasitierungsgrad von Kiefernspinnereiern zu erreichen.

1.4.2 Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in *D. pini*-Eiern unter Freilandbedingungen

Zu klären war weiterhin, ob und inwieweit sich die Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in Kiefernspinnereiern unter Freilandbedingungen von denen unter Zuchtbedingungen unterscheidet. Dazu wurden in einem Tastversuch parasitierte Kiefernspinner-Eier ins Freiland gebracht. Die Ergebnisse dienten als eine Orientierung für zeitliche Abläufe des erstmalig in dem Projekt durchgeführten Freilandversuchs mit Helikopterapplikation (1.7).



Abbildung 6: Kiefernspinnereier in Gläschen, welchen ein Mix aus frisch geschlüpften oder in *S. cerealella*-Eiern kurz vor Schlupf befindlichen *Trichogrammen* hinzugegeben wurde.

Die Klimadaten im Freiland während des Versuchs wurden durch eine Klimastation aufgezeichnet, wobei eine mittlere Temperatur von 18,5 °C, ein Minimumwert von 11,9 °C sowie ein Temperaturmaximum von 29,0 °C im Juli 2021, und damit zu den typischen Eiablagezeiten von *D. pini* im Freiland, gemessen wurden.

75 % der befruchteten Kiefernspinnereier wurden durch *Trichogramma dendrolimi* unter Freilandbedingungen parasitiert. Dabei offenbarte der Versuch, dass die *Trichogrammen* im Freiland wesentlich länger zur Entwicklung in Kiefernspinner-Eiern brauchen als bisher vermutet. Auch nach 18 Tagen war aus dem Großteil der parasitierten Kiefernspinner-Eier noch kein Schlupf erfolgt. Die Ergebnisse beruhen allerdings auf einer kleinen Stichprobe von 300 Eiern und können daher noch nicht abschließend beurteilt werden. Bisherige Erfahrungen in Laborversuchen weisen auf eine 12-14 tägige Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in *D. pini*-Eiern, welche im Freiland deutlich überschritten wurde. Es deutete sich somit an, dass bei der Planung von Freilandversuchen und für praktische Anwendungen witterungsabhängig mit einer längeren (mehrwöchigen) Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in Kiefernspinnereiern gerechnet werden muss, als bisher angenommen wurde.

Daneben wurden zu dem gleichen Zeitpunkt Untersuchungen zur Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in *Sitotroga cerealella*-Eiern durchgeführt, welche eine im Freiland mindestens drei Tage längere Entwicklung von mindestens 14 Tagen anstatt der aus den Laborversuchen bekannten 11-tägigen Entwicklung zeigen. Ausbringungen junger Wirtseier im Überschwemmungsverfahren erfordern wahrscheinlich den entsprechenden zeitlichen Vorlauf (schätzungsweise 9-11 Tage) vor dem Auftreten attraktiver Kiefernspinner-Eistadien. Mit dem Auftreten von Nachkommen der ausgebrachten Parasitoide kann in der Regel erst zum Ende der auch nur wenige Wochen (ca. 18-21 Tage) anhaltenden Eiablage-Phase des Kiefernspinners gerechnet werden. Hierbei besteht die Chance, dass die Folgegeneration von *T. dendrolimi* spät abgelegte Kiefernspinnereier parasitiert.

Genauere Ergebnisse zur Entwicklungsdauer von Trichogrammen in Kiefernspinner- und in *Sitotroga*-Eiern soll ein geplanter Versuch in einer Klimakammer unter simulierten Freilandbedingungen bringen. Daneben wird ein Versuch zur Entwicklungsdauer von *Dendrolimus pini* unter unterschiedlichen Klimabedingungen angelegt (1.8).

1.4.3 Bedingungen für erfolgreiche Parasitierung durch *T. dendrolimi*

Um geeignete Rahmenbedingungen für Ausbringungen von *Trichogramma dendrolimi* berücksichtigen zu können, wurde die Wirkung verschiedener Raum- und Zeitfaktoren auf den Parasitierungserfolg untersucht.

1.4.3.1 Parasitierung von unterschiedlich alten *Dendrolimus pini*-Eiern durch *T. dendrolimi*

Bisherige Versuche ließen vermuten, dass das Alter der Kiefernspinner-Eier die Parasitierungsrate durch *Trichogramma dendrolimi* beeinflusst. Das könnte bedeuten, dass die Bereitstellung der Parasitoiden zu einem optimalen Infektionszeitpunkt über den Behandlungserfolg von Bekämpfungsmaßnahmen mit entscheidet.

Um dies zu klären, wurden in einem Laborversuch Kiefernspinner-Eier in verschiedenen Entwicklungsstadien zur Parasitierung angeboten und die Parasitierungsraten verglichen. Zu den unterschiedlich alten Kiefernspinnereiern wurde eine abgewogene Menge an parasitierten *Sitotroga*-Eiern hinzugegeben. Der Versuch umfasste acht Versuchsglieder (Nummer 1-8), die Eier von jeweils einem bestimmten Alter zwischen 0 und 9 bis 12 Tage aufwiesen, und eine Kontrolle, die jedes Eialter aufwies (Tabelle 2, Abbildung 7). Jedes Versuchsglied wurde 10-fach wiederholt.

Tabelle 2: Die Versuchsglieder des Zeitreihenversuchs.

Nr.	Beschreibung
1	Zehn 0 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
2	Zehn 1 Tag alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
3	Zehn (2-5 Tage) alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
4	Zehn 5 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
5	Zehn 6 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
6	Zehn 7 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
7	Zehn 8 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
8	Zehn (9-12) Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen und parasitierte Getreidemotteneier
9	Jeweils einhundert 0, 1, 2, ...9-12 Tage alte aufgeklebte Eier von <i>D. pini</i> in einem Glasröhrchen als Kontrollen

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter der Kiefernspinnereier und der Parasitierungsrate gefunden (Abbildung 7). Die höchsten Parasitierungsraten mit über 90 % wiesen von 900 untersuchten Eiern diejenigen mit einem Alter zwischen 0-5 Tagen auf. Die Parasitierungsraten dieser Gruppen (Spaltenbezeichnung „a“) unterschieden sich hierbei nicht signifikant voneinander. Eier älter als fünf Tage zeigten eine mit dem Eialter signifikant sinkende Parasitierungsrate. Sechs Tage alte Eier wurden noch zu 22 % und acht Tage alte Eier nur noch zu 0,5 % parasitiert.

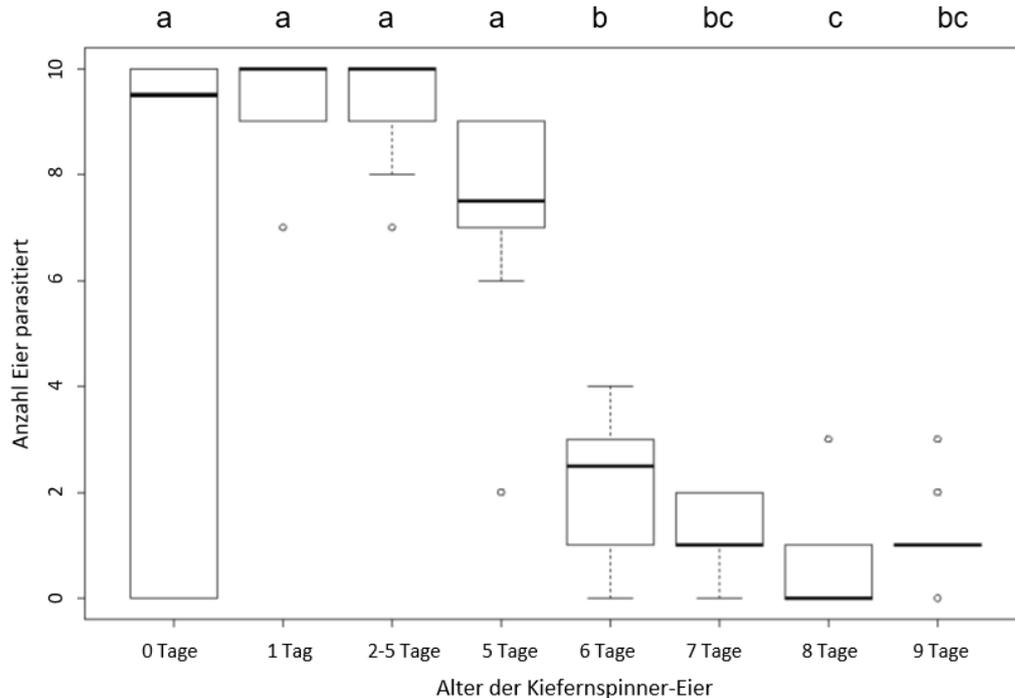


Abbildung 7: Anzahl parasitierter Eier pro Kärtchen in Abhängigkeit vom Alter der Eier. Dargestellt sind die Mediane und die jeweiligen Standardabweichungen. Unterschiedliche Buchstaben repräsentieren statistisch signifikante Unterschiede auf dem 5% Niveau laut Tukey HSD.

Weit entwickelte Kiefernspinner-Eier (ab sechs Tage) wurden von Parasitoidenweibchen weitgehend gemieden. Für ein erfolgreiches Bekämpfungsverfahren kann daraus abgeleitet werden, dass ausgebrachte *Trichogramma* in *Sitotroga*-Eiern wenige Tage vor der Kulmination einer Kiefernspinner-Eiablage schlupfbereit sein sollten.

1.4.3.2 Untersuchung zum Dispersionsverhalten von *T. dendrolimi* unter Freilandbedingungen

In einem Semi-Freilandversuch wurde die Suchweite von *Trichogramma dendrolimi* untersucht. Ein Einfluss der Windrichtung auf die Dispersion der kleinen Wespen wurde dabei mit erfasst. Aus den Distanzen, die die Parasitoiden in einer simulierten Kiefernbestands-situation von einem definierten Ausbringungsort zurücklegten, wurde die bei späteren Anwendungen erforderliche Dichte der Ausbringung abgeleitet.

Der Versuchsaufbau bestand aus 16 ca. 1,3 m hohen Kiefern, die in konzentrischen Kreisen um einen Ausbringungsbaum aufgestellt waren (Abbildung 9). Die Abstände zwischen den konzentrischen Kreisen betragen 1 m, 3 m, 5 m und 10 m zum Zentrum. Jede Kiefer um den Ausbringungsbaum wurde mit 81 Kiefernspinner-Eiern (auf Eikärtchen) als Köder ausgestattet. Der Ausbringungsbaum erhielt ein Eikärtchen weniger, dementsprechend 72 Ködereier und hier wurden ca. 4.000 mit *Trichogramma dendrolimi* parasitierte *Sitotroga*-Eier auf Eikärtchen angebracht.

Als Kontrolle wurden *Dendrolimus pini*-Eier und Getreidemotteneier zusammen in Glasröhrchen für eine Woche im Labor aufbewahrt (bei 25°C, 70% RH und 16L:8D).

Die Witterungsdaten wurden vor Ort mit einer lokalen Wetterstation erfasst, wobei es mit Ausnahme eines nur schwachen Gewitters zu keinen besonderen Wetterereignissen kam.

Weder vor noch nach der Exponierung der Proben im Freiland wurde eine Parasitierung durch lokale Parasitoiden oder in der Folge des Versuchs die Etablierung ausgebrachter Trichogrammen festgestellt.

Eine Woche nach dem ersten beobachteten Schlupf von *T. dendrolimi* wurden alle Kiefernspinner-Eier in Gläschen überführt und weitere 14 Tage unter günstigen, kontrollierten Klimabedingungen aufbewahrt. Anschließend erfolgte die Auswertung.

Die Parasitierungsraten betragen am Ausbringungsbaum (Entfernung 0 m) 39,5% und waren demgegenüber an den umstehenden Bäumen signifikant niedriger (Abbildung 8). Mit zunehmender Entfernung zum Ausbringungsbaum sanken sie von 2,7 % in 1 m Entfernung vom Ausbringungsort, auf jeweils 1,5 % in 3 m und 5 m Entfernung und in 10 m Entfernung auf 0,6 %. In der Laborkontrolle wurde bei 27,2 % der Eier eine Parasitierung beobachtet.

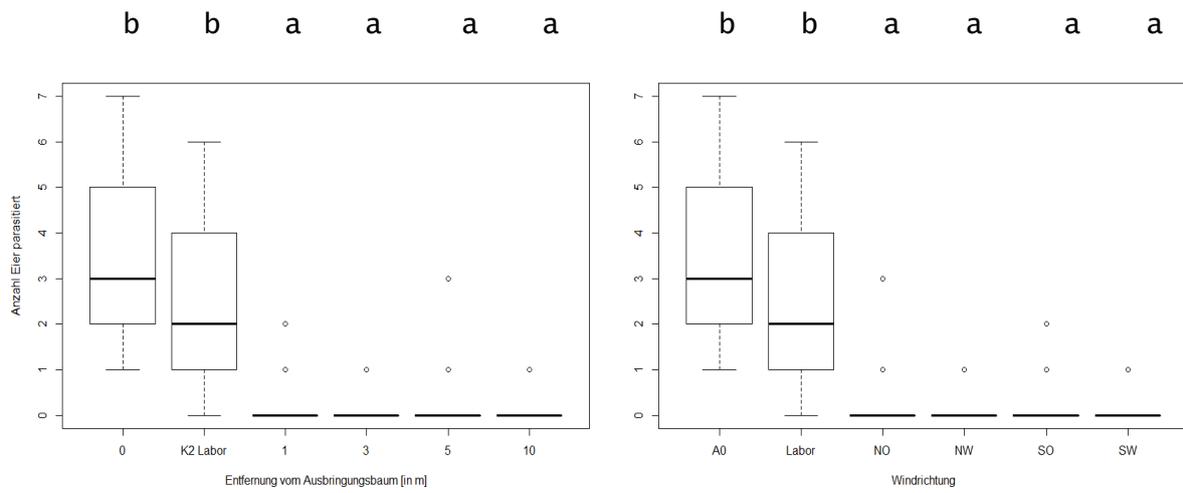


Abbildung 8: Anzahl parasitierter Eier pro Kärtchen in Abhängigkeit von der Entfernung zum Ausbringungsbaum und der Windrichtung. Dargestellt sind die Mediane und die jeweiligen Standardabweichungen. Unterschiedliche Buchstaben repräsentieren statistisch signifikante Unterschiede auf dem 5% Niveau laut Tukey HSD.

Der Wind wehte vorwiegend schwach aus Südwesten, gelegentlich aus Süden oder Westen (Abbildung 9). Die Auswertung der Parasitierungsraten ergab in Bezug auf die Windrichtungen keine statistisch signifikanten Unterschiede und ebenfalls keine signifikanten Interaktionen zwischen den Faktoren Windrichtung und Entfernung zum Ausbringungsbaum.

Bei nur geringen Baumhöhen konnten in der vertikalen Ausbreitung der Trichogrammen keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden.

Der Weibchenanteil von *T. dendrolimi* lag im Mittel bei 70,4%, wobei kein Einfluss der Entfernung, der Windrichtung und der Position der Eier am Baum auf den Weibchenanteil ermittelt werden konnte.

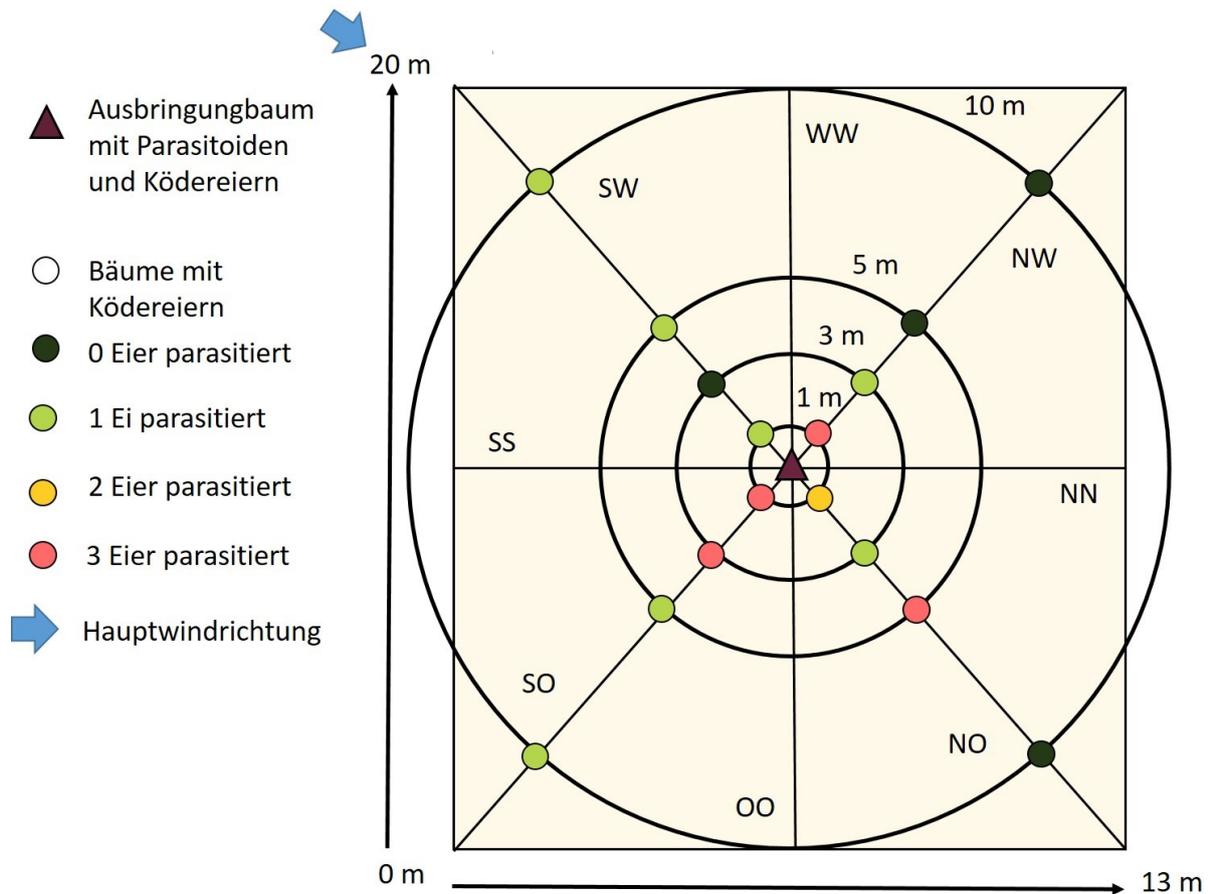


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus mit der Hauptwindrichtung und der Anzahl parasitierter Eier pro Kiefer.

