

**Endbericht zum Forschungsprojekt:
Entwicklung eines auf Blütendüften des
Steirischen Ölkürbis basierenden
Bekämpfungssystems gegen den Westlichen
Maiswurzelbohrer.**

Impressum

Projektnehmer: Paris Lodron-Universität Salzburg

Fachbereich: Biowissenschaften

Adresse: Hellbrunnerstraße 34, 5020 Salzburg

Projektleiterin: Univ-Prof. Dr. Stefan Dötterl

Tel.: +43 (0) 662 / 8044-5527

E-Mail: Stefan.Doetterl@plus.ac.at

Projektmitarbeiter: Martin Schlager MSc., Dr. Zsolt Karpati

Kooperationspartner: Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, 1220 Wien, Spargelfeldstrasse 191;

Mag. Katharina Wechselberger, Stephan Manhalter MSc.

Finanzierungsstelle: Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus, Stubenring 1, 1010 Wien

Projektlaufzeit: 3 Jahre

Dafne-Antragsnummer: 101368

Akronym: FlorAttDia

1. Auflage

Alle Rechte vorbehalten.



Salzburg, 2021. Stand: 30.11.2021

Endbericht zum Forschungsprojekt: Entwicklung eines auf Blütendüften des Steirischen Ölkürbis basierenden Bekämpfungssystems gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer.

Inhalt

1 Kurzzusammenfassung	1
1.1 Deutsch	1
1.2 English.....	2
2 Einleitung	3
3 Material und Methoden	5
3.1 Analyse der Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten sowie von synthetischen Mischungen.....	5
3.2 Zucht vom Westlichen Maiswurzelbohrer für elektrophysiologische Messungen und Verhaltensexperimente.....	7
3.3 Identifizierung von elektroantennographisch aktiven Substanzen beim Westlichen Maiswurzelbohrer	8
3.4 Herstellung von synthetischen Duftmischungen	9
3.4.1 Duftmischungen 2019.....	9
3.4.2 Duftmischungen 2020.....	11
3.5 Verhaltensexperimente mit dem Westlichen Maiswurzelbohrer	18
3.5.1 Laborexperimente	18
3.5.2 Feldexperimente 2019	21
3.5.3 Feldexperimente 2020	25
3.5.4 Feldexperimente 2021:	32
3.6 Bestimmung der Effizienz eines neu entwickelten „Attract-and-Kill“-Systems	35
3.6.1 Käferbefall an Maiswurzeln	38
3.7 Erhebung einer potenziellen Schädigung des „Attract-and-Kill“-Systems auf Nicht-Zielorganismen	41
4 Ergebnisse	43
4.1 Analyse der Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten	43
4.1.1 Blütenduftzusammensetzung.....	43
4.1.2 Anzahl Substanzen	47
4.1.3 Absolute Duftmenge.....	48

4.2 Elektroantennographisch aktive Kürbisblütendüfte beim Westlichen Maiswurzelbohrer	49
4.3 Attraktivität von synthetischen Blütenduftmischungen auf den Westlichen Maiswurzelbohrer	50
4.3.1 Laborexperimente	50
4.3.2 Feldexperimente 2019	51
4.3.3 Feldexperimente 2020	55
4.3.4 Feldexperimente 2021:	67
4.4 Effizienz des neu entwickelten „Attract-and-Kill“-Systems bei der Reduzierung des Westlichen Maiswurzelbohrers	70
4.4.1 Käferbefall an Maiswurzeln	70
4.4.2 Auswertung der SPLAT® Freilandversuche.....	71
4.5 Drohnenapplikation.....	74
4.6 Schadwirkung des „Attract-and-Kill“-Systems auf Nicht-Zielorganismen	76
5 Zusammenfassung, Diskussion und Ausblick	79
Literatur.....	83

1 Kurzzusammenfassung

1.1 Deutsch

Die Blüten des Steirischen Ölkürbis sind sehr attraktiv für Weibchen und Männchen des Westlichen Maiswurzelbohrers. Ziel des Forschungsprojektes war es, die Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten zu identifizieren, ein für Österreich neuartiges Köderfallensystem mit einem Lockmittel auf Basis von Ölkürbisblütendüften gegen adulte Westliche-Maiswurzelbohrer (WMB) zu entwickeln, und dieses auf seine Praxistauglichkeit zu testen. Unsere Messungen zeigten 40 Duftstoffe im Blütenduftprofil der fünf gängigsten Anbausorten des Ölkürbisses. Durch elektrophysiologische Messungen mit im Labor gezüchteten Käfern konnten wir 16 im Kürbisduft enthaltene Substanzen ermitteln, die von den Käfern wahrgenommen werden können. Von diesen Substanzen und einer weiteren potenziell aktiven Substanz wurden synthetische Mischungen hergestellt und im Labor sowie Feld auf die Attraktivität gegenüber WMB getestet. Eine Spurenkomponente im Blütenduft des Ölkürbis [(E)-p-Methoxyzimtaldehyd] stellte sich als Schlüsselkomponente bei der Anlockung von WMB heraus. Fallen auf einer Höhe von 1,5 m lockten deutlich mehr Käfer an als bodennah angebrachte Fallen. Versuche zur Überprüfung der effektiven Reichweite der Lockstoffe ergeben, dass die Lockmittel in einem Abstand von wenigen Metern zueinander im Maisfeld ausgebracht werden sollten. Auf zwei Feldern haben wir mit Kürbisblütendüften und einem organischen Insektizid versehene Spezialköder (SPLAT®) ausgebracht und den Effekt der Applikation auf den Käferbestand analysiert. Die Käferdichte war in behandelten Flächen von jener der Kontrollflächen nicht signifikant unterschiedlich. Obwohl scheinbar angelockt, haben die Käfer an der SPLAT®-Masse nicht gefressen, was abschließende Laborexperimente zeigten. Die potenzielle Schädlichkeit der Spezialköder auf Nicht-Zielorganismen wurde am Beispiel von Schwebfliegen und Honigbienen getestet. Es zeigte sich, dass die Tiere das SPLAT® nur innerhalb der ersten 30 min nach Ausbringung aufnehmen können und ein späterer Kontakt mit SPLAT® keinen Einfluss auf die Sterblichkeit der Nicht-Zielorganismen hat. Weitere Anpassungen in der Rezeptur des SPLAT®-Ködersystems sind notwendig, sodass die angelockten Käfer das Insektizid wie beabsichtigt aufnehmen. Die Ausbringung des Spezialköders mittels Drohnen konnte erfolgreich von unserem Kooperationspartner ISCA Technologies in den USA etabliert werden.