Die Ergebnisse dieses Versuchs lassen darauf schließen, dass *T. dendrolimi* prinzipiell zur Bekämpfung von *D. pini* in Bestandesstrukturen geeignet ist. Da die Parasitierungsrate im Versuch bereits nach 1 m Entfernung von knapp 40% auf unter 3% abnahm, muss davon ausgegangen werden, dass Applikationen die Parasitoiden räumlich nah an den Ablageorten der Kiefernspinner-Eier platzieren müssen.

1.4.3.3 Überlegungen zum voraussichtlichen Parasitoidenbedarf

Eine erste Kalkulation der für effektive Bekämpfungen notwendigen Parasitoidenmenge erfolgte anhand bisheriger Ergebnisse zur Parasitierungsleistung von *T. dendrolimi* und den aus der Praxis bekannten Informationen über kritische Kiefernspinnerdichten, die auf die Notwendigkeit von regulatorischen Maßnahmen hinweisen.

Da zahlreiche Bekämpfungen des Kiefernspinners in 60- bis 100-jährigen Beständen erfolgen, sind die Berechnungen auf Basis eines 90-jährigen Kiefernbestandes ausgeführt. Bei aktiven Bekämpfungen sind die Angaben ggf. dem jeweiligen Bestandesalter und den Bonitäten bzw. dem Bestockungsgrad anzupassen.

Kalkulationsgrundlagen:

1. für einen 90-jährigen Kiefernbestand wird eine kritische Raupendichte von 180 Raupen pro Baum angenommen (nach einer einfachen empirischen Regel besteht eine kritische Schwelle für die Anzahl an Raupen im Doppelten des Bestandesalters (MLUL 2005).

2. Basierend auf den Ertragstafelwerten von Lembcke, Knapp und Dittmar (1975) stehen in einem 90-jährigen Bestand mit mittlerer Bonität (3. Ertragsklasse) knapp 600 Kiefern auf einem Hektar.
3. Die Menge abgelegter Eier pro *Dendrolimus pini*-Weibchen beträgt etwa 175 Eier (empirische Angabe aus mehrjährigen Beobachtungen der NW-FVA).
4. Das Geschlechterverhältnis bei *D. pini* sei 1:1 (Schlupf von jeweils 50 % Männchen und Weibchen).

Aufgerundet befänden sich in einer Gradationslage ca. 9,45 Millionen Kiefernspinnereier auf einem Hektar Kiefernwaldfläche (90 D. pini Weibchen/Baum * 175 Eier * 600 Ki/ha = 9,45 Mio. *D. pini*-Eier). Für einen effektiven Bekämpfungserfolg wird weiter unterstellt, dass 70 % der *Dendrolimus pini* Eier durch *T. dendrolimi* befallen werden müssen ($9,45 \text{ Mio.} * 0,7 = 6,615 \text{ Mio.}$), ein *Trichogramma* Weibchen ein *D. pini*-Ei parasitiert und das Geschlechterverhältnis von *T. dendrolimi* bei 3:7 liegt ($(6,615 * 1) / 0,7$). Hieraus ergibt sich ein rechnerischer Bedarf von 9,45 Mio. *T. dendrolimi* pro Hektar, die aus ausgebrachten *Sitotroga*-Eiern schlüpfen müssten, um effektiv Fraßschäden zu begrenzen.

Ergebnisse aus künftigen, praxisnahen Versuchen sollen herangezogen werden, diese Kalkulation zu prüfen und den tatsächlichen Bedarf genauer abzuleiten.

1.5 Aufbau einer *T. dendrolimi*-Massenzucht

1.5.1 Laborzucht von *T. dendrolimi*

Erst seit Dezember 2019 verfügt BIOCARE über *Trichogramma dendrolimi* und betreibt seitdem deren Vermehrung zu Versuchszwecken. Dadurch konnten der zunächst noch beschränkte Bedarf für zahlreiche Laborversuche wie auch eine große Menge von Parasitoiden für einen Semi-Freilandversuch sichergestellt werden.

Die klimatischen Bedingungen in der Zucht von *T. dendrolimi* wurden an die Empfehlungen ($23 \pm 2 \text{ °C}$ und $75 \pm 10\% \text{ RH}$) der IOBC Quality Control and Production Guidelines for natural enemies (Lenteren 2003) angelehnt und betragen 25 °C und $70\% \text{ RH}$. Das wird im Weiteren als Warmtag (WT) bezeichnet. Der Hell-/ Dunkelrhythmus lag zwischen Februar bis November bei 16L:8D und wurde von Dezember bis Januar auf 10L:14D umgestellt.

Die Vermehrung unterlag regelmäßigen Qualitätskontrollen des produzierten Materials hinsichtlich der Parasitierungsrate, der Schlupfrate, des Weibchenanteils, der Vitalität ebenso wie der Fekundität und fortlaufenden Bestrebungen zur Ermittlung der optimalen Anzuchtbedingungen. Das Verhältnis von schlüpfendem Material und frischem zu parasitierendem Material wurde ermittelt, außerdem die Lagerungsfähigkeit untersucht, die bei 6°C über 2,5 Wochen ohne Qualitätsverluste bestand.

Der durchschnittliche Betreuungsaufwand der Zucht umfasste etwa 6 Stunden pro Woche, stieg vor Versuchen mit umfangreichem Ei-Bedarf schon Wochen im Voraus deutlich an. Zusätzlich mussten in regelmäßig wöchentlichem Abstand umfangreiche Reinigungsarbeiten zur Aufrechterhaltung der hohen Qualitätsstandards eingeplant werden.

1.5.2 Eignung von *S. cerealella* als Zuchtwirt

Umfassende Untersuchungen betrafen die Wirtseignung von *Sitotroga cerealella* für die Zucht von *Trichogramma dendrolimi*. Die Vitalitäts- und Vermehrungsparameter von Trichogrammen aus parasitierten *S. cerealella*-Wirtseiern wurden mit Nachzuchten aus *D. pini*- oder aus *Ephestia kuehniella*-Wirtseiern verglichen.

Die Versuche wurde entsprechend den Standards der IOBC (Lenteren 2003) durchgeführt, das heißt aus etwa 1g parasitierter Eier wurden die Anzahl geschlüpfter *T. dendrolimi*, der

Anteil lebender *Trichogramma*-Weibchen, die Nachkommenzahl von 30 geschlüpften Weibchen und deren Parasitierungsrate ermittelt.

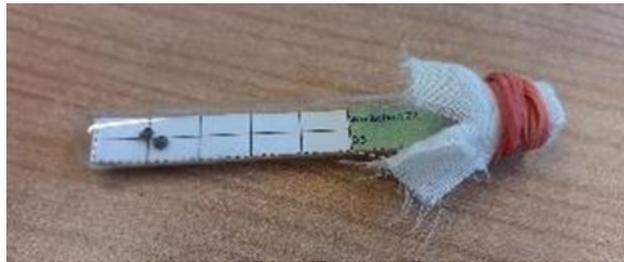


Abbildung 10: Untersuchung der Parasitierung durch *T. dendrolimi*.

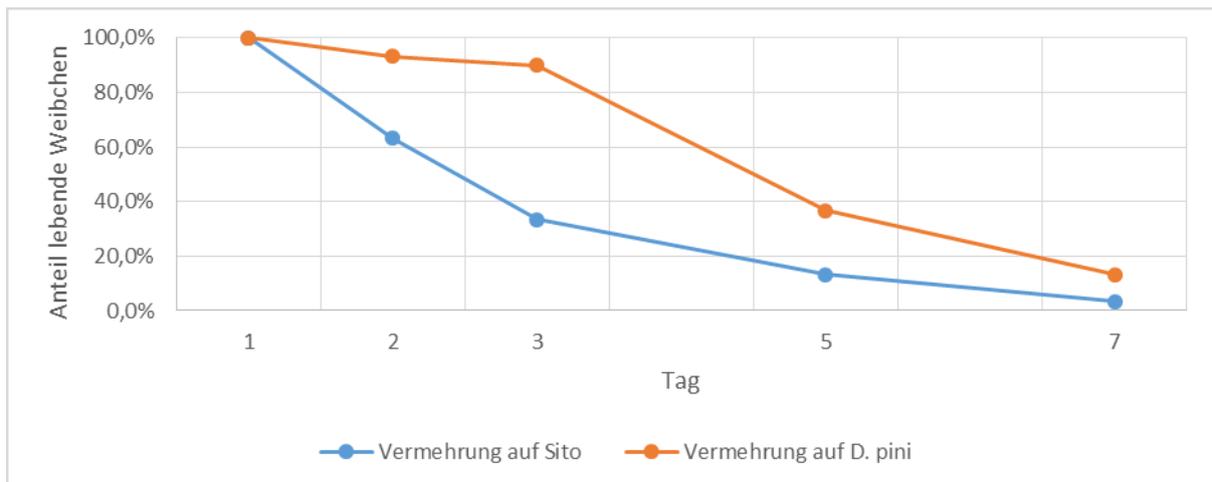


Abbildung 11: Anteil lebender Weibchen im Verlauf einer Woche bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* („Sito“) oder auf *D. pini*.

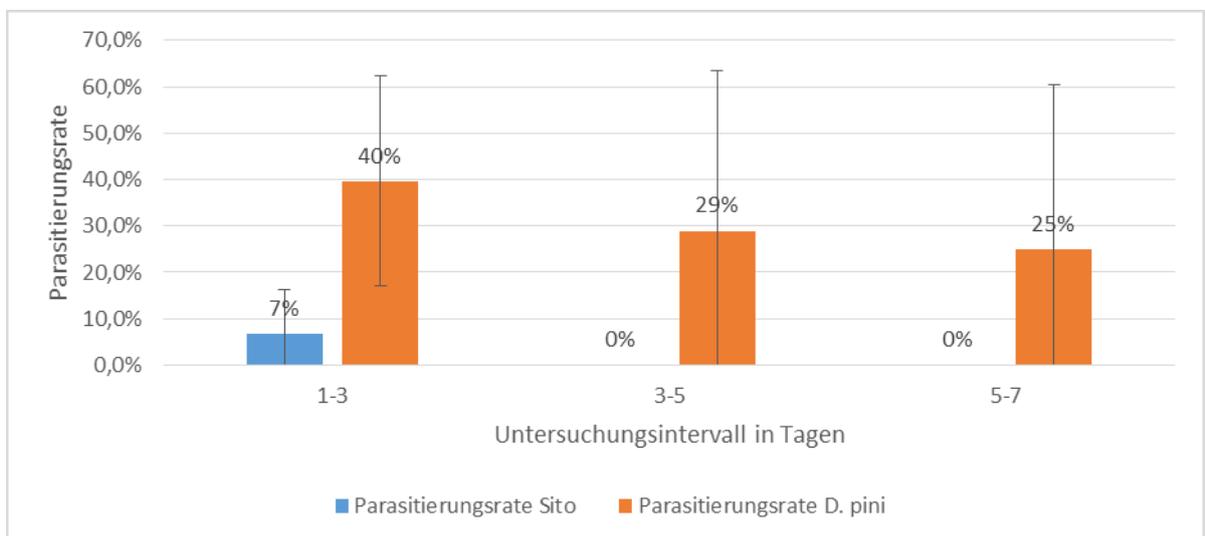


Abbildung 12: Parasitierungsrate bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* oder auf *D. pini*.

Tabelle 3: Qualitätsparameter bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* und auf *D. pini*.

	Vermehrung auf Sito			Vermehrung auf <i>D. pini</i>		
		+/-			+/-	
Summe paras. Eier/♀	0,3	+/-	0,48	2,4	+/-	1,4
Summe Nachkommen/♀	7	+/-	12,6	78	+/-	43,6
geschl. T./ Ei	21	+/-	13,8	39	+/-	8,0
Weibchenanteil	87%	+/-	33%	88%	+/-	2%

Im Vergleich waren deutliche Unterschiede zwischen der Vermehrung von *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* gegenüber der auf *D. pini* zu erkennen. Die geschlüpften *Trichogramma*-Weibchen aus der Vermehrung auf *S. cerealella* zeigten ab dem zweiten bis zum siebten Tag nach dem Schlupf deutlich geringere Vitalität als Weibchen aus *D. pini*-Eiern (Abbildung 11). Konnten bei Zucht aus *S. cerealella* nach zwei Tagen noch 63% und nach fünf Tagen noch 33% lebende Weibchen beobachtet werden, fanden sich bei den Weibchen aus der Vermehrung auf *D. pini* nach drei Tagen noch 90% lebende Tiere. Auch mit 0,3 parasitierten Eiern pro Weibchen im Vergleich zu 2,4 parasitierten Eiern und mit durchschnittlich sieben Nachkommen pro Weibchen im Vergleich zu 78 Nachkommen pro Weibchen zeigten die Weibchen aus der Vermehrung auf *S. cerealella* deutlich schlechtere Resultate als bei Vermehrung auf *D. pini*. Der Weibchenanteil fiel in beiden Versuchsvarianten mit 87 bzw. 88% sehr hoch aus (Tabelle 3).

Bei dem Vergleich zwischen der Vermehrung auf *Sitotroga cerealella* oder auf *Ephestia kuehniella* waren die Unterschiede weniger deutlich.

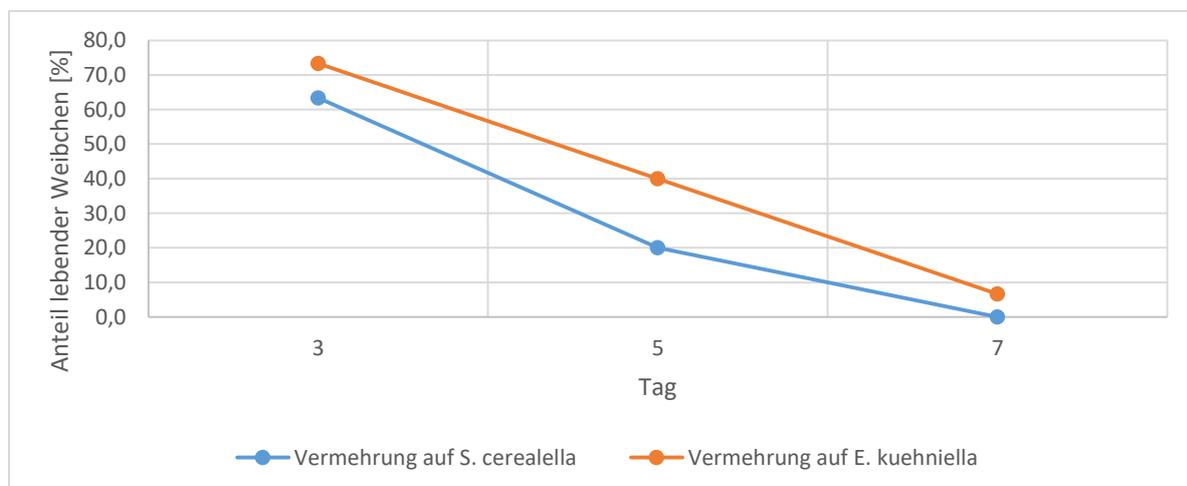


Abbildung 13: Anteil lebender Weibchen im Verlauf einer Woche bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* oder auf *E. kuehniella*.

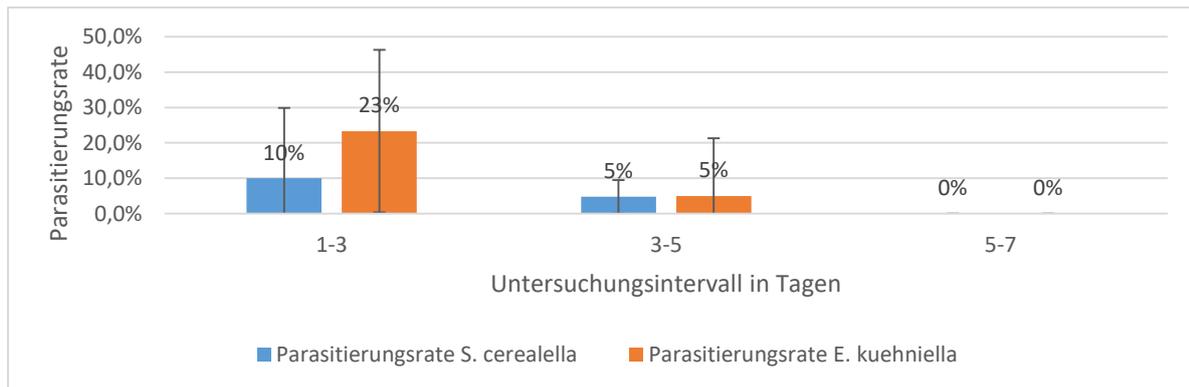


Abbildung 14: Parasitierungsrate bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* oder auf *E. kuehniella*.

Tabelle 4: Qualitätsparameter bei Vermehrung der *T. dendrolimi* auf *S. cerealella* oder auf *E. kuehniella*.

	Vermehrung auf <i>Sito</i>			Vermehrung auf <i>D. pini</i>		
		+/-			+/-	
Summe paras. Eier/♀	0,4	+/-	0,6	0,7	+/-	0,7
Summe Nachkommen/♀	11	+/-	19,2	21	+/-	22,0
geschl. T./ Ei	36	+/-	10,4	32	+/-	2,1
Weibchenanteil	98%	+/-	4%	95%	+/-	5%

Aus der Vermehrung auf *S. cerealella* waren nach zwei Tagen noch 63% und nach fünf Tagen noch 20% der Weibchen vital, wohingegen sich bei der Vermehrung auf *E. kuehniella* nach drei Tagen noch 73%, nach fünf Tagen 40% und nach sieben Tagen noch 7% lebende Tiere beobachten ließen (Abbildung 13). Die Anzahl an parasitierten Eiern pro Weibchen unterschied sich mit 0,4 im Vergleich zu 0,7 parasitierten Eiern nicht so deutlich wie bei der Vermehrung auf *D. pini*. Mit durchschnittlich elf Nachkommen pro Weibchen im Vergleich zu 21 Nachkommen pro Weibchen zeigten die Weibchen aus der Vermehrung auf *S. cerealella* auch schlechtere Resultate als bei Vermehrung auf *E. kuehniella*. Der Weibchenanteil fiel in beiden Versuchsvarianten mit 98 bzw. 95% sehr hoch aus (Tabelle 4).

Für die Zucht von *T. dendrolimi* erwiesen sich verschiedene Arten als geeignete Wirte. Zuchten auf *S. cerealella* waren vergleichsweise weniger erfolgreich als auf *D. pini* oder auf *E. kuehniella*. Nur *E. kuehniella* ist aufgrund eigener industrieller Züchtbarkeit auch zur Nutzung in Massenzuchten geeignet und könnte ggf. eine Effizienzsteigerung bei der Zucht von *T. dendrolimi* hervorrufen, wäre aber in die bestehenden Produktionsabläufe bei BIOCARE nur mit erhöhtem Aufwand und finanziellen Nachteilen einzubeziehen. Die guten Vermehrungsmöglichkeiten des Parasitoiden auf *D. pini* sprechen für die positiven Erfolgsaussichten von Überschwemmungsverfahren.

1.5.3 Up-Scaling der Laborzucht von *T. dendrolimi* zur massenweisen Produktion

Zum Aufbau einer Massenzucht von *T. dendrolimi* wurden bereits parasitierte Wirtseier als Ausgangsmaterial verwendet. Nach sichtbarem Schlupf von *T. dendrolimi* wurde den Adulten frisches Wirtsmaterial zur Verfügung gestellt, wobei die Trichogrammen mit Hilfe des Lichtes zu den Wirtseiern gelockt wurden. Nach einer festgelegten Anzahl an Tagen wurde das nun

parasitierte Material gesammelt und als Ausgangsmaterial für die weitere Vermehrung verwendet.

Um die im Rahmen des BiDenT- Freilandversuches benötigte Menge von etwa 0,9 kg an durch *T. dendrolimi* parasitiertem *S. cerealella*-Material zur Verfügung stellen zu können, waren ein Zeitraum von 14 Wochen und insgesamt 10 Zuchtbehältnisse notwendig. Ab einer Anzahl von 3 Zuchtbehältnissen war die Inanspruchnahme einer zusätzlichen Arbeitskraft zwingend erforderlich, um den hohen Qualitätsstandard der Zucht weiterhin gewährleisten zu können.

1.6 Entwicklungen hubschraubergestützter Applikation und Flüssigformulierung

Die komplexen Waldstrukturen und die meist großflächigen Bekämpfungsflächen stellen besonders hohe Ansprüche und Herausforderungen an Applikationen. Die Wirtseier von *T. dendrolimi* müssen im Bekämpfungsfall oft auf mehreren hundert bis tausend Hektar Fläche über verschiedene Bestandeshöhenstufen abgelegt werden und dort bis zum Schlupf der Parasitoiden verbleiben. Der Darstellung von Anforderungen im Anforderungskatalog folgte eine umfassende Literaturrecherche zu dem Themenbereich biologische Bekämpfungsmittel und ihre Ausbringung. Trotz guter Vorerfahrungen mit der Trockenausbringung von Parasitoiden in Flächenkulturen im landwirtschaftlichen Bereich bestehen gegenüber einer Übertragung solcher Verfahren auf forstliche Raumkulturen erhebliche technische Vorbehalte. Erfolgversprechendere Ansätze zur umfassenden Benetzung von Wäldern mit effizientem Flächenfortschritt bieten aviotechnische Ausbringungen von Flüssigformulierungen über den Baumkronen, zu denen im Waldschutz bereits jahrzehntelange Erfahrungen und vertiefte Kenntnisse bestehen. Die Entwicklung hubschraubergestützter Applikation parasitoider Spritzflüssigkeiten wurde daher vorrangig verfolgt.

1.6.1 Mischung von *T. dendrolimi* mit verschiedenen Formulierungshilfsmitteln

Die Ausbringung von *T. dendrolimi* in einer Spritzflüssigkeit setzt die Mischbarkeit der Formulierung zu einer homogenen Flüssigkeit voraus, um die gleichmäßige Ausbringung zu gewährleisten. Außerdem muss das Anhaften und Verbleiben applizierter Wirtseier an verschiedenen Oberflächen von Kiefernbeständen (Nadeln, Rinde) erreicht werden. Und bei einer Gefährdung der Eier durch Pilze oder Räuber wären gegebenenfalls noch abwehrende Substanzen zu ergänzen. Erst durch die Zugabe von mehreren Formulierungszusatzstoffen zur wässrigen Ei-Suspension sind die entsprechenden „Fähigkeiten“ überhaupt zu erreichen. Aus der großen Fülle marktüblicher Zusatzstoffe wurden grundsätzlich geeignet erscheinende Netzmittel und Substanzen mit haftenden Eigenschaften anhand von Angaben in Datenblättern und auf Basis von Erfahrungen vorausgewählt (Tabelle 5). Diese wurden in insgesamt sechs Vorversuchen auf ihre Verträglichkeit gegenüber den Wirtseiern und die Eignung als Spritzflüssigkeit geprüft.

Tabelle 5: Versuchsglieder.

Nr.	Beschreibung
1	Squall® 0,5%
2	Break Thru® eco SSP 113 0,25%
3	Designer™ 0,125%
4	Squall® 0,5% + Break Thru® eco SSP 113 0,25%
5	Xanthan 0,1%
6	Xanthan 0,05%
7	Tween 80® 0,1%
8	Tween 80® 0,05%
9	Squall® 0,5% + Xanthan 0,1%
10	Squall® 0,5% + Xanthan 0,05% + Tween 80® 0,1%
11	Squall® 0,5% + Xanthan 0,05% + Tween 80® 0,05 %
12	Kontrolle mit unbehandeltem Material

Als

Ausgangsmaterial für die Versuche diente Material aus der *T. dendrolimi*-Vermehrung (je Versuchsglied dreimal 200 Eier), das mit zwei, drei, vier, fünf oder sechs Wärmtagen (WT) vorbehandelt war, dann in den verschiedenen Formulierungsvarianten angerührt wurde, woraus Proben entnommen und nach elf Wärmtagen bonitiert wurden. Zur Kontrolle wurden drei Proben von dem Material unbehandelt gelassen.

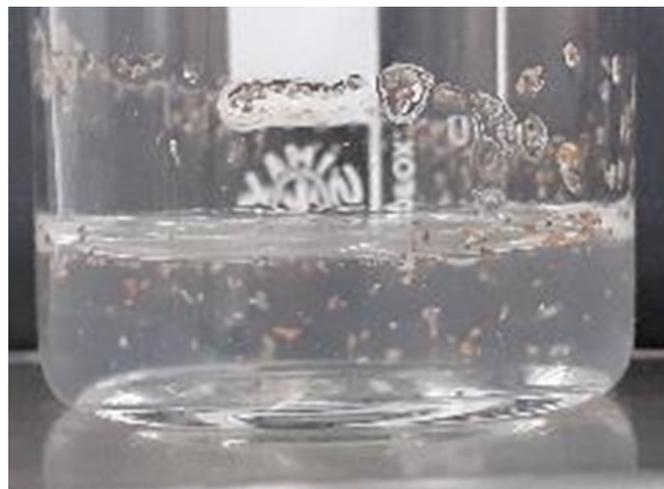


Abbildung 15: Verteilung von parasitierten *Sitotroga*-Eiern (5 WT) in einer Formulierung mit 0,5% Squall®, 0,05% Xanthan und 0,1% Tween 80®.

Auffällig war, dass bei verschiedenen Formulierungen die Eier nur sehr eingeschränkt in der Flüssigkeit in Schwebelage waren, teilweise zum Aufsteigen neigten und es in unterschiedlichem Maß zu Anhaftungen der Eier an der Glasoberfläche des Mischgefäßes kam. Eine nach visueller Beurteilung hinreichende Mischbarkeit und Standzeit wiesen 4-6 WT alte Eier in Kombinationen von Squall®, Xanthan und Tween® auf (Abbildung 15).

Die Schlupfraten nach der Mischung in einer Formulierung wurden mit Hilfe eines Binokulars durch Zählung der Eier mit vorhandenem Schlupfloch ermittelt, der Weibchenanteil jeder Probe anhand morphologischer Unterschiede an den Fühlerkeulen bestimmt. Von der Kontrolle wurde zudem die Parasitierungsrate ermittelt.

Signifikante Unterschiede der Mittelwerte zwischen den Formulierungen wurden mittels Kruskal-Wallis Test (Chi-Quadrat = 21,07, df = 11, p = 0,032) mit anschließendem paarweisem Wilcoxon-Test geprüft. Aufgrund von Bindungen konnte jedoch kein exakter p-Wert berechnet werden. Zwischen den Formulierungen "Squall + Xanthan 0,05 + Tween 0,05" und "Squall" wurde ein Mittelwertunterschied mit moderater Effektstärke festgestellt (p = 0,062, r = 0,46) (Abbildung 16).

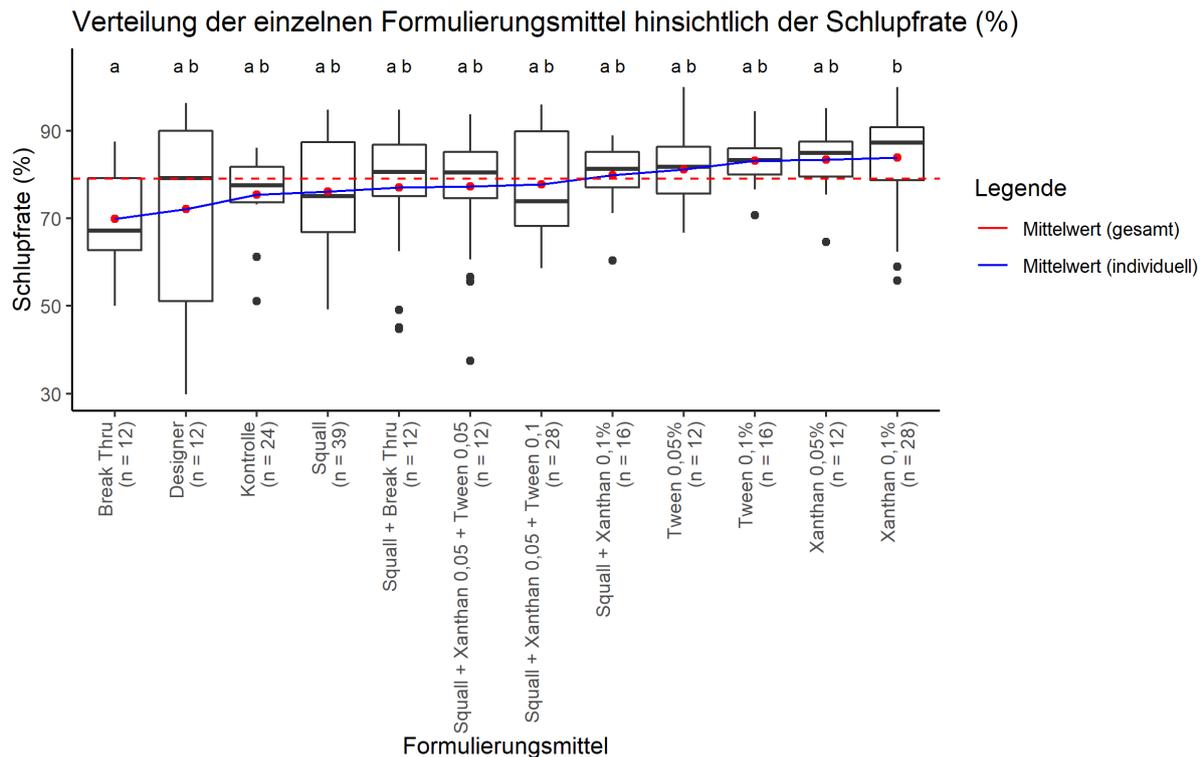


Abbildung 16: Schlupfraten von *T. dendrolimi* in den einzelnen Versuchen der Formulierungsvarianten.

Unter zusätzlicher Betrachtung der homogenen Verteilung der durch *T. dendrolimi* parasitierten *S. cerealella*-Eier wurde für den anschließend durchgeführten Semi-Freilandversuch eine Formulierung aus 0,5% Squall® + 0,05% Xanthan + 0,1% Tween 80® ausgewählt.

Aufgrund der nicht zufriedenstellenden Ergebnisse aus der praxisnahen Prüfung der Spritzapplikation von *T. dendrolimi* (siehe 1.7) wurde im Frühjahr 2022 nach alternativen Formulierungshilfsmitteln gesucht. In dem Zuge wurde eine Mischung aus Guarkernmehl und Tween 80® in unterschiedlichen Konzentrationen und 0,5% Squall® näher untersucht. Dabei zeigte die gewählte Formulierung lediglich einen sehr geringen Einfluss auf die Schlupfrate der *T. dendrolimi*. Im Vergleich zur Kontrollvariante war die Schlupfrate lediglich um 5 % in dieser Zusammensetzung reduziert. Als Ergebnis der Versuche wurde, wie in Punkt 1.9 beschrieben, Anfang des 2. Quartals 2022 auf dem Freigelände der Helix-Fluggesellschaft mbH die Formulierung aus Guarkernmehl (0,4%), Squall® (0,5%) und Tween® (0,1%) in dem Versuch getestet.

1.6.2 Düsenauswahl und Prüfung der Ausbringungstechnik

Zur Gewährleistung der Unversehrtheit von parasitierten *Sitotroga*-Eiern unter den Bedingungen eines Luftfahrzeug-Einsatzes (LFZ-Einsatz) wurden hinreichende Mindestkriterien für die Auswahl geeigneter Düsen festgelegt. Die Düsen sollten bei Eignung für den Einbau in eine Simplex-Sprühanlage mit dem in Hubschrauberspritzanlagen erreichbaren Druck von 2bar eine gleichmäßige Tropfenverteilung mit mittleren bis sehr groben Tropfenspektrum (400 – 550 µm) anbieten.



Abbildung 17: Beispielhafter Schleppwirbel. Foto: M. Habermann.

Erfahrungsgemäß entsteht bei mittleren bis groben Tröpfchengrößen in der Applikation ein Schleppwirbel, der für die allseitige Benetzung und Durchdringung der Kiefernkrone und des Bestandes (von der Krone bis zum Stamm) sorgt (Abbildung 17). Die typischen Eiablageorte des Zielwirts sollen so weitestgehend erreicht werden können. Des Weiteren ist erforderlich, dass der Innendurchmesser geeigneter Düsen größer als der Durchmesser der zu applizierenden *S. cerealella*-Eier ist, um ein Verstopfen der Düsen oder Verletzungen der Parasitoide bei der Düsenpassage zu vermeiden. Auf Grundlage ihrer einfachen Bauweise und anhand der Leistungsangaben in technischen Datenblättern wurden für Vorversuche zunächst vier Flachstrahldüsen ausgewählt (Abbildung 18).

AirMix 110-05

AirMix 110-06

Teejet XR 110-06

Hardi F-110-05



Abbildung 18: Vier für Prüfungen vorausgewählte Flachstrahldüsen.

In Laborversuchen mit einer SOLO 425 PRO Rückenspritze wurde bei 2 bar Spritzdruck und einem gleichbleibenden Spritzabstand das Spritzbild der jeweiligen Düsentypen, die Anzahl

der ausgebrachten *Sitotroga*-Eier, der Anteil schlupffähiger *Trichogramma dendrolimi* nach der Passage der Düse sowie eine Entmischung der Spritzflüssigkeit untersucht (Tabelle 6).

Tabelle 6: Ergebnisse des Vorversuchs zur Bestimmung einer für die Ausbringung parasitierter *S. c.*-Eier in einer definierten Formulierung am besten geeigneten Flachstrahldüse. Die Formulierung wurde mit einer Rückenspritze und einem definierten Abstand der Düsen zum Boden und den Probeobjekten (Petrischälchen) je drei Sekunden gesprüht. Die Versuche wurden für jede Düse 10-fach wiederholt.

	AirMix 110-05	Hardi F4 110-05	TeeJet 110-06	Erläuterung
Abgabemenge lt. Datenblatt (l/min)	1,63	1,63	1,94	
Abgabemenge von 68 Düsen (l/ha)	66,5	66,5	79,2	Bei 20 m Arbeitsbreite und Geschwindigkeit von 50 km/h
Abgabe in 20 Petrischalen (g)	119,8	77,7	57,9	Aufsummierte Gewichte der aufgefangene Flüssigkeiten
<i>Sitotroga</i> -Eier (N)	3.813	3.590	1.934	Anzahl parasitierter <i>S. c.</i> Eier
<i>T. dendrolimi</i> (N)	1.493	1.692.	916	Anzahl geschlüpfter <i>Trichogramma dendrolimi</i>
<i>T. dendrolimi</i> -Weibchen (N)	704	855	512	Anzahl geschlüpfter <i>Trichogramma dendrolimi</i> -Weibchen
Schlupfrate von <i>T. dendrolimi</i> (%)	39	47	47	Schlupfrate → Indiz für Verträglichkeit gegenüber Parasitoiden
<i>T. dendrolimi</i> -Weibchen (N pro ha)	352079	659280	630566	Anzahl nach Applikation aufkommender <i>T. dendrolimi</i> Weibchen pro Fläche ("Potential der Parasitoide")
Tropfenspektrum bei 2 bar	sehr grob	grob	grob	Annahme, dass ein feineres Tropfenspektrum die Qualität der Applikation verbessert (größere Bestandesdurchdringung)
Gesamtranking	3.	1.	2.	