1.2 English

Flowers of the Styrian oil pumpkin are highly attractive to both sexes of the Western corn rootworm. In this study, we aimed to identify the floral volatiles released by various oil pumpkin breeds, to develop a new Attract-and-Kill pest management system for the Western corn rootworm in Austria and apply it in the field. We identified 40 scent compounds in headspace samples collected from flowers of five oil pumpkin breeds. Of these, 16 elicited electroantennographic responses in lab-reared beetles. These substances and one other potentially active compound have been tested in different mixtures for their attractiveness to the beetles in lab and field conditions. We were able to identify one minor scent compound, (*E*)-*p*-Methoxycinnamaldehyde, as key molecule in the attraction of the beetles. Traps positioned at a height of 1.5 m attracted more beetles than traps positioned close to the ground. Experiments on the effective attraction distance of the lure showed that the lure should be positioned close to each other (few meter) to attract as many beetles as possible. On two fields we applied the Attract and Kill setup, combining the attractive scent compounds, an organic insecticide and a carrier matrix called SPLAT[®], and studied the efficacy in reducing the beetle population. The treatment was not effective, and subsequent analyses in the lab revealed that the beetles, though likely attracted, did not feed on SPLAT[®], and thus, did not get in contact with the insecticide. We also tested for an effect of the SPLAT[®] formulation on non-target insects, i.e. honeybees and a species of syrphid fly. Our results showed that the the lure only reduced the lifespan when taken up within the first 30min after application. Further adaptations to the attract-and-kill setup and especially to the SPLAT[®] formulation are needed, with the aim that attracted beetles feed on the formulation and take up the insecticide as intended. Finally, our collaborators of ISCA Tec. in the US were successful in implementing a drone application for SPLAT[®].

2 Einleitung

Für europäische Landwirte erlangen alternative Methoden zur Schädlingsbekämpfung eine immer größere Bedeutung, da innerhalb der EU die Anzahl der zugelassenen chemisch-synthetischen Pestizide drastisch reduziert wird (EUROPÄISCHE KOMMISSION 2013). Die Schaffung stabiler Bedingungen bei der landwirtschaftlichen Produktion, einschließlich integrierter Strategien zur Schädlingsbekämpfung auf Grundlage wirtschaftlicher Schwellenwerte, ist für die wirtschaftliche Integrität des österreichischen Agrarsektors unerlässlich. Bisher wurde meist versucht, dieses Ziel durch den Einsatz möglichst umweltschonender Insektizide zu erreichen, die für nicht-Zielorganismen und vor allem für Nützlinge unbedenklich sein sollen. Da viele Wirkstoffe bei Insekten jedoch eine hohe Wirkungsbreite aufweisen, wird im vorliegenden Projekt ein neues Pflanzenschutzsystem angestrebt. Wir zielen darauf ab, durch Kombination von einer Trägersubstanz (SPLAT®, Specialized Pheromone and Lure Application Technology), organischem Wirkstoff (Spinosad) und schädlingsangepassten Lockstoffen ein Attract-and-Kill-System mit selektiver Wirksamkeit zu erzielen. Dieses System soll es den Landwirten ermöglichen, ihren Pestizideinsatz sowie den technischen Aufwand zu senken, da das SPLAT® ohne dem Einsatz von Stelzentraktoren mittels Drohne appliziert werden soll. Der Westliche Maiswurzelbohrer (WMB) eignet sich durch seine Bindung an Maispflanzen und der flächendeckenden Befallssituation besonders gut zur Etablierung eines solchen Fallensystems. Dieser Blattkäfer zählt in Österreich zu den wirtschaftlich bedeutendsten Schädlingen in Maiskulturen (ROSNER et al. 2006). Bisher hat sich die Forschung zur Entwicklung von Bekämpfungsstrategien gegen den WMB in Österreich vor allem auf die Larven konzentriert (ZOTTELE et al. 2021, BENJAMIN et al. 2018, BRANSON et al. 1969, MODIC et al. 2018). Der Inhalt der vorliegenden Studie bezieht sich hingegen auf die Bekämpfung der adulten Käfer. In mehreren Regionen Österreichs sind Mais und der Steirische Ölkürbis (*Cucurbita pepo pepo* var. *styriaca*) die führenden Kulturpflanzen. Die Blüten des Steirischen Ölkürbis sind ein Magnet für erwachsene männliche und weibliche Käfer, welche oft von Mais- in Kürbisfelder wandern. Aufgrund seiner Attraktivität für den Maiswurzelbohrer können dann beim Ölkürbis bis zu über 50 Käfer (eig. Beobachtungen) in einer einzigen Blüte gefunden werden. Die Käfer nutzen das Blütengewebe und den Pollen als Energiequelle und die Weibchen legen im Schnitt 30% ihrer Eier in den Kürbisflächen ab (FOLTIN et ROBIER 2012). Die Wirksamkeit der Fruchtfolge wird so vor allem in kleinstrukturierten Ackerbaugebieten deutlich herabgesetzt. Studien in den USA haben bereits einige Blütenduftkomponenten in für Nordamerika typischen Kürbisarten oder -sorten (*Cucurbita pepo texana*, *C. maxima*) identifiziert, welche Weibchen wie Männchen der dort vorkommenden *Diabrotica*-Arten mehr oder weniger stark anlocken (z.B. ANDERSEN et METCALF 1986). Am stärksten lockwirksam für den Westlichen Maiswurzelbohrer war (*E*)-*p*-