Die AirMix-Düse der Größe 110-06 wurde insbesondere wegen eines sehr groben Spritzbildes und reduzierter Schlupfraten als wenig geeignet eingestuft. Dagegen lieferte die Flachstrahldüse Hardi ISO-F 110-05 das beste Gesamtergebnis und wurde anhand der Prüfergebnisse für die *Sitotroga*-Ei-Applikation per LFZ ausgewählt.

1.7 Praxisnahe Prüfung der Zucht und Spritzapplikation von *T. dendrolimi*

Die bisher beschriebenen Ergebnisse beruhen auf Untersuchungen, die unter kontrollierten Bedingungen jeweils einer einzelnen Fragestellung nachgingen. Die Eignung der favorisierten

Parasitoidenart, der flüssigen Formulierung und der Gerätetechnik im Zusammenspiel wurden unter realitätsnahen Bedingungen einer aviotechnischen Applikation in einem Halb-Freiland-Versuch mit Kiefernspinner-Eiern an präparierten Kiefern geprüft. Aufgrund der zunächst noch erforderlichen Vorversuche konnte der Freilandversuch erst im September 2019 und nicht mehr zu einer typischen Eiablagezeit des Kiefernspinners umgesetzt werden. Die Prüfung sollte über das Bisherige hinausgehend die folgenden fünf Aspekte untersuchen:

1. Die Mischbarkeit der Formulierung in einer gegenüber bisherigen Laborversuchen deutlich größeren Spritzflüssigkeitsmenge für die Hubschrauberapplikation bestehend aus 22 Mio. parasitierten *S. cerealella*-Eiern, 85 g Xanthan (0,04%), 850 ml Squall® (0,45%) und 170 ml Tween® (0,09%) in 170 l Wasser (Skalierbarkeit der Formulierung);
2. die Schlupfrate der Trichogrammen zunächst nach dem Mischvorgang, dann nach Passage der Düsen und außerdem nach der Applikation (im Vergleich zu nicht formulierten, nicht applizierten Eiern);
3. die Qualität der hubschraubergestützten Applikation. Hierzu zählten 1. die Bestimmung der am Boden ankommenden Spritzmittelmenge pro Flächeneinheit (Schälchen mit Deckel), 2. die Prüfung der Vitalität derart applizierter Parasitoide und 3. die gutachterliche Beurteilung des Spritzbildes nach Tröpfchenverteilung und Tröpfchenspektrum in der Applikation;
4. die Parasitierungsrate der Kiefernspinnereier durch applizierte Eiparasitoide (*T. dendrolimi*);
5. das Auftreten von Folgegenerationen von *T. dendrolimi*.

Der Freiland-Versuch erfolgte Anfang September 2021 im niedersächsischen Forstamt Oerrel. Die Kontrollvariante enthielt sechs Kiefern (ca. 2,5 m Baumhöhe), die Behandlungsvariante enthielt sechs vergleichbare Kiefern für die hubschraubergestützte Applikation von *T. dendrolimi* (Abbildung 19). Drei Wetter-Datenlogger, 24 Auffangschälchen zur Erfassung applizierter Spritzflüssigkeit und 48 wassersensitive Papiere vervollständigten den Versuchsaufbau. Die Applikation der Parasitoiden erfolgte wie bei Hubschrauber-Einsätzen üblich mit 50-65 l/ha Spritzflüssigkeit, allerdings bei einem zweimaligen Überflug, um die ausreichende Parasitoidenmenge applizieren zu können.

Unmittelbar vor dem erwarteten Schlupf adulter Parasitoide aus den applizierten Eiern, das war elf Tage nach der Ausbringung, wurden pro Baum 18 Kiefernspinner-Eier auf 18 Eikärtchen ausgebracht. Sie sollten dazu dienen, die im Versuch erreichbaren Parasitierungen zu bestimmen.



Abbildung 19: Für Freiland-Applikation mit dem Helikopter aufgestellte Kiefern (Behandlungsvariante).

Zur Ausbringungsqualität sind aufgrund unvorhersehbarer technischer Probleme während der Helikopterapplikation Aussagen nur in sehr begrenztem Maße möglich. Beobachtungen bestätigten zunächst das Zustandekommen eines Schleppwirbels, der im Normalfall das Eindringen von Spritzflüssigkeiten in eine komplexe, dreidimensionale Bestandesstruktur und die allseitige Benetzung von Kiefernadel, -ästen und -stämmen gewährleistet. Während des Applikationsflugs über die Versuchs-Kiefern erfolgte aber nur aus einem Teil der Düsen eine Abgabe von Spritzflüssigkeit (Abbildung 20). Mehr als die Hälfte der zuvor getesteten Düsen arbeitete im Überflug erkennbar nicht korrekt, eine Seite des Spritzgestänges versagte vollständig. Die Ausbringung war deutlich unvollständig und sehr ungleichmäßig. Die Heilung der fehlerhaften Ausbringung war nach Abgabe einer unbestimmten Applikationsmenge nicht mehr möglich. Auch eine Wiederholung der Applikation hätte nicht mehr zu nachvollziehbareren Ergebnissen führen können. In der anschließenden Suche nach Ursachen stellte sich heraus, dass der tensidische Bestandteil in der Formulierung typische Ablagerungen in einem bereits mehrfach genutzten Helikopterspritzgestänge ablöst und es dadurch in diesem Fall bei mehr als der Hälfte der Düsen zur weitgehenden bis vollständigen Verstopfung kam.



Abbildung 20: Helikopterapplikation über der Behandlungsfläche. Erkennbar ist der Ausfall von Düsen.

1. Zur Mischbarkeit der Formulierung

Die Mischbarkeit der aus Labormengen hochskalierten Formulierung auf letztlich verwendete 190 l Flüssigkeitsmenge erwies sich als unzureichend. Beobachtungen in verschiedenen Phasen des Mischvorgangs, außerdem im Spritztank sowie vor und nach der Ausbringung zeigten immer wieder eine deutliche Entmischung der Formulierung, in der der Großteil der Eier nach kurzen Standzeiten in der Flüssigkeit zur Oberfläche aufschwamm.

Auswertungen von Probenahmen der Spritzbrühe bestätigten eine stark schwankende Anzahl an parasitierten *S. cerealella*-Eiern und den daraus geschlüpften Trichogrammen. Eine Vergleichbarkeit der Proben bestand dadurch nicht und eine genaue Auswertung war dadurch unmöglich gemacht (Tabelle 7).

2. Schlupfrate der Trichogrammen

Die Schlupfraten der Trichogrammen aus den Wirtseiern nach dem Mischvorgang und der Applikation waren geringer als die der nicht formulierten Eier. Ein großer Anteil an Trichogrammen überlebte jedoch sämtliche Anmischungsschritte im Mischtank sowie den Düsendurchgang vor und nach der Applikation (Tabelle 7). Aus applizierten *S. cerealella*-Eiern schlüpften nach ca. 13-16 Tagen vitale Trichogrammen mit einer Schlupfrate zwischen 40-56 % (Tabelle 7). In jedem Stadium der Applikation traten zahlreich schlupfbereite Parasitoide auf, so dass eine weitgehende Beeinträchtigung durch die Gerätetechnik ausgeschlossen werden kann.

Tabelle 7 zeigt eine Übersicht über verschiedene Probenahmezeitpunkte und -orte aus der Spritzflüssigkeit während des Freilandversuchs, in welcher gegenübergestellt wird, wie hoch die erwartete Anzahl an parasitierten *S. c.*-Eiern in der Formulierung und die daraus geschlüpften *T. d.* pro Einheit bei Annahme einer homogenen Verteilung der Eier in der

Spritzflüssigkeit liegen sollte. Daneben wird dargestellt wie hoch die tatsächlich gemessene Anzahl an gefundenen parasitierten *S. c.*-Eiern und an geschlüpften *T. dendrolimi* sowie wie hoch die aus den realen Werten berechnete durchschnittliche Schlupfrate ist (durchschnittlich beobachtete, geschlüpfte *T. dendrolimi* / Anzahl durchschnittlich beobachteter parasitierter *S. cerealella* Eier).

Tabelle 7: Übersicht über verschiedene Probenahmezeitpunkte und -orte aus der Spritzflüssigkeit während des Freilandversuchs.

Probenahme	<i>T. dendrolimi</i> (n erwartet)	<i>T. dendrolimi</i> (n beobachtet)	parasitierte <i>S. cerealella</i> -Eier (n beobachtet)	Durchschnittliche Schlupfrate (%)
Kontrolle (0,01 g) ^a	60	215-328	321-406	70,6
Mischtank (0,5 ml) ^b	58	28-69	37-153	51,1
Düse (0,5 ml) ^c	58	0-18	0-40	56,1
Pro Schälchen (114 cm ²) ^d	17	0-2	0-4	40

^a Probe aus den parasitierten *S. c.*-Eiern vor Anmischung in der Formulierung

^b Probe aus Mischtank nach Anmischung der fertigen Formulierung

^c Probe aus Düsen des Spritzgestänges am Helikopter vor und nach der Applikation auf der Probefläche

^d Probe aus auf der Versuchsfläche während der Helikopterapplikation befindlichen Schälchen

3. Die Qualität der hubschraubergestützten Applikation

Die verlässliche Bestimmung der applizierten Spritzflüssigkeitsmenge und der ausgebrachten Parasitoidenzahl war nicht möglich. Die Unterschiede der während der Applikation an verschiedenen Orten des Versuchsaufbaus in Auffang-Schälchen und an Zweigproben aufgefangenen Mengen und Wirtseier-Zahlen waren so groß, dass daraus keine validen Aussagen zu treffen waren. Jedoch konnte gezeigt werden, dass bei der Hubschrauberapplikation Wirtseier in unbestimmter Zahl an verschiedenen Kiefernflächen (Nadeln und Zweigen) anhafteten. Das lässt trotz der in diesem Versuch bestehenden Unzulänglichkeiten der Gerätetechnik den Schluss zu, dass mit der hubschraubergestützten Ausbringungsform Parasitoide grundsätzlich wirksam eingesetzt werden können.

Wassersensitive Papiere, die während der Befliegung an verschiedenen Stellen des behandelten Kiefernbestandes ausgelegt waren, ließen in der visuellen Betrachtung eine angemessene Verteilung von Tropfen und eine vorwiegend mittlere Tröpfchengröße bei dieser Applikation nur dann erkennen, wenn die sensitive Fläche nach oben ausgerichtet, der Applikation zugewandt war. Papiere, deren wassersensitive Seite bodenwärts (zur Beurteilung des Vorkommens eines Schleppwirbels) nach unten zeigte, blieben weitgehend ohne Benetzung - auch das wahrscheinlich eine Folge verstopfter Düsen und der unzureichenden Ausbringung.

4. Parasitierungsrate der Kiefernspinnereier

Eine valide Bestimmung und Bewertung der Parasitierungsrate an Kiefernspinnereiern durch die ausgebrachten Eiparasitoide *T. dendrolimi* war unter den gestörten Versuchsbedingungen nicht möglich.

Auch entsprach der unerwartet kalte Witterungsverlauf im Versuchszeitraum nicht den in den typischen Einsatzzeiträumen herrschenden Rahmenbedingungen. Die Auswertung von Datenlogger-Aufzeichnungen zeigte, dass die parasitierten *Sitotroga*-Eier nach Ausbringung auf der Versuchsfläche starken Schwankungen der Lufttemperatur und Luftfeuchtigkeit ausgesetzt waren (Tabelle 8, Abbildung 21). Wiederkehrend unterschritt die Lufttemperatur den Wert von 8,5°C, unterhalb dem Kiefernspinnern laut Literatur die Entwicklung nicht mehr möglich ist (Kojima 1933). Sektionen an einer kleinen Stichprobe von Kiefernspinner-Eiern aus dem Versuch bestätigten den mangelnden Entwicklungsfortschritt im Freiland. Erst unter kontrollierten Bedingungen im Klimaschrank (23°C, 70% RH, 12L:12D) entwickelten sich die Kiefernspinnereier aus dem Freilandversuch weiter bis zum Schlupf adulter Tiere.

Angaben zum Entwicklungsnullpunkt von *Trichogramma dendrolimi* gibt es in der Literatur bisher nicht, jedoch war auch für die ausgebrachten Parasitoide unter den nach Applikation teilweise einsetzenden geringen Temperaturen mit lediglich verzögerter Entwicklung und vor allem verringertem Parasitismus zu rechnen.

Trotz der widrigen Witterungsbedingungen konnte die Parasitierung eines Kiefernspinnereies beobachtet werden, aus welchem insgesamt 41 männliche *Trichogramma dendrolimi* schlüpften (Abbildung 22). Die Parasitierung durch lokal vorhandene, nicht ausgebrachte Parasitoide kann dabei weitestgehend ausgeschlossen werden. Auffällig ist das Fehlen weiblicher Trichogrammen, die in Laborversuchen dominiert hatten. Spätere Versuche sollen klären, ob es möglicherweise temperaturbedingt zu verschiedenen Geschlechterverhältnissen kommt.

Tabelle 8: Eckdaten der Lufttemperatur und relativen Luftfeuchte auf der Versuchsfläche aus stündlichen Aufzeichnungen ab dem Zeitpunkt der Parasitoiden-Ausbringung (02.09.2021) bis zum Versuchsende (27.09.2021) (eigene Wetteraufzeichnung).

Minimum/Maximum/Mittelwert	Temperatur (°C)	Luftfeuchte (%)
Mittelwert	14,6	89,3
Minimum	3,4	98,2
Maximum	26,8	44,6

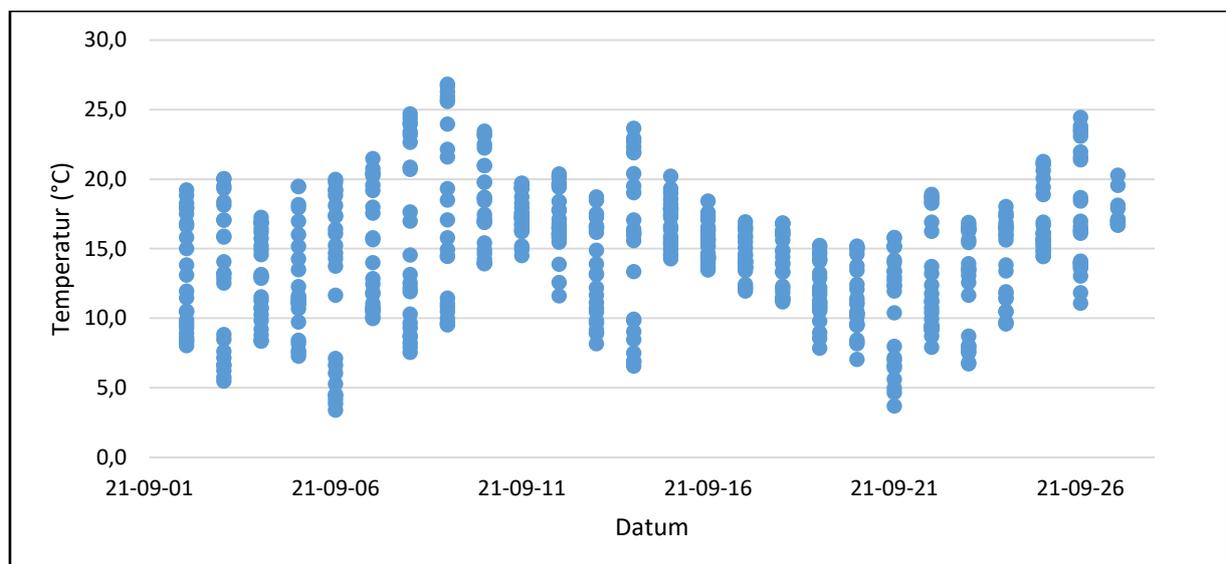


Abbildung 21: Tagesschwankungen im Temperaturverlauf während des Versuchs.

Tabelle 9: Schlupf aus Kiefernspinner-Eiern im Freilandversuch

Ei-Anzahl			geschlüpfte Kiefernspinner		geschlüpfte <i>T. dendrolimi</i>	
davon:						
gesamt	befruchtet	unbefruchtet	absolut	relativ	absolut	relativ
809*	726	83	599	74,0%	1	0,1%

* 11 von insgesamt 820 ausgebrachten Kiefernspinner-Eiern wurden nicht wiedergefunden.



Abbildung 22: Ausbohrlöcher von *T. dendrolimi* aus einem Kiefernspinner-Ei im Freilandversuch.

5. Zum Auftreten von Folgegenerationen von *T. dendrolimi*

Für das Aufkommen einer Folgegeneration fehlten witterungsbedingt die geeigneten Voraussetzungen und das Zustandekommen von Folgegenerationen im Freiland konnte bisher nicht untersucht werden.

Gesamtbewertung der Freilandprüfung

Insgesamt konnte mit der Freilandprüfung sowohl die massenweise Züchtbarkeit von schlupfbereiten *T. dendrolimi* als auch die Verträglichkeit der hubschraubergestützten Applikation sowie die grundsätzliche Eignung der Parasitoiden-Ausbringung gegen den Zielwirt Kiefernspinner in der biologischen Bekämpfung gezeigt werden. Insbesondere die Herstellung einer homogenen Verteilung der Parasitoiden-Wirtseier in der Spritzflüssigkeit und die Wirkung tensidischer Substanzen in der Formulierung auf mögliche Rückstände in Hubschrauber-Spritzanlagen bedürfen aber noch intensiver Weiterentwicklungen. Bislang unzureichende Kenntnisse bestehen zu den erforderlichen Rahmenbedingungen für den wirksamen Parasitoiden-Einsatz.

1.8 Klärung kritischer Rahmenbedingungen für Freiland-Anwendungen

Es ist absehbar, dass Bekämpfungserfolge von *Trichogramma*-Einsätzen neben der räumlichen wesentlich auch von der zeitlichen Koinzidenz des Aufkommens der Parasitoide mit der

Eiablage des Kiefernspinners abhängen. Die Wartezeit zwischen der Applikation und dem Schlupf des Parasitoiden wie auch die Dauer der Eiphasse des Kiefernspinners sind stark witterungsabhängig. Zur Festlegung eines unter üblichen Witterungsverhältnissen geeigneten Applikationstermins sind Kenntnisse über die Dauer der Ei-Entwicklung beider Arten erforderlich. In Laborversuchen mit Klimaschränken wurden deshalb typische Temperaturszenarien norddeutscher Kieferengebiete zur Zeit der Eiphasse des Kiefernspinners simuliert (Temperaturen zwischen 13°C-24°C). So wurde zum einen die Dauer des Ei-Stadiums des Kiefernspinners bestimmt und zum anderen die Zeit bis zum Schlupf der in *Sitotroga*-Wirtseiern ausgebrachten Trichogrammen ermittelt (Tabelle 10). Typische Rahmenbedingungen, die in den Teilversuchen V1-V4 nicht verändert wurden, waren der Hell/Dunkelrhythmus von 16 L / 8 D und die Luftfeuchte von 50% (*D. pini*). Die Luftfeuchte bei *T. dendrolimi* betrug bei in V4 und V3 66% und wurde in V2 auf 55% und in V1 auf 50% reduziert.

Tabelle 10: Versuchsglieder.

Versuchsglied	Haltungsbedingungen
Kontrollen (K)	Im Teilversuch mit <i>D. pini</i> (NW-FVA): Tageslichtlänge: 12 L / 12 D; Luftfeuchte: 40%, Temperatur: 21°C Im Teilversuch mit <i>T. dendrolimi</i> paras. <i>S. c.</i> -Eiern (BIOCARE): Tageslichtlänge: 16L / 8D, Luftfeuchte: 70%, Temperatur: 25°C
V 1	Temperatur. Min: 13 °C; Max: 13 °C Stunden: 8 16
V 2	Temperatur. Min: 13 °C; Max: 17 °C Stunden: 8 16
V 3	Temperatur. Min: 13 °C; Max: 21 °C Stunden: 8 16
V 4	Temperatur. Min: 13 °C; Max: 24 °C Stunden: 8 16

Für den Teilversuch zur witterungsabhängigen Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* wurden für jedes Versuchsglied etwa 200 Stück drei, vier oder fünf WT alte *S. cerealella*-Eier im Verhältnis von 37% 3 WT, 33% 4 WT und 29% 5 WT verwendet. Entsprechende Ei-Alter sollen aufgrund besonders hoher Überlebensraten auch bei Bekämpfungen eingesetzt werden.

Zur Kontrolle wurden drei Proben mit derselben Mischung im Zuchtraum bei 25°C und 70%RH inkubiert. Des Weiteren wurden je drei Proben mit 3, 4 oder 5 WT sowohl im Klimaschrank als auch im Zuchtraum gelagert. Die Proben im Zuchtraum wurden nach 11 WT eingefroren. Bei den Proben im Klimaschrank wurde außerdem die Vitalität der *T. dendrolimi* beobachtet.

Tabelle 11: Übersicht Schlupf- und Lebensdauer der *T. dendrolimi* in den einzelnen Versuchsgliedern (in Tagen).

	Kontrolle (K)	V 1	V 2	V 3	V 4
	(WT- Bedingungen: 25°C, 70% RH)	(13°C)	(13°C-17°C)	(13°C-21°C)	(13°C-24°C)
	Tage	Tage	Tage	Tage	Tage
Anz. Tage bis zum Schlupf nach Versuchsbeginn	3-5	19-26	11-16	9-12	6-9
Anz. Tage vital nach Schlupf	-	8-10	10-11	8-9	5-6

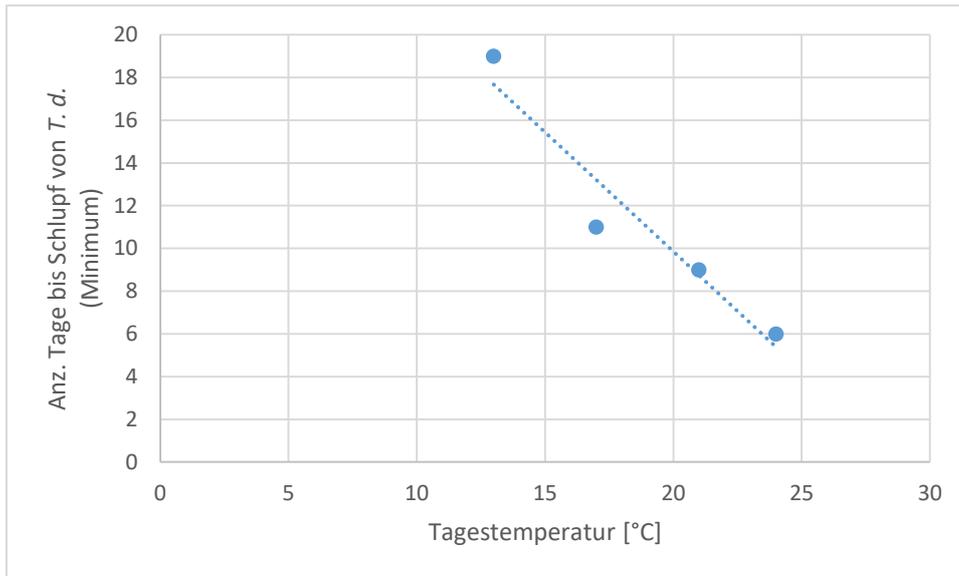


Abbildung 23: Anzahl Tage bis zum Schlupf der Mischung aus 3-5WT *T. dendrolimi* in Abhängigkeit der Tagestemperaturen der jeweiligen Varianten.

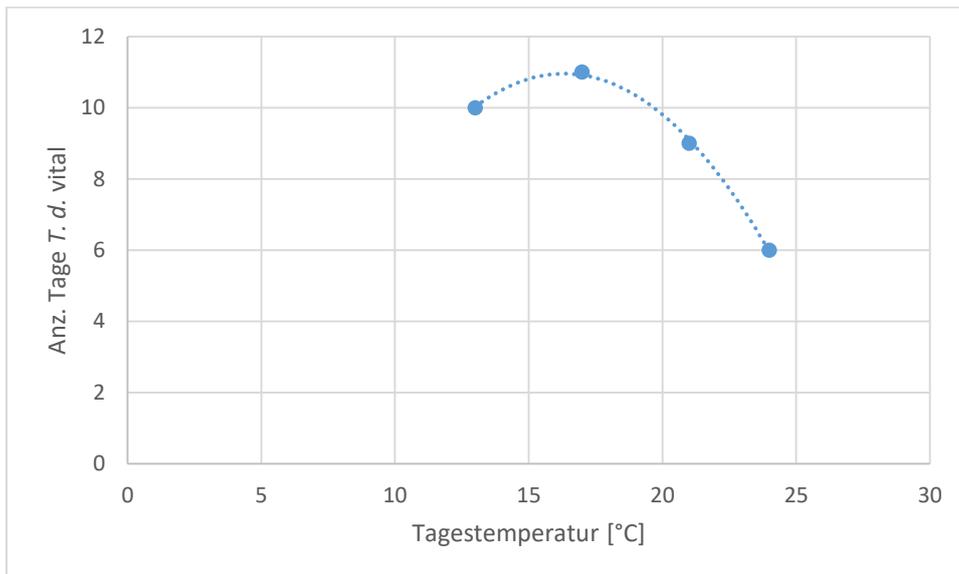


Abbildung 24: Anzahl Tage, an denen die *T. dendrolimi* vital waren, in Abhängigkeit der Tagestemperaturen in den jeweiligen Varianten.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Dauer bis zum Schlupf von *T. d.* mit sinkenden Tagestemperaturen auf bis zu 26 Tage erhöht. Die Schlupfdauer unter Zuchtbedingungen betrug 4-6 Tage ab Beginn des Versuches. Somit kann bei dauerhaft kühlen Temperaturen von einer 3-7-mal so langen Entwicklungsdauer ausgegangen werden wie unter Zuchtbedingungen. Bei nächtlichen Minimumtemperaturen von 13°C und Tagestemperaturen von 24°C benötigten die *T. d.* weitere 6-9 Tage bis zum Schlupf abhängig von dem Entwicklungsstand (WT). Die Tiere waren mit abnehmenden Temperaturen bis 17°C bis zu 11 Tage vital, bei niedrigeren Temperaturen von 13°C Tagestemperatur geht die Anzahl an Tagen, an welchen die Tiere vital sind, zurück (Abbildung 24). Die *T. d.* wirken bei 13°C nicht sehr agil, was darauf schließen lässt, dass diese Tagestemperatur für die Tiere zu niedrig und eine Ausbringung unter solchen Bedingungen nicht zu empfehlen ist.

Parallel zur Bestimmung der Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in *S. cerealella*-Eiern wurden zwischen Januar und Mai 2022 in einem Klimaschrank an der NW-FVA Versuche zur witterungsabhängigen Entwicklungsdauer von *Dendrolimus pini*-Eiern durchgeführt (Tabelle 10). Für jedes Versuchsglied wurden 180 frische Kiefernspinnereier verwendet. Die Kontrolle umfasste je nach Verfügbarkeit 50-100 Eier, welche unter typischen Zuchtbedingungen für *D. pini* von 21 °C (Tag und Nacht), 40 % Luftfeuchte und einer Tageslichtlänge von 12 L / 12 D (aufgrund des einjährigen Lebenszyklus von *D. p.*, der unter natürlichen Bedingungen alle Jahreszeiten durchläuft, fiel die Entscheidung auf einen gleichen Tages- und Nachtrhythmus) gelagert wurden (siehe Tabelle 10).

Auch für *D. pini* wurde unter kühleren Temperaturen ein späterer Schlupf deutlich. So benötigten die Kiefernspinner bei dauerhaft kühlen 13 °C bis zu 38 Tage, während bei Tageshöchsttemperaturen von 24 °C mit maximal 14 Tagen bis zum Schlupf gerechnet werden muss (Abbildung 25, Tabelle 12).

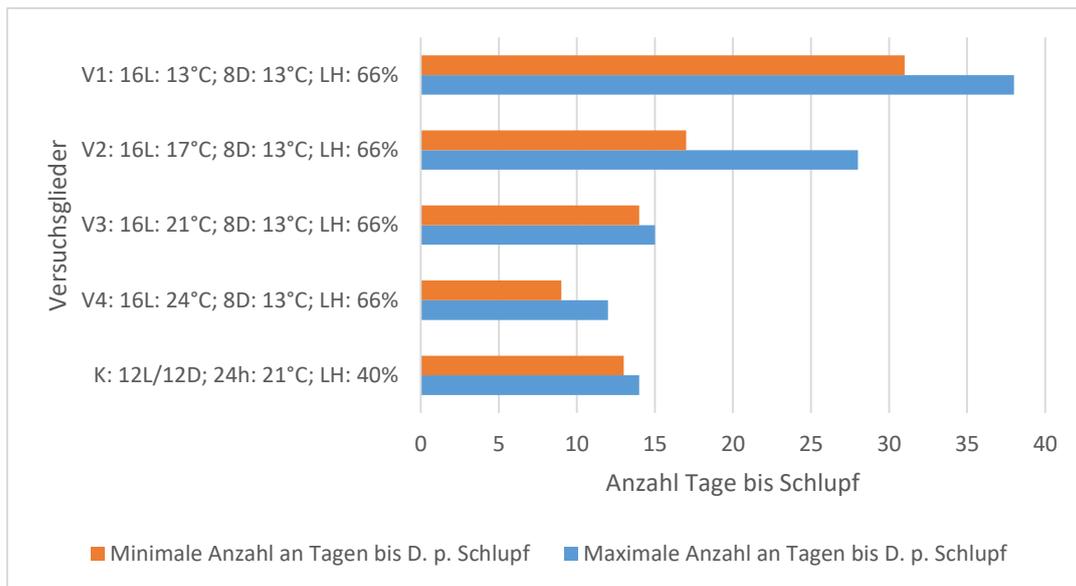


Abbildung 25: Entwicklungsdauer vom Ei bis zum Schlupf von *D. pini* in den Versuchsgliedern V1 bis V4 und Kontrolle (K) unter verschiedenen Umgebungstemperaturen (siehe auch Tabelle 12).

Tabelle 12 zeigt ein temperaturabhängiges Auftreten morphologisch unterscheidbarer Merkmale im Ei-Inneren des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini*) in Abhängigkeit von Alter (in Tagen) und Umgebungstemperaturen (°C) für die einzelnen Versuchsglieder. (K. Tageslichtlänge: 12 L / 12 D; Luftfeuchte: 40%, Temperatur: 21°C; V1-V4: Es herrschen einheitliche Bedingungen, lediglich die Tageshöchsttemperaturen unterscheiden sich zwischen den Versuchsgliedern (siehe Tabelle 10). Jedes Eistadium wurde auf Basis eigener Beobachtungen definiert.

Tabelle 12: Übersicht Eistadien des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini*) in den einzelnen Versuchsgliedern über gewissen Zeitraum (in Tagen) (siehe Tabelle 10).

Ei-stadium	Beschreibung zusammengefasst	Kontrolle (K)	V 1	V 2	V 3	V 4
		(WT-Bedingungen: 21°C)	(13°C)	(13°C-17°C)	(13°C-21°C)	(13°C-24°C)
		Tage	Tage	Tage	Tage	Tage
0	Nach Ablauf der Zeit	Nach Ablauf der Zeit	Nach Ablauf der Zeit	Nach Ablauf der Zeit	Nach Ablauf der Zeit	Nach Ablauf der Zeit

1	Grüne Flüssigkeit bis Bildung einzelner Zellhaufen mit milchig grüner Struktur	1-4	1-16	1-3	1-2	1-2
2	Rötliche Verfärbung einzelner Bereiche mit beginnender Abkapselung	5	10-20	3-5	3-5	2-4
3	Rot-braune Verfärbung einzelner Bereiche mit klarer Umgebungsflüssigkeit	6-7	21-25	5-10	6-7	5-6
4	Rot-braune Verfärbung einzelner Bereiche mit beginnender schwarz-weißer Struktur in einem Bereich	8	24-26	10-13	8-9	7
5	Bildung des Raupenkörpers, erste Bewegungen	9-10	26-30	13-15	10-12	8
6	Ausformung des Körpers, Bildung der Haare, bewegt sich	11-12	28-31	14-16	11-12	9-14
7	Fertige Raupe	13-14	31-38	17-28	13-16	9-14

Mit sinkenden Temperaturen kann demnach von einer längeren Entwicklungszeit der einzelnen Eistadien und damit von einem späteren Schlupf von *T. dendrolimi* und von *D. pini* ausgegangen werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Dauer bis zum Schlupf von *T. d.* temperaturabhängig ist. Der Ausbringungszeitpunkt bei Bekämpfungen von Kiefernspinnern muss daher an die prognostizierten Witterungsbedingungen angepasst werden. Bei anhaltend kühlen Temperaturen zwischen 13-17 °C sollte der Bekämpfungszeitpunkt idealerweise 16 Tage vor erwartetem Beginn der Kiefernspinner-Eiablage liegen. Bei anhaltend sommerlichen Temperaturen von 24°C Tageshöchstwerten sollten die Parasitoide mit einem kürzeren Vorsprung von etwa 6 Tagen ausgebracht werden. Bei Auftreten noch höherer Temperaturen soll der Bekämpfungszeitpunkt noch näher an die erwartete Kiefernspinner-Eiablage heranrücken. Eine Ausbringung unterhalb 17°C Höchsttemperatur lässt wahrscheinlich keine ausreichende Wirkung erwarten. Die Terminierung des Aufkommens von Parasitoiden bereits zu einem frühen Zeitpunkt der Eiablage des Kiefernspinners steigert die Effizienz zum einen, da *T. dendrolimi* offenbar junge Eistadien bevorzugt (vgl. 1.4.3.1) und könnte zum anderen die Chance bieten, dass zu einem späteren Zeitpunkt abgelegte Eier des Kiefernspinners noch durch eine Parasitoiden-Folge-Generation parasitiert werden können.

1.9 Optimierungen für Freilandanwendungen

Um die in dem Freilandversuch aufgetretene unzureichende Dispersion der *Trichogramma*-Aufbereitung in Tankfüllmengen und die Wechselwirkungen der tensidischen Komponenten mit Gerätekomponenten der Spritzanlage zukünftig zu vermeiden, wurde Anfang des 2. Quartals 2022 auf dem Freigelände der Helix-Fluggesellschaft mbH ein Versuch an einer im Stand aufgebockten Helikopterspritzanlage durchgeführt (siehe Abbildung 26).



Abbildung 26: Auf einem Gabelstapler aufgespanntes Helikopterspritzgestänge mit Spritztank. Unter die 33 auf jeder Gestängeseite angebrachten Flachstrahldüsen wurden Rinnen zum Auffangen der Spritzflüssigkeit befestigt.