Methoxyzimtaldehyd, welches chemisch strukturell typischen Kürbisdüften ähnelt, jedoch nicht als Naturstoff in Kürbisgewächsen bekannt war. Interessanterweise fanden wir in Voruntersuchungen am steirischen Ölkürbis eine hohe Anzahl anderer Verbindungen als die Kollegen in den USA. Es ist davon auszugehen, dass die Blütendüfte des steirischen Ölkürbis für WMB in Österreich attraktiver sind als die Düfte anderer bisher verwendeter Kürbissorten/-arten. Ziel dieser Studie ist es also, die für WMB attraktiven Düfte des steirischen Ölkürbis zu identifizieren und sie als Lockstoffe für ein neuartiges Ködersystem zu verwenden.

Zur Entwicklung dieses Pflanzenschutzsystems wurden fünf Themenkomplexe bearbeitet:

1. Identifizierung der Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten
2. Identifizierung von elektroantennographisch aktiven Blütenduftsubstanzen beim Westlichen Maiswurzelbohrer
3. Verhaltenstests mit dem Westlichen Maiswurzelbohrer im Labor zur Identifizierung von verhaltensaktiven Substanzen
4. Feldexperimente zur Überprüfung der Attraktivität von Kürbisduftmischungen, auch im Vergleich zur einer kommerziellen Kairomonmischung, für den Westlichen Maiswurzelbohrer
5. Bestimmung der Effizienz eines auf Kürbisblütendüften basierenden „Attract-and-Kill“-Systems und Auswirkungen auf die Lebensdauer von nicht-Zielorganismen; Erprobung zur Ausbringung von SPLAT® mittels Drohne

3 Material und Methoden

3.1 Analyse der Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten sowie von synthetischen Mischungen

Anfang 2019 wurden im Gewächshaus der Paris Lodron-Universität Salzburg Ölkürbisse der Sorten Classic, Gleisdorfer, Inka, Rustika sowie Venus angebaut, um Pflanzenmaterial zum Sammeln der Blütendüfte ab April zur Verfügung zu haben. Diese fünf Sorten sind wirtschaftlich in Österreich am bedeutendsten. Pro Sorte wurden die Düfte mittels dynamischer Gasraumanalyse (GFRERER et al. 2021) von 6 Individuen gesammelt. Pro Individuum wurde eine weibliche sowie eine männliche Blüte beprobt. Um Blütendüfte von Kontaminationen oder vegetativen Düften unterscheiden zu können, dienten von Blättern gesammelte Duftproben als Negativkontrollen. Die Düfte wurden zum Zeitpunkt der größten Blütenduftemission zwischen 06:00 und 08:00 morgens gesammelt. Dazu wurde eine einzelne Blüte oder ein Blatt in einen Bratschlauch (ca. 20 x 12 cm, Toppits®) verpackt, aus welchem anschließend mittels einer Membranpumpe (G12/01 EB, Rietschle Thomas Inc., Puchheim, Deutschland) und eines Durchflussreglers (Abbildung 1) die mit Blütendüften angereicherte Luft für 4 min bei einer Durchflussrate von 200 ml/min gesaugt wurde. Die herausgesaugte Luft wurde durch eine Duftfalle (Länge: 2,5 cm), bestückt mit den Adsorbentien Tenax TA und Carbotrap B (jeweils 1,5 mg), geleitet (Abbildung 1), an denen die emittierten Duftstoffe gebunden wurden.

Duftproben wurden auch von 2019 und 2020 hergestellten synthetischen Duftmischungen (siehe 3.4) gesammelt, um diese in ihren relativen Anteilen an den Kürbisblütenduft anzupassen. Als Referenz diente das Duftmuster der Sorte Venus, da dieses im Gegensatz zu anderen Sorten mehr Substanzen abgab (siehe 4.1). Dazu wurden je 10 µl der in Aceton gelösten Versuchsmischungen auf gereinigte (mit Aceton gewaschen und bei 110°C für eine Stunde ausgeheizt) Filterpapiere (¼ Rundfilter von Hartenstein 3hw, Rückhaltegrad 8-12 µm, Dicke ca. 0,14 mm) aufgetragen. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde das Filterpapier in einem Bratschlauch (6 cm x 6 cm, Toppits®) verpackt, aus welchem anschließend wie bei der Beprobung der Kürbisblüten die Proben gewonnen wurden. Allerdings betrug die Saugdauer nur 2 min. Durch die unterschiedlich hohen Abdampfzeiten der einzelnen Duftstoffe und der Komplexität der Gesamtmischungen mit 8 (Duftmischung 2019) beziehungsweise 17 (Duftmischung 2020) Substanzen musste dieser Vorgang 3 beziehungsweise elf Mal wiederholt werden, um zufriedenstellende Ergebnisse (Duftmischung 2020, siehe Abbildung 35) zu erhalten.

Die Duftfallen mit den gebundenen Substanzen wurden in einem Thermodesorptionssystem desorbiert (TD-20, Shimadzu, Japan), welches an einem Gaschromatographen mit Massenspektrometer gekoppelt war (GC/MS-QP2010 Ultra, ausgestattet mit einer Phenomenex Silizium-Säule ZB-5, Ø 0,25 mm, Filmdicke: 0,25 µm, Länge: 60 m). Die desorbierten Proben wurden bei einem Splitverhältnis von 1:1 und einem konstanten Heliumfluss von 1,5 ml/min ins System eingebracht. Die GC-Ofentemperatur betrug am Anfang 40 °C und erhöhte sich anschließend um 6 °C/min bis zur Endtemperatur von 250 °C. Diese wurde für 1 min gehalten. Das Verbindungsstück zwischen GC und MS wurde auf 250 °C geheizt. Die Massenspektren wurden bei einer Spannung von 70 eV (m/z 30-350) aufgenommen. Zur Auswertung wurde die Software GCMSolution Version 2.72 (Shimadzu 2012) verwendet. Als Blütendüfte klassifiziert wurden Substanzen, welche nur in den Blütenduftproben und nicht in den Kontrollen vorhanden waren oder welche in fünffach höherer Menge in den Blütenproben vorkamen als in den Kontrollen.

Zusätzlich zu den oben genannten Duftproben wurden Proben mit langer Saugdauer (2-3 h) in größeren Duftfallen (Länge 8 cm; befüllt mit jeweils 15 mg der Adsorbentien) gesammelt (BRAUNSCHEID et al. 2017). Die gebundenen Duftstoffe wurden mit 70 µl Aceton von den Fallen eluiert (gelöst) und fanden bei den elektrophysiologischen Tests Verwendung (siehe 3.3).

Die Statistische Auswertung der Blütenduftdaten erfolgte mit zwei Programmen: PRIMER 6 (Version 6.1.15, Clarke et Gorley 2006), inkl. PERMANOVA+ (Version 1.0.5, ANDERSON et al. 2008), sowie mit R Statistics (Version 3.5.2, www.r-project.org) und dem UI RStudio (Version 1.2.5019, RACINE 2012). 2-faktorielle-PERMANOVAs (10.000 Permutationen) wurden berechnet, um auf Unterschiede in der Gesamtduftmenge, der Anzahl der Substanzen (jeweils basierend auf Euklidischen Distanzen zwischen den Proben) sowie des relativen Duftmusters (basierend auf paarweisen Bray-Curtis Ähnlichkeiten) zwischen den Sorten sowie Geschlechtern zu testen. Da diese Tests keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern in der Gesamtduftmenge sowie der Anzahl der Substanzen ergaben, wurden für diese Parameter Sorteneffekte mittels Kruskal-Wallis-ANOVA und im Falle einer Signifikanz dem Dunn's-Test als post-hoc-Verfahren berechnet.