Zum einen wurde untersucht, (1) ob die bei der Freilandanwendung aufgetretenen Verstopfungen der Düsen durch die Wahl eines Spritzgestänges ohne Ablagerungen aus kupfer- und schwefelhaltigen Spritzmitteln vermieden werden können und (2) ob eine nach den Erfahrungen im Freilandversuch geänderten Formulierung mit längerer Standzeit der Suspension, aber höherer Viskosität zu Verstopfungen von Düsen führt (Formulierung aus Guarkernmehl (0,4%), Squall® (0,5%) und Tween® (0,1%) und 240 Liter Wasser sowie 26 Mio. schlupfbereiten Trichogrammen). Sichtprüfungen der Düsenpassage zeigten, dass es zu keinerlei Verstopfungen kam. Während der gesamten Versuchsdauer war ein störungsfreier Durchfluss des Spritzmittels durch das Spritzgestänge und die Düsen gewährleistet.

Neben der ausgewählten Flachstrahldüse Hardi ISO-F 110-05 wurde die Eignung der Standarddüse AirMix 110-05 und der AirMix 110-06 zur Ausbringung des biologischen Materials geprüft. Beide AirMix-Düsenmodelle boten erkennbar nicht das gewünschte Spritzbild einer mittleren bis groben Tröpfchenverteilung. Vermutlich aufgrund der hohen Viskosität des verwendeten Spritzmittels kam statt eines breiten Spritzbildes lediglich ein Strahl zustande (Abbildung 27). Es ist davon auszugehen, dass sich die Tröpfchengrößen im sehr bis extrem groben Bereich befanden. Ein solches Spritzbild würde das Ziel einer gleichmäßigen Durchdringung des Bestandes wahrscheinlich verfehlen, da große Tropfen aufgrund ihres Gewichts kaum in den gewünschten Kronenbereichen hängen bleiben und stattdessen vorwiegend zu Boden fallen. Im Gegensatz dazu stand das beobachtete Spritzbild der auch schon in der bisherigen Düsenwahl favorisierten Hardi ISO-F 110-05. Sie dispergierte das biologische Mittel auch bei einer höheren Viskosität ausreichend und bot augenscheinlich die gewünschte mittlere bis grobe Tröpfchenverteilung (Abbildung 27). Somit bestätigten die Beobachtungsergebnisse aus diesem Versuch die Eignung des Hardi-Düsentyps.



Abbildung 27: Sprühvorgang der Formulierung durch Spritzgestänge und Düsen während des Optimierungsversuchs. Links im Bild: Formulierung durch Hardi-Düse ISO-F 110-05; rechts im Bild: Formulierung durch Standarddüse AirMix 110-05.

Ein weiteres Ziel des Versuchs war es nochmals zu prüfen, wie hoch die Schlupfraten und die Vitalität von Trichogrammen nach Durchgang durch Spritzgestänge und Düsenöffnungen sind. Aus zuvor festgelegten Düsenpositionen des Spritzgestänges wurde wiederholt für jeden Düsentyp während 15 Sekunden Spritzmittel in Behältern aufgefangen, gewogen und daraus mit Pipetten 0,5 ml Proben des Spritzmittels entnommen. Im Anschluss wurden die Anzahl parasitierter Eier, die Anzahl an geschlüpften Trichogrammen und die Schlupfraten aus den Proben bestimmt. Aufgrund der innerhalb und zwischen den Düsentypen sehr inhomogenen Ergebnisse ließen sich allerdings keine verlässlichen Aussagen zum Überleben und den Schlupfraten der Trichogrammen machen. In 36 bei der AirMix 110-05 genommenen Proben, variierte die Anzahl beobachteter *S. c.*- Eier zwischen 0 und 141. Bei der Hardi ISO-F 110-05 wurden ebenfalls 36 Proben entnommen, in welchen sich noch größere Unterschiede in der Anzahl an gefundenen parasitierten *S. c.*-Eiern zwischen 1 und 553 ergaben. Es konnte keine gut geeignete Methode der Probennahme gefunden werden, die derartige Auszählungen besser standardisiert.

Bei allen drei in dem Versuch verwendeten Düsentypen wurden aus der inhomogenen Anzahl gefundener Eier und aus der Anzahl aus daraus geschlüpften Trichogrammen pro Probe Schlupfraten zwischen 40% und 70% berechnet. Die Ergebnisse belegen, dass Trichogrammen auch nach mehreren Stunden in der Formulierung schlupffähig und vital sind (Abbildung 28).

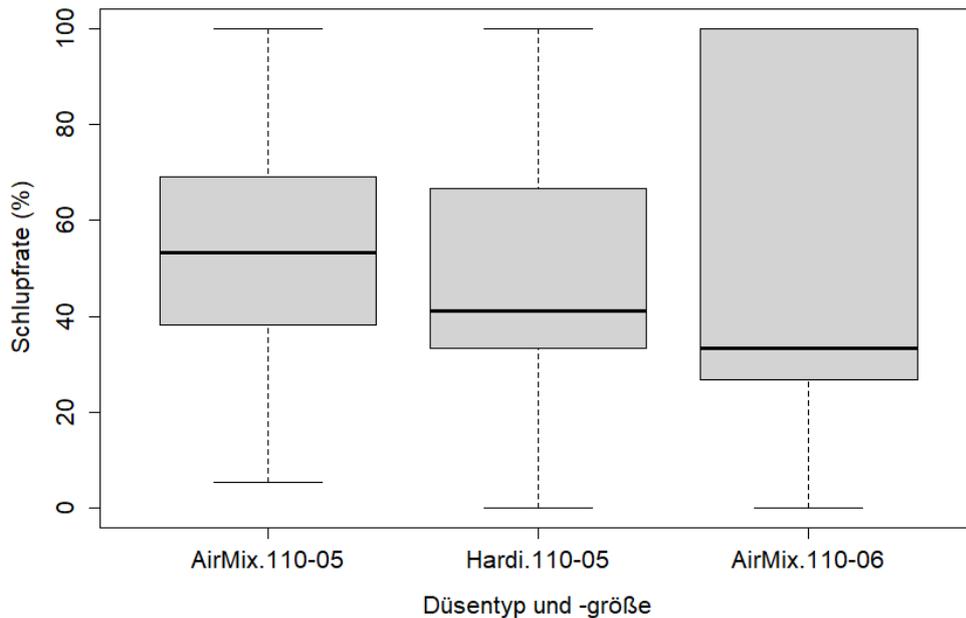


Abbildung 28: Schlupfraten von *Trichogramma* für den jeweiligen getesteten Düsentyp.

Als nebengeordnetes Ziel wurde geprüft, ob die tatsächlichen Ausbringungsmengen mit den in den Produktdatenblättern angegebenen Werten des jeweiligen Düsentyps übereinstimmen.

Die vorgegebenen Durchflussmengen durch beide Düsentypen der Größe 110-05 von durchschnittlich 408 ml Wasser pro 15 Sekunden Sprühzeit bei einem Druck von 2 bar lagen bei der Hardi Düse ISO-F 110-05 in diesem Versuch mit dem entwickelten Spritzmittel mit durchschnittlich 422 ml etwas über und bei der Standarddüse Airmix110-05 mit durchschnittlich 386 ml pro 15 Sekunden etwas unter den Standardwerten. Bei der AirMix 110-06 wurde mit durchschnittlich 400 ml in 15 Sekunden ein deutlich geringerer Wert festgestellt als im Produktdatenblatt mit 490 ml angegeben.

Während die gleichmäßige Mischbarkeit des Parasitoiden in der Formulierung weiterhin nicht erreicht wurde, was möglicherweise auf inhomogene physikalisch-chemische Eigenschaften der Eier zurückgeführt werden kann, zeigte der Versuch, dass mit nicht von Kupfer- und Schwefel-Ablagerungen belastetem Spritzgerät die störungsfreie Passage des Spritzmittels erreicht wird. Spätere Prüfungen müssen zeigen, ob die Gerätetechnik in der Lage ist, eine derart gleichmäßig dichte Verteilung der Parasitoide auch im Kiefernbestand zu gewährleisten.

2. Verwertung

Die Entwicklung eines praxisreifen Verfahrens zur Ausbringung von Eiparasitoiden gegen den forstschädlichen Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*) konnte bei Erreichen wichtiger Zwischenziele im gegebenen Projektzeitraum nicht vollständig umgesetzt werden.

Nach umfassender Recherche wurde die Erzwespe *Trichogramma dendrolimi* als erfolgversprechendster Eiparasitoid gegen die Eier des Kiefernspinners festgelegt. Es wurden ein Verfahren zur Massenzucht der Erzwespenart erarbeitet und Kenntnisse zur regelmäßigen Suchweite des Parasitoiden gewonnen. Daneben wurden hinreichende Parasitierungsraten

von Überschwemmungsmethoden gegen den Kiefernspinner nachgewiesen sowie die grundsätzliche Verträglichkeit von Flüssigformulierungen und hubschraubergestützter Applikation gezeigt.

Die technische Umsetzung der LFZ-gestützten Applikation der parasitierten *S. cerealella*-Formulierung wird als optimierungsnotwendig gewertet. Es ergaben sich unvorhersehbare technische Probleme während der erstmaligen Applikation im Freilandversuch, die in zukünftigen Anwendungen behoben werden können, wie Versuchsergebnisse an einem stehenden Spitzgestänge zeigen. Die aufgetretenen Problematiken spiegeln die Komplexität und den Herausforderung, ein solches Verfahren zu entwickeln wieder und zeigen deutlich auf, dass die Entwicklung solch umfangreicher und vielschichtiger biologischer Bekämpfungsverfahren innerhalb eines dreijährigen Projektzeitraumes nicht abschließend durchführbar ist. Es konnte gezeigt werden, dass *Trichogramma dendrolimi* eine aviotechnische Applikation in einer Flüssigformulierung bei verschiedenen Düsentypen in gutem Zustand überleben. Trotz unzulänglicher Witterungsbedingungen und unzureichender Ausbringungsmengen konnte in einem Fall sogar die Parasitierung eines Kiefernspinnereies im Freiland nachgewiesen werden.

Verwertungsansätze bestehen insbesondere für den Ausbau der Massenzucht von *Trichogramma dendrolimi*. Zwar konnte ein Verfahren für die Massenzucht von *T. dendrolimi* erfolgreich erarbeitet werden, jedoch müssen Produktionsabläufe im Hinblick auf den schwankenden Mengenbedarf von bis zu mehreren Milliarden Trichogrammen und die Bereitstellung in flexiblen Zeitfenstern anpassbar gestaltet werden.

Zur Weiterentwicklung der Überschwemmungsmethode fehlen bisher vor allem valide Ergebnisse aus dem Freiland. Weiterer Klärung bedarf dabei das Verhalten ausgebrachter Trichogrammen in Kiefernwäldern. Welche Distanzen legen die Parasitoiden in typischen Bestandesstrukturen regelmäßig zurück? Welche Parasitierungsraten werden im praxisnahen Einsatz erreicht? Eine sparsame, aber hinreichend wirksame Verteilung der Trichogrammen bei LFZ-gestützten Applikationen ist erst mit solchen Kenntnissen zu erreichen.

Die im Freilandversuch 2021 gewählte Flüssigformulierung besaß eine hohe Verträglichkeit gegenüber den Parasitoiden, erreichte aber nur im kleinen Maßstab von wenigen 100 ml die erforderliche homogene Verteilung der Eier. In einem Folgeprojekt sollte überprüft und weiterentwickelt werden, wie große Formulierungsmengen (650 Liter Spritztankvolumen) neben einer homogenen Verteilung der Eier und guten Haftungseigenschaften an Oberflächen außerdem eine gute Verträglichkeit für die Eier und die Umwelt gewährleisten.

Insgesamt wird weiterer wesentlicher Forschungsbedarf erkannt. Die Erfolgsaussicht eines Folgeprojektes zur Entwicklung eines praxisreifen Verfahrens der LFZ-gestützten Applikation von *T. dendrolimi* parasitierten *S. cerealella*-Eiern wird als aussichtsreich eingeschätzt.

Erarbeitete Methoden und Komponenten zur Ausbringung der Erzwespen im Semi-Freiland und Freiland könnten sowohl auf andere Baumarten sowie auf andere Lepidopteren-Schaderreger übertragbar sein und können bei nachfolgenden Versuchen oder Folgeprojekten genutzt werden.

In einem beantragten Folgeprojekt ist auch vorgesehen, dass das vorhandene Standardverfahren zur Prognose des Kiefernspinner-Auftretens weiterentwickelt wird. Hauptziele sollen sein, den jährlich stark schwankenden Bedarf an Parasitoiden frühzeitig genug zu ermitteln, um die erforderliche Nützlingsproduktion daran anzupassen und den vor Ort wirkungsvollsten Ausbringungszeitpunkt zu bestimmen.

a) Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Bisher wurden innerhalb des Projektes keine Schutzrechte angemeldet. Lizenzen bzw. eine Übertragung der Schutzrechte werden den am Projekt beteiligten Unternehmen zur

wirtschaftlichen Verwertung zu marktüblichen Bedingungen angeboten. Der Umgang mit Schutz- und Nutzungsrechten wurde unter Berücksichtigung des Gemeinschaftsrahmens für staatliche Beihilfen für Forschung, Entwicklung und Innovation im Rahmen einer Kooperationsvereinbarung geregelt.

b) Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

Das Projekt zielt auf die Entwicklung eines marktfähigen Produkts und Verfahrens zur Kontrolle des Kiefernspinners (*D. pini*) mit *T. dendrolimi* ab. Die bereits etablierte kommerzielle Verwendung ähnlicher Nützlingsarten in anderen Anwendungsbereichen und die bisher im Projekt erzielten Kenntnisse verbessern die Aussicht auf die erfolgreiche Entwicklung forstlicher Anwendungen und deren Einführung deutlich. Praxisreife Entwicklungen und deren Markteinführung werden bis zum Ende der Projektlaufzeit allerdings nicht umsetzbar sein.

c) Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende

Die wissenschaftlichen Erfolgsaussichten bestehen darin, dass dieses Projekt einen Beitrag zu den Zielen des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln leisten soll. Dazu wird das zu entwickelnde biologische Verfahren die Möglichkeiten zu integriertem Pflanzenschutz gegenüber KiefernSchädlingen wesentlich erweitern und die Anwendungsrisiken bei Bekämpfungen deutlich reduzieren.

Bei den wissenschaftlichen und/oder technischen Erfolgsaussichten ergeben sich keine Änderungen zur Vorhabenbeschreibung.

d) Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit ist weiterhin, wie im Antrag dargelegt, in vollem Umfang gegeben.

3. Erkenntnisse von Dritten

Unseres Wissens wurden während der Projektlaufzeit keine neuen Erkenntnisse von Dritten veröffentlicht. Erwähnenswert ist, dass die Zulassung des letzten in der Forstwirtschaft zugelassenen chemischen Insektizids am 31.08.2022 endet und die anschließende eineinhalbjährige Aufbrauchsfrist zum 28.02.2024 ausläuft. Künftige Zulassungen von chemischen Insektiziden in dem Bereich der Forstwirtschaft sind nicht in Sicht. Wirksame biologische Pflanzenschutzmittel gegen blatt- und nadelfressende Lepidopteren im Forst existieren zum aktuellen Zeitpunkt nicht.

Veröffentlichungen

Aufgrund fehlender Praxisreife der LFZ-gestützten Applikation konnte bisher kein Standardverfahren veröffentlicht werden.

Vortrag bei DPSG-Tagung:

Heine, V.; Przyklenk, M.; Dobrindt, L.; Strube, A.; Rommerskirchen, A.; Rohde, M.; Burkardt, K.; Beitzten-Heineke, W. (23.09.2021): Entwicklung von biologischen Bekämpfungsverfahren gegen den Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*) mit dem Eiparasitoiden (*Trichogramma dendrolimi*). 62. Deutsche Pflanzenschutztagung (DPSG-Tagung).

Anhang

Teilvorhaben 1

Die Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt koordinierte und leitete das Gesamtvorhaben. Sie war für die grundsätzliche Zieldefinition zuständig und definierte in Abstimmung mit dem Projektpartner die Untersuchungsinhalte und Versuchsmethoden. Durch die NW-FVA wurden die erforderlichen Kiefernspinner-Eier bereitgestellt, gemeinsam mit dem Projektpartner Labor- und Freilanduntersuchungen zur Anwendung von Parasitoiden durchgeführt, Entwicklungen geprüft und der Verbesserungsbedarf aus waldschutzfachlicher Sicht beurteilt.

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens 1

Das übergeordnete Ziel beider Projektpartner stellte die Entwicklung eines Überschwemmungsverfahrens zur biologischen Bekämpfung des Kiefernspinners mit dem Eiparasitoiden *Trichogramma dendrolimi* dar.

Die Hauptaufgaben der NW-FVA im Verbundvorhaben bestanden darin, eine Methode zur großflächigen Parasitoidenausbringung in befallenen Kiefernwäldern zu finden und die technischen Voraussetzungen für die massenweise Applikation zu schaffen. Zur Umsetzung entsprechender Versuche mussten regelmäßig Kiefernspinnereier zur Verfügung stehen, was durch den Ausbau der an der NW-FVA vorhandenen Labormassenzucht gewährleistet wurde. Ein Studium der einschlägigen Literatur zeigte, dass sich zur biologischen Bekämpfung von *Dendrolimus*-Arten die Erzwespe *Trichogramma dendrolimi* besonders anbietet. Verschiedene Untersuchungen ermittelten ihre Wirksamkeit und das Dispersionsverhalten im Labor und unter Semi-Freiland-Bedingungen. Darauf aufbauend wurde eine erste Bedarfskalkulation für die wirkungsvolle Überschwemmung von Kiefernspinner-Kalamitäten abgeleitet. Außerdem wurden die Eignung und Verträglichkeit von hubschraubergestützten Spritzanlagen untersucht, ein Düsentyp ausgewählt und verschiedene vom Projektpartner entwickelte Formulierungen zur Herstellung einer Spritzflüssigkeit geprüft. Alle bis dahin gewonnenen Ergebnisse wurden in einem bislang einmaligen Freilandversuch umgesetzt und erwiesen sich bei noch deutlichem Bedarf zur Weiterentwicklung als grundsätzlich geeignet. Ein wesentlicher Forschungsbedarf besteht zur Formulierung des Parasitoiden (bzw. des Zuchtwirts) in einer Spritzflüssigkeit, da es bislang nicht gelang, die mit teilweise unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften ausgestatteten Eier in eine homogene Suspension zu bringen. Dagegen wurden für zunächst aufgetretene gerätetechnische Schwierigkeiten bereits geeignete Lösungsansätze ermittelt, allerdings noch nicht abschließend überprüft.