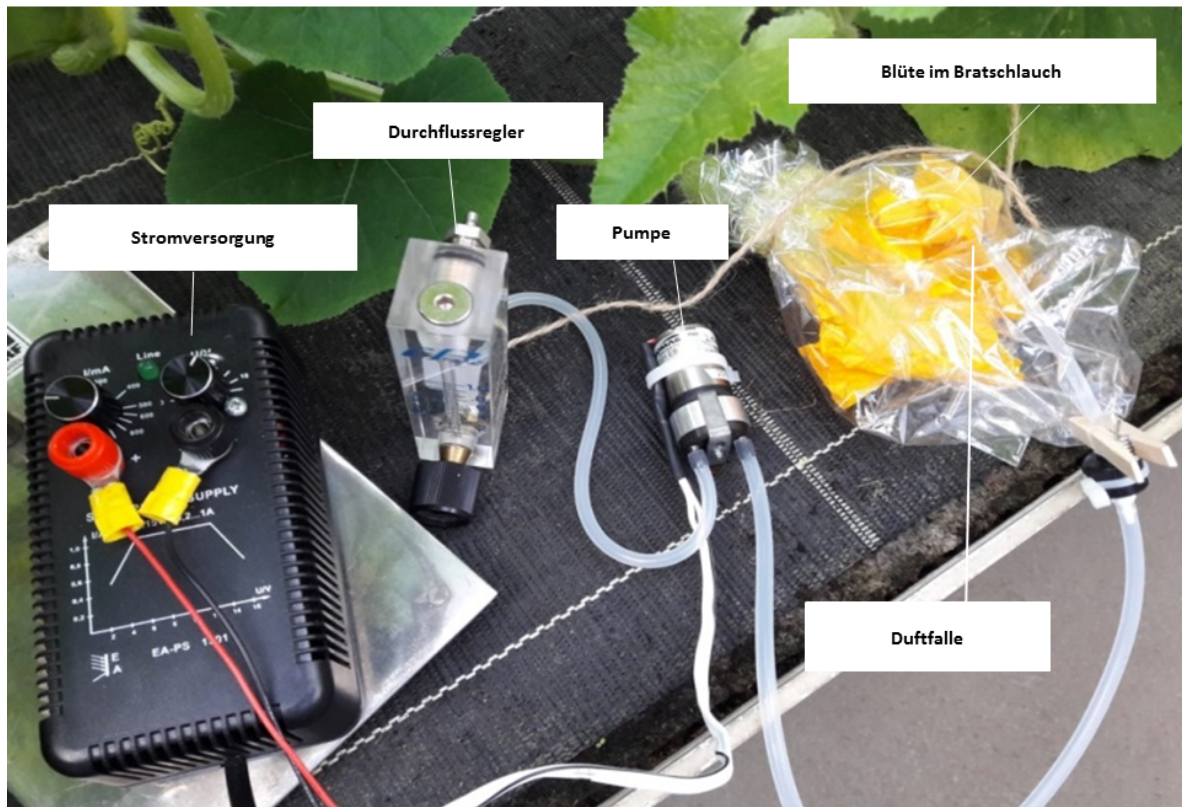


Abbildung 1: Überblick über den Versuchsaufbau und sammeln der Blütenduftproben

3.2 Zucht vom Westlichen Maiswurzelbohrer für elektrophysiologische Messungen und Verhaltensexperimente

Um für elektrophysiologischen Messungen und Verhaltensexperimente im Labor neue Käfer vor Schlupf der Imagos im Freiland zu haben, wurden in der AGES *Diabrotica*-Käfer in Netzkäfigen in Klimakammern gezüchtet. Am Anfang standen die Imagos der Vorgeneration. Diese wurden jeweils im Vorjahr ab der 26. Kalenderwoche im Freiland gefangen und anschließend in einer Klimakammer in mit Gaze bespannten Käfigen gehalten. Die Käfer wurden mit Hefe-Zuckerteig und jungen Maispflänzchen gefüttert. Zur Eiablage wurde den Käfern eine Erdsandmischung zur Verfügung gestellt, die regelmäßig befeuchtet wurde. Die Idealbedingungen für die Haltung der Käfer sind 25 °C tagsüber und eine Nachtabenkung auf 15 °C bei Langtagbedingungen (16 Stunden Licht). Durch tägliches Besprühen der Käfige wurde sichergestellt, dass die Käfer ausreichend Wasser aufnehmen. Die Population wurde während der Saison regelmäßig durch Fänge im Freiland aufgefrischt. Jeden Monat wurde die Erde in den Käfigen durch frische Erde ersetzt. Die Erde, in die Eier abgelegt wurden, wurde zusammengemischt und homogenisiert, bevor erhoben wurde, wie viele Eier abgelegt wurden. Dazu wurden 6 Stichproben zu je 5 g genommen in einem 250 µm Sieb aufgeschwemmt und die Eier unter Zuhilfenahme eines Binokulars gezählt. Das Ergebnis wurde auf die Gesamtmenge

hochgerechnet. Die Eier-Erde Mischung wurde dann bei 5 °C eingelagert, um die Diapause zu beenden. Nach fünf bis sieben Monaten wurde die Eier-Erde Mischung bei 25 °C inkubiert. Etwa 17 Tage später schlüpfen die Larven. Ab diesem Zeitpunkt wurden Maiskeimlinge in die Kiste verpflanzt, damit die Wurzeln als Larvenfutter dienen können. Drei Wochen später wurde die Kiste mit der Eier-Erde Mischung in einen Käfig gesetzt. Geschlüpfte Imagos wurden ab dem Zeitpunkt regelmäßig in die Hauptkäfige übertragen. Die Käfer wurden anschließend für Versuche im Labor an den Projektpartner Paris Lodron-Universität Salzburg weitergegeben. Zuweilen wurden auch Käfer aus Freilandfängen direkt für Laborversuche gesammelt und nach Salzburg versandt. Vor dem Versand der Käfer wurden diese in Glasröhrchen vereinzelt, um die Geschlechtszuordnung vornehmen zu können. Dafür wurde das vorvorletzte Tarsenglied der Mittel- und Vorderbeine im Präparationsmikroskop betrachtet. Bei Männchen ist hier an der Ventralseite jeweils ein weißer ovaler Fleck aus besonders geformten Hafthaaren zu sehen (HAMMAK et FRENCH 2007). Der Versand der Käfer erfolgte jeweils nach Geschlecht getrennt in Transportboxen mit Zellstoff und Maisblättern.

3.3 Identifizierung von elektroantennographisch aktiven Substanzen beim Westlichen Maiswurzelbohrer

Elektrophysiologische Messungen (Gaschromatographie gekoppelt mit Elektroantennographie; GC-EAD; siehe LUKAS et al 2020) wurden 2019 und 2020 durchgeführt, um zu eruieren, welche der Blütenduftstoffe der Ölkürbisse vom WMB wahrgenommen werden. Nur physiologisch aktive Substanzen können bei der Anlockung eine Rolle spielen. EAD-aktive Stoffe lösen eine Potentialänderung in den antennalen Duftsinnzellen aus, welche auf unserem Gerät als negativer Ausschlag aufgezeichnet wird (Abbildung 2). Das GC-EAD System bestand aus einem Gaschromatographen (Agilent 7890A, Santa Clara, California, USA) mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) und einem EAD-Aufbau (geheizte Transferröhre; 2-Kanal USB-Verstärker, IDAC) der Firma Syntech (Kirchzarten, Deutschland). Es wurde 1 µl der synthetischen Proben (Injektortemperatur: 250 °C) bei 40 °C Ofentemperatur injiziert. Das Splitventil öffnete nach 30 Sekunden und der Ofen heizte bei einer Rate von 10 °C/min auf 220 °C. Für die Analysen wurde eine MEGA-DEX Säule (DMT Beta SE, Ø 0,25 mm, Filmdicke: 0,23 µm, Länge 30 m) verwendet, wobei die Durchflussrate des Trägergases (Wasserstoff) auf 3 ml/min eingestellt war. Die Säule wurde am Ende durch einen „µFlowsplitter“ (Gerstel, Mülheim, Deutschland) in zwei deaktivierte Kapillaren geteilt. Eine führte zum FID (2 m x 0,15 µm), die andere zum EAD (1 m x 0,2 µm). Zur Erhöhung des Gasdruckes wurde in die Splitvorrichtung 25 ml Stickstoff pro Minute geleitet. Der EAD-Ausgang mündete in einem gereinigten und befeuchteten Luftstrom, welcher eine elektrisch verkabelte Käferantenne umströmte (Abbildung 2). Es wurden für 59 Messungen die Antennen von weiblichen als auch

männlichen WMB an der Basis und der Spitze abgeschnitten und zwischen gläsernen Mikropipetten-Elektroden (gefüllt mit Insekten-Ringerlösung: 8,0 g/l NaCl; 0,4 g/l KCl; 0,4 g/l CaCl₂) gespannt. Dünne Silberdrähte dienten als Elektroden.

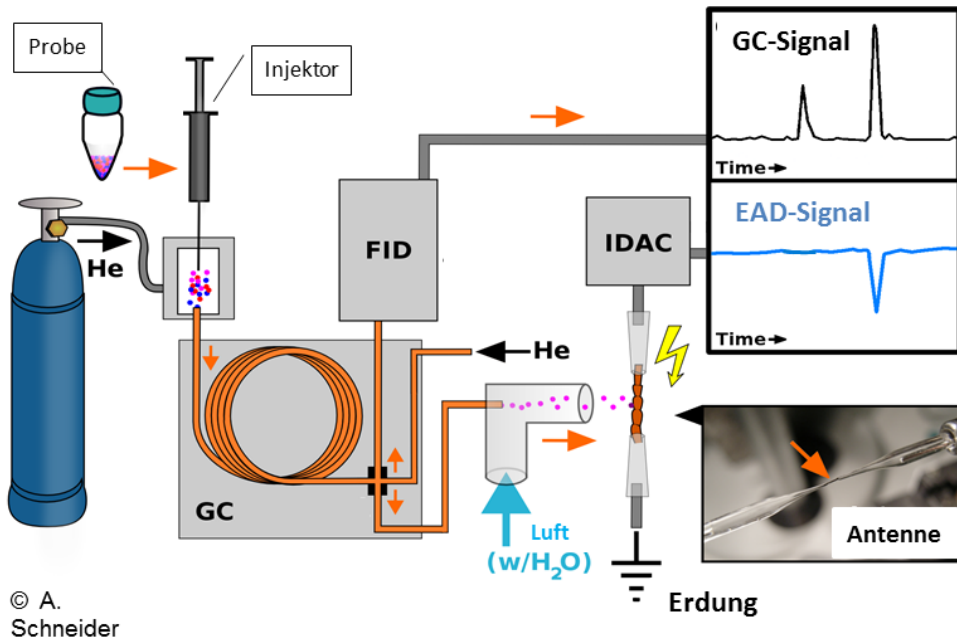


Abbildung 2: Aufbau einer GC/EAD-Anlage (Gaschromatographie gekoppelt mit Elektroantennographie). He: Helium; FID: Flammenionisationsdetektor; IDAC: Verstärker; Time: Zeit.

3.4 Herstellung von synthetischen Duftmischungen

3.4.1 Duftmischungen 2019

Anhand der Ergebnisse aus den GC-EAD Experimenten 2019 wurden acht Substanzen zur Herstellung der Lockmischungen verwendet (Tabelle 1). Die Dosierung der Einzelsubstanzen (Verhältnisse), wurde in Annäherung an den natürlichen Kürbisduft (Ergebnisse Duftanalyse Sorte Venus) gewählt (siehe 4.1). Getestet wurde diese Mischung in einem starken sowie einen 10-fach mit Aceton verdünnten Ansatz. Als Lösungsmittel wurde Aceton verwendet (Tabelle 1). Neben dieser Kürbisduftmischung wurde für die Feldversuche zusätzlich eine sogenannte „Ungarnmischung“ als Vergleich verwendet (Tabelle 2). Diese Mischung wird von Kollegen in Ungarn kommerziell vertrieben und in Europa zur Anlockung vom WMB verwendet (TÓTH et al. 2003). Die Mischungen wurden für ein Laborexperiment (siehe 3.5.1) sowie zwei verschiedene Feldexperimente verwendet (siehe 3.5.2), welche jeweils 2019 durchgeführt wurden sowie für ein Feldexperiment im Jahr 2020 (siehe 3.5.3, Experiment 5_2020).

Tabelle 1: Zusammensetzung der im Labor getesteten Kürbisduft-Lockmischung 2019. Aceton diente als Lösungsmittel.

Substanz	Konzentration	Menge (μl)	Relativer Anteil
Phenylacetonitril	10^{-3}	100	0,96 %
4-Vinylanisol	10^{-3}	100	0,96 %
1,4-Dimethoxybenzol	10^{-1}	100	96,62 %
1,2,4-Trimethoxybenzol	10^{-2}	10	0,96 %
Linalool	10^{-4}	200	0,19 %
Benzaldehyd	10^{-4}	100	0,10 %
(<i>E</i>)- β -Ocimen	10^{-4}	100	0,10 %
4-Oxoisophoron	10^{-4}	100	0,10 %

Tabelle 2: Herstellung und Mischungsverhältnisse der einzelnen Substanzen in der Ungarnmischung (50g hergestellt) sowie der starken Kürbisduftmischung 2019 (ca. 100g hergestellt) für Freilandversuche.