Projektbearbeitung: Dr. L. Dobrinth April 2019 bis Februar 2021, Dr. K. Burkardt ab Februar 2021 sowie verschiedene Technische Angestellte (K. Herwig, M. Nafe, M. Schulze, A. Strube, M. Wulf-Siegmann, I. Kornrumpf, B. Wüstefeld)

2. Bearbeitete Arbeitspakete des Teilvorhabens 1

2.1 Erarbeitung von Anforderungen an das Projekt

Gemeinsam mit BIO CARE wurde als Grundlage für die Verfahrenserarbeitung und als Ausgang für einzelne Entwicklungsschritte ein allgemeiner Anforderungskatalog erstellt, der einen zielgerichteten und strukturierten Entwicklungsprozess unterstützte.

Anhand der formulierten Anforderungen wurden sowohl konkrete Fragestellungen zu einzelnen Arbeitsschritten festgelegt, als auch entsprechende Untersuchungen geplant und umgesetzt. Viele der formulierten Anforderungen stehen in Wechselwirkung zueinander. So müssen verschiedene Anforderungen, welche sich aus dem zu bekämpfenden Schädling *Dendrolimus pini*, durch den Einsatz lebender Parasitoiden-Wirtseier, die großflächige Raumstruktur Kiefernwald und aus der gewählten Hubschrauber-Applikation ergeben, angepasst und aufeinander abgestimmt werden. Im Laufe des Projektes wurde der Anforderungskatalog regelmäßig entsprechend den jeweils anstehenden Aufgaben und neuen Erkenntnissen erweitert.

2.2 Wahl einer Nützlingsart und Festlegung auf *T. dendrolimi*

Die bisherigen Kenntnisse zum natürlichen Antagonistenspektrum in Kiefernwäldern wurden zusammengeführt und dazu verwendet, eine erfolgversprechende Nützlingsart auszuwählen, welche neben der Zuschreibung einer hohen Wirksamkeit gegenüber dem Kiefernspinner auch die massenweise Züchtbarkeit in gleichbleibender Qualität versprechen sollte. Die verfügbare internationale und nationale Literatur wurde ausgewertet und Kontakte zu einzelnen Experten auf dem Gebiet für Parasitismus bei Lepidopteren aufgenommen.

2.3 Laborzucht von *Dendrolimus pini*

Es wurde kontinuierlich eine Laborzucht zur Bereitstellung von hochwertigen (4.000-7.000) Kiefernspinner-Eiern für Versuchszwecke betrieben. Der Umfang der Zucht wurde jeweils im Vorfeld zu geplanten Versuchen angepasst und hierbei die unterschiedlichen Mortalitätsraten der einzelnen Entwicklungsstadien-Stadien berücksichtigt. Personelle Ausfälle und Engpässe mussten kompensiert werden.

2.4 Wirksamkeit von *Trichogramma dendrolimi*

In Laborversuchen und einem Semi-Freiland-Versuch wurden vitalen *Trichogramma dendrolimi* Kiefernspinner-Eier zur Parasitierung angeboten. Die Erzwespen wurden dabei als adulte Tiere eingesetzt, wenn eine definierte Anzahl weiblicher Tiere erforderlich war. In anderen Fällen kam eine abgewogene Menge von 1 oder 2 g parasitierter, vier Tage alter *Sitotroga*-Eier zum Einsatz.

In Laborversuchen wurden die Parasitierungsraten von *T. dendrolimi* gegenüber verschiedenen Kiefernspinner-Eiern untersucht und die Zahl der aus einem parasitierten Kiefernspinner-Ei schlüpfenden Nachkommen ermittelt. Dabei wurde geklärt, ob die Erzwespe befruchtete oder unbefruchtete *D. pini*-Eier zur Parasitierung präferiert, oder wie das Alter der Kiefernspinner-Eier die Parasitierungsrate durch *Trichogramma dendrolimi* beeinflusst. Ein weiterer Versuch überprüfte, wie viele Kiefernspinner-Eier ein Weibchen von *T. dendrolimi* durchschnittlich parasitiert und wie viele Parasitoide im Mittel benötigt werden, um eine bestimmte Anzahl von *D. pini* zu parasitieren. Ein Tastversuch sollte Hinweise zur Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* in Kiefernspinnereiern unter Freilandbedingungen geben. Die Parasitierungs- und Schlupfraten waren wesentliche Auswahlkriterien bei der Festlegung auf eine Formulierung und die Gerätetechnik bei Ausbringungen.

Im Semi-Freiland wurden die Parasitierungsraten im Zusammenhang mit dem Dispersionsverhalten in einer vereinfachten Kiefernbestandssituation untersucht und die bei späteren Anwendungen erforderliche Dichte der Ausbringung abgeschätzt.

2.5 Düsenauswahl und Prüfung der Ausbringungstechnik

Nach umfassender Recherche und Überprüfung sämtlicher Ausbringungsmöglichkeiten- und Anforderungen stellte sich eine helikoptergestützte Applikation einer Flüssigformulierung am erfolgversprechendsten heraus.

Sobald Formulierungen gefunden waren, die gegenüber Parasitoiden verträglich sind und die Parasitierung nicht relevant beeinträchtigen, wurde untersucht, welche Düsentypen sich für Applikationen eignen.

Die Düsen mussten in einer Simplex-Sprühanlage einsetzbar sein und eine gleichmäßige Tröpfchenverteilung erzeugen. Vor allem durch Düsengröße und Fluggeschwindigkeit sollte die Zirkulation der ausgesprühten Formulierung die Bildung eines Schleppwirbels gewährleisten (siehe Abbildung 17 zur Bestandesdurchdringung). Daneben sollte der Düsendurchgang ein unbeschadetes Durchkommen der *S. cerealella*-Eier erlauben. Nachdem anhand der Kriterien vier Flachstrahl-Düsen in die engere Wahl kamen, sind gemeinsam mit BIO CARE Versuche zur Verträglichkeit der Düsentypen für *S. cerealella*-Eier und den daraus resultierenden Schlupfraten von *T. dendrolimi* erfolgt.

2.6 Erste Freiland-Prüfung

Die in verschiedenen Versuchen einzeln erarbeiteten Teile eines komplexen Überschwemmungsverfahrens wurden unter realitätsnahen, aber zwecks Bewertbarkeit hoch schematisierten Bedingungen bei aviotechnischer Applikation in einem Freiland-Versuch überprüft. Insbesondere sechs Zielstellungen wurden betrachtet:

1. Mischbarkeit der Formulierung aus *S. cerealella*-Eiern, Squall®, Xanthan, Tween® und Wasser für große Spritzflüssigkeits-Mengen (170 Liter),
2. Schlupfrate der Trichogrammen nach dem Mischvorgang (im Vergleich zu ungemischten, nicht formulierten Eiern).
3. Qualität der Applikation nach ankommender Spritzmittelmenge und -verteilung.
4. Parasitierungsrate der Kiefernspinnereier durch applizierte *T. dendrolimi*.
5. Auftreten von Folgegenerationen von *T. dendrolimi*.

2.7 Klärung kritischer Rahmenbedingungen bei Freiland-Anwendungen

Um die zeitliche Koinzidenz von Ausbringungen des Parasitoiden mit dem Wirt verbessern zu können, wurden bis zum Ende des laufenden Projektes in Laborversuchen mit Klimaschränken typische Witterungsverhältnisse norddeutscher Kieferngebiete zur Eiphasen des Kiefernspinners simuliert. Ziel war es herauszufinden, in welchem Umfang die Entwicklungsdauer von *D. pini*-Eiern temperaturabhängig ist, und mit welchen Vorlaufzeiten für die Applikation bzw. Wartezeiten nach der Applikation unter im Verbreitungsgebiet des Kiefernspinners bestehenden Witterungsbedingungen zu rechnen ist. Die Klimaschrankversuche ergaben deutliche Zusammenhänge zwischen Temperaturen und Entwicklungszeiten. Entsprechend konnten die Vorlauf- bzw. Wartezeiten bereits eingegrenzt werden.

2.8 Optimierung für Freilandanwendungen

Aus dem Freilandversuch wurden zwei wesentliche Gesichtspunkte für Optimierungen abgeleitet. Zum einen bestand bei der Mischung einer für den Spritztank hinreichenden Spritzflüssigkeitsmenge eine lediglich unzureichende Dispersion des Parasitoiden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die grundsätzlich nicht ausreichend einheitlichen Eigenschaften der verwendeten Organismen zurückzuführen ist. Der komplexen Aufgabe einer homogenisierbaren Formulierung muss durch weitere umfangreiche Untersuchungen nachgegangen werden. Zum anderen traten Verstopfungen von Düsen und dadurch erhebliche Beeinträchtigungen der Applikation auf, die durch weitere Untersuchungen auf Wechselwirkungen des Spritzmittels, wohl vor allem eines tensidischen Bestandteils, mit vorhandenen schwefel- und kupferhaltigen Ablagerungen im Helikopterspritzgestänge zurückgeführt wurden. Nachfolgende Prüfungen an einer stehenden Spritzanlage bestätigten die Verwendbarkeit ablagerungsfreier Spritzgestänge und die besondere Eignung der gewählten Flachstrahldüse Hardi ISO-F 110-05, so dass diese beiden Punkte als geklärt gelten.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens 1

3.1 Wahl einer Nützlingsart und Festlegung auf *T. dendrolimi*

T. dendrolimi besitzt als eine heimische Parasitoidenart eine besonders hohe Erfolgsaussicht, dass sie sowohl die für Bekämpfungen ausreichende Parasitierungsrate erreicht als auch in großen Mengen züchtbar ist. Weiterhin sprechen die kurze Lebensdauer und die eng begrenzte Dispersion, die nur geringe Auswirkungen auf Nichtzielorganismen mit sich bringen, für diese Erzwespe (vgl. Ergebnisse 1.2).

3.2 Laborzucht von *D. pini*

Dendrolimus pini kann erfolgreich in verschiedenen parallel laufenden Zuchtlinien gehalten werden, und es lassen sich Eistadien bei Kühlung über begrenzte Zeiträume lagern. Damit stehen bei Bedarf abrufbare Individuenzahlen zur Verfügung.

3.3 Wirksamkeit von *T. dendrolimi*

Trichogramma dendrolimi parasitiert die Eier von *Dendrolimus pini* im Labor regelmäßig mit einer hohen Rate um 90 %. Befruchtete Eier des Kiefernspinners werden gegenüber unbefruchteten Eiern und 0-5 Tage alte Eistadien gegenüber älteren Eiern grundsätzlich bevorzugt. Der Schlupf von Trichogrammen aus Kiefernspinner-Eiern tritt unter günstigen Laborbedingungen nach 10-14 Warmtagen ein. Bisherige Ergebnisse zeigen eine Temperaturabhängigkeit der Entwicklung. Für Freilandanwendungen des Parasitoiden sollten Applikationstermine gewählt werden, die je nach Witterung länger oder kürzer vor der Eiablagephase des Schaderregers liegen.

Zwischen der durchschnittlichen Anzahl an Parasitierungen einer bestimmten Zahl von Kiefernspinnereiern und der Menge an eingesetzten Parasitoiden besteht ein signifikanter Zusammenhang. Parasitiert ein einzelnes *T. dendrolimi*-Weibchen durchschnittlich 0,6 von zehn Kiefernspinnereiern, werden bei der Hinzugabe der gegenüber den Kiefernspinner-Eiern zehnfachen Menge an Parasitoiden durchschnittlich 8,5 von 10 Eiern parasitiert.

In einem Tastversuch wurden unter Freilandbedingungen 75 % befruchteter Kiefernspinner-eier durch *Trichogramma dendrolimi* parasitiert.

Die aktive horizontale Suchweite der Erzwespe gegenüber Kiefernspinner-Eiern liegt laut Semi-Freilandversuch überwiegend innerhalb eines 1m-Radius. Daher muss bei Applikationen durch eine dichte Verteilung ausgebrachter Wirtseier sichergestellt werden, dass die *Trichogramma dendrolimi* in die Nähe der Ablageorte der Kiefernspinner-Eier platziert sind (vgl. Ergebnisse 1.4).

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass *Trichogramma dendrolimi* zur Bekämpfung von *Dendrolimus pini* geeignet ist. Es ergeben sich Anforderungen eines hohen Bedarfs und einer räumlich engen Verteilung des Parasitoiden.

3.4 Düsenauswahl und Prüfung der Ausbringungstechnik

Die Flachstrahldüse Hardi ISO-F 110-05 weist einen einfachen Aufbau ihres Düsenkörpers auf und ermöglicht so einen verletzungsfreien Durchgang von *Sitotroga*-Eiern. Die Düse bietet bei 2 bar Pumpendruck ein Spritzbild mit dichter Verteilung eines Tropfenspektrums aus groben Tropfen. Beim Einsatz ist auf geeignete Weise dafür zu sorgen, dass die Düsen nicht verstopfen.

3.5 Erste Freiland-Prüfung

Da es bei der ersten praxisnahen Prüfung bisheriger Labor- und Semi-Freilandergebnisse bisher nicht gelang, eine homogene Parasitoidensuspension herzustellen, und die unter einer unzureichenden Ausbringung leidende Überschwemmung von Versuchskiefern zudem auf ungeeignete Witterungsbedingungen traf, ist ein Teil der Ergebnisse des Freiland-Versuchs 2021 nur bedingt aussagekräftig.

Die Mischbarkeit der Formulierung aus knapp 22 Mio. parasitierten *S. c.* Eiern, 85 g Xanthan (0,04%), 850 ml Squall® (0,45%), 170 ml Tween® (0,09%) und Wasser für große Mengen (170 Liter) führte bei der Skalierung von der Vormischung von 20 Litern auf die für die Hubschrauberausbringung erforderliche Menge von mehreren Hundert Litern zu keinem befriedigenden Ergebnis. Nur für kleine Mengen der Formulierung konnte vorübergehend eine homogene Verteilung erreicht werden, während die unterschiedliche Suspendierbarkeit der nie in allen Eigenschaften vollständig übereinstimmenden Eier erst in der großen Tankfüllmenge deutlich wurde. Die Schlupfrate der Trichogrammen aus *Sitotroga*-Wirtseiern nach dem Anmischen einer Flüssigformulierung reichte dennoch aus, wirksame Parasitierungen von Kiefernspinnern zu ermöglichen. Die Gesamtbewertung der Applikationsqualität konnte aufgrund teilweise verstopfter Düsen nur im begrenzten Umfang erfolgen. Eine quantitative Bestimmung der am Boden ankommenden Spritzmittelmenge pro Flächeneinheit ebenso wie die Überprüfung der Tröpfchenverteilung nach Applikation war daher nicht möglich. Applizierte Parasitoide waren vital und der Parasitoid wirksam. Eine Bestimmung der Parasitierungsrate bei Kiefernspinnereiern durch applizierte *T. dendrolimi* unter bestandesähnlichen Bedingungen war aufgrund widriger Witterungsbedingungen während des Freilandversuchs abseits der typischen Anwendungszeiträume nicht möglich. Aus dem gleichen Grund konnte das Aufkommen von Folgegenerationen von *Trichogramma dendrolimi* nicht untersucht werden.

Die erreichten Resultate (massenweise Züchtbarkeit von schlupfbereiten *T. dendrolimi* als auch die Verträglichkeit der hubschraubergestützten Applikation sowie die grundsätzliche Eignung der Parasitoiden-Ausbringung gegen den Zielwirt Kiefernspinner) lassen erkennen, dass bei passenden Rahmenbedingungen die hubschraubergestützte Ausbringung von *T. dendrolimi* zur biologischen Bekämpfung des *D. pini* im Überschwemmungsverfahren geeignet ist.

3.6 Klärung kritischer Rahmenbedingungen bei Freiland-Anwendungen

Es wurde eine kontinuierliche Zunahme der Entwicklungsdauer von *D. pini*-Eiern mit sinkenden Temperaturen beobachtet. Für eine Bekämpfung sollte der Zeitpunkt bei anhaltend kühlen Temperaturen zwischen 13-17 °C idealerweise 16 Tage vor erwartetem Beginn der Kiefernspinner-Eiablage liegen. Der Ausbringungszeitpunkt sollte bei anhaltend sommerlichen Temperaturen von 24°C auf 6 Tage verkürzt werden und bei höheren Temperaturen noch näher an die erwartete Kiefernspinner-Eiablage heranrücken. Eine Ausbringung unterhalb 17°C Höchsttemperatur lässt wahrscheinlich keine ausreichende Wirkung erwarten.

3.7 Optimierung für Freilandanwendungen

Verstopfungen zahlreicher Düsen, die bei der Freilandprüfung noch deutlich zu beobachten waren, konnten auf Ablagerungen im Spritzgestänge aus früheren Schwefel- und Kupfer-Ausbringungen zurückgeführt werden. Bei künftigen Einsätzen kann nun auf geeignete Weise dafür gesorgt werden, dass Düsen eine störungsfreie Passage des Parasitoiden gewährleisten.