	Substanz	Menge
	Indol	17,4 g
Ungarnmischung	(E)-p-Methoxyzimaldehyd	2,6 g
	Aceton	30 g

	Phenylacetonitril	400 mg
	4-Vinylanisol	400 mg
	1,4-Dimethoxybenzol	40 g
	1,2,4-Trimethoxybenzol	400 mg
Kürbismischung stark	Linalool	80 mg
	Benzaldehyd	40 mg
	(E)- β -Ocimen	40 mg
	4-Oxoisophoron	40 mg
	Aceton	60 g

3.4.2 Duftmischungen 2020

Basierend auf den elektrophysiologischen Messungen von 2020 wurde die Kürbisduftmischung von 2019 adaptiert und eine neue Mischung (Kürbisduftmischung 2020) hergestellt. Diese Mischung enthielt 17 Verbindungen und wurde sowohl komplett (siehe „Kürbis“ in Tabelle 3) als auch in unvollständigen Mischungen (Tabelle 3) 2020 im Feld getestet. Auch Einzelsubstanzen wurden getestet (Tabelle 5). Neben den Kürbisduftmischungen wurde 2020 auch die Ungarnmischung hergestellt sowie Indol verwendet (siehe „UMix“ in Tabelle 3), eine Substanz der Ungarnmischung, welche nicht vom Ölkürbis abgegeben wird. Als Lösungsmittel wurde immer Aceton verwendet. Insgesamt wurden die Stoffe beziehungsweise Stoffmischungen für vier verschiedene Experimente verwendet (Experiment 1_2020 bis Experiment 4_2020; siehe 3.5.3), bei denen bis zu 12 verschiedene Gemische gleichzeitig getestet wurden. Für das Experiment 1_2020 wurden acht verschiedene Düfte/Duftmischungen verwendet, um die Auswirkung von Indol und (E)-p-Methoxyzimaldehyd (pMZA) im Zusammenspiel mit kompletten und unvollständigen Kürbisblütenduftmischungen auf ihre Lockwirkung für den WMB testen zu können (Tabelle 3). Um zu testen, welche Bedeutung verschiedene Stoffklassen

(Terpene, methoxylierte Aromaten, nicht methoxylierte Aromaten, Phenylpropanoide, und stickstoffhaltige Substanzen) auf die Lockwirkung und auf ihr Verstärkungspotenzial in Kombination mit der Ungarnmischung haben, sowie die Relevanz von der Hauptkomponente des Kürbisduftes (1,4-Dimethoxybenzol) zu klären (Experiment 2_2020), wurden 12 verschiedene Düfte/Duftmischungen verwendet (Tabelle 4). Neun verschiedene Mischungen wurden hergestellt (Tabelle 5), um einzelne Kürbisblütenduftsubstanzen auf ihre Lockwirkung testen zu können und einen Vergleich zur vollständigen Kürbisduftmischung herzustellen (Experiment 3_2020). Fünf verschiedene Düfte/Mischungen wurden für das Experiment 4_2020 verwendet (Tabelle 6), um den Einfluss von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd sowie der weiteren Phenylpropanoide (*E*)-Zimtaldehyd und (*E*)-Zimtalkohol auf die Lockwirkung der vollständigen Kürbismischung zu ermitteln. Die Tests zur Ermittlung der optimalen Fallenhöhe verwendeten die starke Kürbislockmischung aus 2019 (Tabelle 2). Zur Überprüfung der Reichweite der Kürbisblütendüfte, wurde (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd (stärkste im Feld getestete Konzentration) verwendet. Für die Effizienztests der „Attract-and-Kill“-Methode mit SPLAT® wurde die Lockmischung von 2019 (Tabelle 1) weiterentwickelt, indem der Duftstoff Benzaldehyd als Kontamination identifiziert und weggelassen wurde und (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd als neuer Stoff inkludiert wurde (Tabelle 7).

Tabelle 3: Mischtablette für 10 ml pro Lockstoff, verwendet in Experiment 1_2020 (siehe 3.5.3); Mengenangaben in µl; Kürzel der Lockstoffmischungen: Ac: Aceton/Negativkontrolle, DMB: 1,4-Dimethoxybenzol, DMB+pMZA: 1,4-Dimethoxybenzol mit (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, DMB+pMZA+1/2: 1,4-Dimethoxybenzol mit (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd und erster Hälfte der weiteren Kürbisblütenduftsubstanzen, DMB+pMZA+2/2: 1,4-Dimethoxybenzol mit (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd und zweiter Hälfte der Kürbisblütenduftsubstanzen, Umix: ungarische Lockmischung, Kürbis: vollständige Kürbisblütenduftmischung 2020, Kürbis + Indol: vollständige Kürbisblütenduftmischung 2020 mit gleicher Menge Indol

Substanzname	Ac	DMB	DMB + pMZA	DMB + pMZA + 1/2	DMB + pMZA + 2/2	Umix	Kürbis	Kürbis+Indol
Benzylalkohol				3			3	2
Linalool				28			28	14
2-Phenylethanol				35			35	17
Phenylacetonitril				139			139	69
4-Oxoisophoron				3			3	2
1,4-Dimethoxybenzol		3474	3474	3474	3467		3474	1737
(<i>E</i>)-Linalooloxid pyranoid				17	17		17	9
<i>p</i> -Anisaldehyd				35			35	17
(<i>E</i>)-Zimtaldehyd				35			35	17
<i>p</i> -Anisylalkohol					693		695	347
(<i>E</i>)-Zimtalkohol					1734		1737	868
3,4-Dimethoxystyrol					7		7	3
1,2,4-Trimethoxybenzol					139		139	69
Benzyltiglat					69		70	35
(<i>E</i>)- <i>p</i> -Methoxyzimtaldehyd			2779	2779	2774	607	2779	1389
4-Hydroxy-3-methoxyzimtaldehyd					69		70	35
Benzylbenzoat					69		70	35
Indol						4060		4667
Aceton	10000	6527	3748	3453	960	5333	667	667