Die besondere Eignung des Düsentyps Hardi ISO-F 110-05, der bereits anhand von Produktdatenblättern und nach eigenen Laborversuchen für die Parasitoiden-Applikation favorisiert wurde, bestätigten Tests an der Hubschrauber-Spritzanlage auch für eine veränderte Formulierung mit vergleichsweise hoher Viskosität.

Teilvorhaben 2

Die BIOCARE Gesellschaft für biologische Schutzmittel brachte ihre professionelle Züchterfahrung bei der Vermehrung und Bereitstellung von vitalen, wirksamen *Trichogramma dendrolimi* ein. Kenntnisse zur Entwicklung von Ausbringungsmethoden wurden im Verbundvorhaben insbesondere bei der Entwicklung einer neuartigen Flüssigformulierung genutzt.

1. Ziel und Gegenstand des Teilvorhabens 2

Für die Entwicklung eines Überschwemmungsverfahrens zur biologischen Bekämpfung des Kiefernspinners mit dem Eiparasitoiden *Trichogramma dendrolimi* musste regelmäßig eine ausreichende Menge an *Trichogramma dendrolimi* zur Verfügung stehen, was durch den Aufbau einer Massenvermehrung bei BIOCARE gewährleistet wurde. Die Hauptaufgaben von BIOCARE im Verbundvorhaben bestanden darin, Parasitoiden auf ihre Wirksamkeit und Eignung zu prüfen und eine Formulierung zur großflächigen Parasitoidenausbringung in befallenen Kiefernwäldern zu entwickeln. Dafür wurden aus der großen Fülle marktüblicher Zusatzstoffe grundsätzlich geeignet erscheinende Netz- und Haftmittel mittels Angaben in Datenblättern und auf Basis von Erfahrungen ausgewählt und auf ihre Eignung hinsichtlich der Überlebensfähigkeit der *T. dendrolimi* in der Formulierung und der Mischbarkeit zu einer homogenen Flüssigkeit, die eine gleichmäßige Ausbringung gewährleisten soll, überprüft. Die nach derzeitigem Stand als geeignet erscheinende Formulierung wurde gemeinsam mit TV 1 in einem bislang einmaligen Freilandversuch eingesetzt und erwies sich bei noch deutlichem Bedarf an Weiterentwicklungen als grundsätzlich geeignet.

2. Bearbeitete Arbeitspakete des Teilvorhabens 2

2.1 Wahl einer Nützlingsart und Festlegung auf *T. dendrolimi*

Im Rahmen der durchgeführten Literaturrecherche wurde ermittelt, dass *Trichogramma brassicae* ebenfalls zur biologischen Bekämpfung von *D. pini* in Frage kommen könnte. Dies wurde unter Laborbedingungen überprüft. Da die Parasitierung nicht erfolgreich war, wurde auf weitere Versuche mit dieser Parasitoidenart verzichtet.

2.2 Aufbau einer *T. dendrolimi* Massenzucht

Die Zucht von *Trichogramma dendrolimi* für die Durchführung von Labor und Semi-Freilandversuchen wird seit Dezember 2019 praktiziert.

2.3 Untersuchung von *S. cerealella* auf Wirtseignung

Die Getreidemotte *Sitotroga cerealella* wird ganzjährig von BIOCARE vermehrt. Damit stehen fortlaufend *Sitotroga*-Eier zur Vermehrung von *Trichogramma dendrolimi* zur Verfügung.

2.4 Up-Scaling der Laborzucht von *T. dendrolimi* zur massenweisen Produktion

Eine massenweise Produktion von *Trichogramma dendrolimi* für Freilandversuche wurde in einem 14 wöchigen Zeitrahmen ausgebaut, indem bereits parasitierte *S. c.* Eier als Ausgangsmaterial für die aufbauende Zucht verwendet wurden. Die daraus geschlüpften Trichogrammen wurden unter bestimmten Zuchtbedingungen und unter Verwendung von Lichtreizen zu neuen Wirtseiern gelockt.

2.5 Mischung von *T. dendrolimi* mit verschiedenen Formulierungshilfsmitteln

Es wurden die erforderlichen Eigenschaften verschiedener Ausbringungsformen diskutiert und für flüssige Formulierungen marktübliche Zusatzstoffe recherchiert, die gemäß den Angaben aus Datenblättern für den beabsichtigten Anwendungszweck geeignet erschienen. Großer Wert wurde auf eine erhöhte Haftfähigkeit und Regenfestigkeit ausgebrachter Spritzbeläge gelegt.

In Laborversuchen wurde für verschiedene Flüssigformulierungen die Verträglichkeit gegenüber *Trichogramma dendrolimi* anhand der Schlupfraten und die Mischbarkeit in der Formulierung geprüft.

2.6 Klärung kritischer Rahmenbedingungen bei Freiland-Anwendungen

Zur Verbesserung des Ausbringungszeitpunkts von *T. dendrolimi* gegen den Zielwirt *D. pini*, wurden bis zum Ende des laufenden Projektes in Laborversuchen mit Klimaschränken typische Witterungsverhältnisse norddeutscher Kieferngebiete zur Eiphasen des Kiefernspinners simuliert. Hierbei sollte untersucht werden, in welchem Umfang die Entwicklungsdauer von 3-5 WT alten mit *T. dendrolimi* parasitierten *S. cerealella*-Eiern temperaturabhängig ist, und mit welchen Wartezeiten nach der Applikation unter den im Anwendungsgebiet bestehenden Witterungsbedingungen zu rechnen ist.

3. Wesentliche Ergebnisse des Teilvorhabens 2

3.1 Up-Scaling der Laborzucht von *T. dendrolimi* zur massenweisen Produktion

Die massenweise Produktion und Bereitstellung von *T. dendrolimi* für umfassende Freilandversuche und für eine spätere großflächige Anwendung als biologisches Bekämpfungsmittel wird als umsetzbar eingestuft.

3.2 Aufbau einer *T. dendrolimi* Massenzucht und Wirtseignung von *S. cerealella*

Trichogramma dendrolimi kann erfolgreich in großem Maßstab auf *Sitotroga cerealella* vermehrt werden und nach ersten Erkenntnissen bei 6°C bis zu 2,5 Wochen lagern.

3.3 Mischung von *T. dendrolimi* mit verschiedenen Formulierungshilfsmitteln

Nach umfassender Überprüfung sämtlicher Rahmenbedingungen und Ausbringungsmöglichkeiten stellte sich eine helikoptergestützte Applikation einer parasitoiden Flüssigformulierung für typische, von Kiefernspinnerbefall betroffene Kiefernwälder am geeignetsten heraus.

Nach Überprüfung verschiedener Anforderungen an eine Ausbringung von *T. dendrolimi* in einer Spritzflüssigkeit mittels diverser Laborversuche, bei der insbesondere die Mischbarkeit zu einer homogenen Flüssigkeit, die eine gleichmäßige Ausbringung gewährleisten soll und die Überlebensfähigkeit der *T. dendrolimi* in der Formulierung bewertet wurden, wurde für einen Semi-Freilandversuch eine Formulierung aus Squall® 0,5% + Xanthan 0,05% + Tween 80® 0,1% identifiziert.

Anfang des 2. Quartals 2022 wurde auf dem Freigelände der Helix-Fluggesellschaft mbH eine Formulierung aus Guarkernmehl (0,4%), Squall® (0,5%) und Tween® (0,1%) überprüft.

3.4 Klärung kritischer Rahmenbedingungen bei Freiland-Anwendungen

Es wurde eine kontinuierliche Zunahme der Entwicklungsdauer von *T. dendrolimi* mit sinkenden Temperaturen beobachtet. Bei kontinuierlichen Temperaturen von 13°C brauchten *T. dendrolimi*-Eier zwischen 19-26 Tagen bis zum Schlupf, während sie bei Tageshöchsttemperaturen von 24°C und Tagesminimumtemperaturen von 13°C lediglich 6-9 Tage bis zum Schlupf benötigten. Die Schlupfdauer unter Zuchtbedingungen betrug 4-6 Tage. Somit kann bei dauerhaft kühlen Temperaturen von einer 3-7-mal so langen Entwicklungsdauer ausgegangen werden wie unter Zuchtbedingungen. Da hier augenscheinlich außerdem die Vitalität der *T. dendrolimi* leidet, ist eine Ausbringung unter diesen Bedingungen nicht zu empfehlen. Nächtliche Minimumtemperaturen von 13°C bewirkten im Vergleich zu den Zuchtbedingungen eine Verzögerung des Schlupfes von 2-3 Tagen., wenn am Zweidritteln des Tages (16 Std.) eine Temperatur von 24°C herrschte.

Literaturverzeichnis

Apel, K.-H. (2000): Zum Regenerationsverhalten der Kiefer nach Insektenfraß. AFZ/Der Wald 55: 745-746.

Autorenkollektiv (1998): Zur Massenvermehrung des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini* L.) in Brandenburg 1989-1997. Teil I. – Sonderdruck der Landesforstanstalt Eberswalde. 123 pp.

Autorenkollektiv (1999): Zur Massenvermehrung des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini* L.) in Brandenburg 1989-1998. Teil II. – Sonderdruck der Landesforstanstalt Eberswalde. 168 pp.

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (Hrsg.) (2013): Bekanntmachung des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln. Bundesanzeiger B1 v. 15.05.2013, S. 1-40.

CABI (2018): *Trichogramma dendrolimi*. Datasheet. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/54705> (aufgerufen am 29.11.2021).

Choi, W. I.; Nam, Y.; Lee, C. Y.; Choi, B. K.; Shin, Y. J.; Lim, J.-H.; Koh, S.-H.; Park, Y.-S. Changes in Major Insect Pests of Pine Forests in Korea Over the Last 50 Years. *Forests* 2019, 10, 692. <https://doi.org/10.3390/f10080692>.

Dathe, H.; Taeger, H.; Blank, A. u. S. (Hrsg.) (2001): Entomofauna Germanica 4. Verzeichnis der Hautflügler Deutschlands. – Entomologische Nachrichten und Berichte. Beiheft 7: 1 – 180.

FNR Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (Hrsg.) (2022): Wichtige Forstschädlinge – erkennen, überwachen und bekämpfen. mediathek.fnr.de, Bestell-Nr. 1200, 1. Aufl., 141 S.

Glowacka-Pilot, B. Entomogenous bacteria and fungi occurring in caterpillars of the pine moth (*Dendrolimus pini* L.). Pr. IBL 1974, 427, 3–60.

Głowacka-Pilot, B., 1974. Entomogenous bacteria and fungi occurring in caterpillars of the pine moth (*Dendrolimus pini* L.). Pap. For. Res. Inst. 427, 3–60.

Gräber, J, Kätzel, R., Möller, K., Ziesche, T. (2012): Rückblick auf neun Jahrzehnte Gradationsverlauf der Kieferschadinsekten im Norddeutschen Tiefland. AFZ/Der Wald 67: 35-38.

Habermann, M., von Geibler, A. (2001): Regenerationsfähigkeit von Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) und Befall durch rindenbrütende Sekundärschädlinge nach Fraß der Nonne (*Lymantria monacha* L.). Forst u. Holz 56: 107-111.

Hentschel, R.; Möller, K.; Wenning, A.; Degenhardt, A. und Schröder, J. (2018): Importance of Ecological Variables in Explaining Population Dynamics of Three Important Pine Pest Insects. *Front. Plant Sci.*, Vol. 9: 1-17.

Hirose, Y. 1986: Biological and ecological comparison of *Trichogramma* and *Telenomus* as control agents of *lepidopterus* pests.

Hirose, Y.; Shiga, M.; Nagasuji, F. (1968): Interspecific relations among three hymenopterous egg parasites of the pine moth, *Dendrolimus spectabilis* Butler (Lepidoptera: Lasiocampidae) in the Japanese black pine forest. II. Spatial interspersions of the two egg parasites, *Trichogramma dendrolimi* and *Telenomus dendrolimi* in the pine crown. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 14 (3): 459-472.

- Hoch, G., Putz, J., & Krehan, H. (2017): Forstlicher Pflanzenschutz im globalen Wandel. *BFW-Praxisinformation*, 44, 10-13.
- Hyun, J. S. (1968): Studies on the prevision for occurrence of pine moth, *Dendrolimus spectabilis* Butler. *Ent. Res. Bull.*4, 57–80.
- Jahn, E. (1964): Zum Kieferspinnerauftreten 1962/63 im Steinfeld in Niederösterreich. *Zschr. Angew. Ent.* 54:108-118.
- Kojima, T. (1933): Studien zur Ökologie des Kiefernspinners, *Dendrolimus pini* L. *Zeitschr. angew. Entomologie*.
- Kratochwil, A.; Schwabe-Kratochwil, A. (2001): Ökologie der Lebensgemeinschaften. UTB Wissenschaft. 756 S.
- Lembcke, G., Knapp, E., & Dittmar, O. (1975): DDR-Kiefern-Ertragstafel. Institut für Forstwissenschaften Eberswalde, 81 S.
- Lenteren van, J.C. (Ed.) (2003): Quality Control and Production of Biological Control Agents. Wageningen University, 352 S.
- Lobdell, C. E., Yong, T. H., & Hoffmann, M. P. (2005): Host color preferences and short-range searching behavior of the egg parasitoid *Trichogramma ostrinae*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 116(2), 127-134.
- Majunke, C. (2000): Die Massenvermehrung des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini* L.) in Brandenburg – Analyse der Witterung in der Progradation. *Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent.* 12: 75-78.
- MLUL (2005): Der Kiefernspinner (*Dendrolimus pini*). Informationen für Waldbesitzer. Herausgeber: Ministerium für Ländliche Entwicklung, Umwelt und Verbraucherschutz des Landes Brandenburg und Landesforstanstalt Eberswalde. Eberswalde, 1. Aufl. https://forst.brandenburg.de/cms/media.php/lbm1.a.2324.de/fb_kiefsp.pdf. Zuletzt aktualisiert am 07.06.2022.
- Möller, K., Engelmann, A. (2007): Die aktuelle Massenvermehrung des Kiefernspinners, *Dendrolimus pini* (Lep., Lasiocampidae) in Brandenburg. *Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent.* 16: 243-246.
- Möller, K (2009): Aktuelle Waldschutzprobleme und Risikomanagement in Brandenburgs Wäldern. In: Spathelf P: Wald im Klimawandel : Risiken und Anpassungsstrategien. Potsdam: Ministerium für Infrastruktur und Landwirtschaft (MIL) des Landes Brandenburg, Eberswalder Forstliche Schriftenreihe 42: 63-72.
- Möller, K (2009): Eiparasitoide als natürliche Gegenspieler von KiefernSchädlingen: AFZ-DerWald 8: S. 396-399.
- Möller, K. (2011): David gegen Goliath – Wie winzige natürliche Gegenspieler der Forstschadinsekten wirken und Entscheidungen über Insektizideinsätze beeinflussen. Eberswalder Forstliche Schriftenreihe 47: 60-65.
- Möller, K. (2013): Waldschutz heute zwischen Anspruch, Möglichkeit und Grenzen. *Entwicklung und aktuelle Herausforderungen. proWald* 2, 4-8.

Möller K (2016): Der Kiefernspinner im NSG „Lieberoser Endmoräne“ – Waldschutz-Risiko-management mit Hindernissen. In: Spathelf P: Wissenstransfer in die Praxis-Tagungsband Eberswalder Winterkolloquium. Potsdam: Ministerium für Infrastruktur und Landwirtschaft (MIL) des Landes Brandenburg Eberswalder Forstliche Schriftenreihe, Bd. 62: 13-17.

Museum für Naturkunde (2000 -2004): Fauna europaea. <https://fauna-eu.org/> abgerufen am 08.06. 2022.

NW-FVA (2015): Bericht zur Massenvermehrung des Kiefernspinners im Bereich Prezelle-Gartow. Unveröffentlicht.

Orr, D. P. (1988): Scelionid wasps as biological control agents: a review. Florida Entomologist 71(4); S. 506-528.

Petercord, R. (2013): Ohne Waldschutz keine forstliche Nachhaltigkeit. in LWF Wissen 72: Wald und Nachhaltigkeit. Ber. Bayr. LWF, 34-38.

Schafellner, C. und Möller, K. (2018): "Blatt- und nadelfressende Insekten" in Störungsökologie, eds T. Wohlgemuth, A. Jentsch, und R. Seidl (Bern: Haupt Verlag (UTB)).

Skrzecz, I.; Slusarski, S.; Tkaczyk, M. (2020): Integration of science and practice for *Dendrolimus pini* (L.) management—A review with special reference to Central Europe. For. Ecol. Manag. 2020, 455, 117697.

Smith, S. M. (1996): Biological control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and potential of their use. Annu. Rev. Entomol. 41. 375-406.

Wang, Y. A.; Huang, J. L.; Pang, X. F (1988): Redescription of the antennae and forewings of *Trichogramma*. Jourbook: Colloques de l'inra 43: 125-131.

Weckwerth, W. (1952): Der Kiefernspinner und seine Feinde. Die Neue Brehmbücherei. Akademische Verlagsgesellschaft Geest Portig K.-G., Leipzig.

Wellenstein, G. (1934): Die biologische Bekämpfung der Forleule durch den Eiparasitoiden *Trichogramma minutum* Riley. Mitt. Forstwirt. u. Forstwiss. 1, 153-185.

Wu, J. W., Fang, H. L., Yang, M. D., Lian, Y. Y. (1988): Rearing technology of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura for controlling pine caterpillar (*Dendrolimus punctatus* Walker) and effect of releasing *Trichogramma* to control insect pest on a large scale for sixteen successive years in Zhejiang Province. Colloques de l'INRA, Nor. 43: 621-628.

Ziesche, T. M. (2015): Was steuert die Populationsdynamik der Kieferngrößschädlinge im Süden Brandenburgs im Klimawandel? Eberswalder Forstliche Schriftenreihe, Bd. 59: 79-87.