Tabelle 4: Mischtablette für 10 ml pro Lockstoff, verwendet in Experiment 2_2020 (siehe 3.5.3); Mengenangaben in µl; Kürzel der Lockstoffmischungen: Ac: Aceton/Negativkontrolle, Kürbisblütendüfte in Stoffgruppen: Terp: Terpene, MA: methoxylierte Aromaten, N_MA: nicht methoxylierte Aromaten, PhPr: Phenylpropanoide, S_Sub: stickstoffhaltige Substanzen, U_Mix: ungarische Lockmischung, Kürbis ohne DMB: vollständige Kürbisblütenduftmischung 2020 ohne 1,4-Dimethoxybenzol, Kürbis: vollständige Kürbismischung 2020

Substanzname	Ac	Terp	MA	N_MA	PhPr	N_MA + PhPr	S_Sub	U_Mix	U_Mix + N_MA	U_Mix + PhPr	Kürbis ohne DMB	Kürbis
Benzylalkohol				3		3			2		3	3
Linalool		24									24	24
2-Phenylethanol				30		30			15		30	30
Phenylacetonitril							119				119	119
4-Oxoisophoron		3									3	3
1,4-Dimethoxybenzol			2978									2978
(E)-Linalooloxid pyranoid		15									15	15
p-Anisaldehyd			30								30	30
(E)-Zimtaldehyd					30	30				15	30	30
p-Anisylalkohol			595								595	595
(E)-Zimtalkohol					1489	1489				744	1489	1489
3,4-Dimethoxystyrol											6	6
1,2,4-Trimethoxybenzol			119								119	119
Benzyltiglat				59		59			30		59	59

Substanzname	Ac	Terp	MA	N_MA	PhPr	N_MA + PhPr	S_Sub	Umix	Umix + N_MA	Umix + PhPr	Kürbis ohne DMB	Kürbis
(E)-p-Methoxyzimtaldehyd					2382	2382		520	520	1711	2382	2382
4-Hydroxy-3-methoxyzimtaldehyd											59	59
Benzylbenzoat				59		59			30		59	59
Indol							119	3480	3480	3480		
Aceton	10000	9958	6278	9849	6100	5948	9762	6000	5924	4050	4978	2000

Tabelle 5: Mischtablette für 10 ml pro Lockstoff, verwendet in Experiment 3_2020 (siehe 3.5.3); Mengenangaben in µl, Kürzel der Lockstoffmischungen: Ac: Aceton/Negativkontrolle, B-Alk: Benzylalkohol, B-Benzoat: Benzylbenzoat, B-Tiglat: Benzyltiglat, 2-PhOH: 2-Phenylethanol, pMZA: (E)-p-Methoxyzimtaldehyd, Z-Ald_ (E)-Zimtaldehyd, Z-OH: (E)-Zimtalkohol, Kürbis: vollständige Kürbisduftmischung 2020

Substanzname	Ac	B-Alk	B-Benzoat	B-Tiglat	2-PhOH	pMZA	Z-Ald	Z-OH	Kürbis
Benzylalkohol		3							3
Linalool									24
2-Phenylethanol					30				30
Phenylacetonitril									119
4-Oxoisophoron									3
1,4-Dimethoxybenzol									2978
(E)-Linalooloxid pyranoid									15
p-Anisaldehyd									30
(E)-Zimtaldehyd							30		30
p-Anisylalkohol									595
(E)-Zimtalkohol								1489	1489
3,4-Dimethoxystyrol									6
1,2,4-Trimethoxybenzol									119
Benzyltiglat				59					59
(E)-p-Methoxyzimtaldehyd						2382			2382
4-Hydroxy-3-methoxyzimtaldehyd									59
Benzylbenzoat			59						59
Aceton	10000	9997	9941	9941	9970	7618	9970	8511	2000

Tabelle 6: Mischtablette für 10 ml pro Lockstoff, verwendet in Experiment 4_2020 (siehe 3.5.3); Mengenangaben in µl, Kürzel der Lockstoffmischungen: Ac: Aceton/Negativkontrolle, ZOH+ZAld: (E)-Zimtalkohol + (E)-Zimtaldehyd, Kürbis ohne pMZA: Kürbisblütenduftmischung ohne (E)-p-Methoxyzimtaldehyd, Kürbis: vollständige Kürbisblütenduftmischung 2020

Substanzname	Ac	ZOH + ZAld	pMZA	Kürbis ohne pMZA	Kürbis
Benzylalkohol				3	3
Linalool				24	24
2-Phenylethanol				30	30
Phenylacetonitril				119	119
4-Oxoisophoron				3	3
1,4-Dimethoxybenzol				2978	2978
(E)-Linalooloxid pyranoid				15	15
p-Anisaldehyd				30	30
(E)-Zimtaldehyd		30		30	30
p-Anisylalkohol				595	595
(E)- Zimtalkohol		1489		1489	1489
3,4-Dimethoxystyrol				6	6
1,2,4-Trimethoxybenzol				119	119
Benzyltiglat				59	59
(E)-p-Methoxyzimtaldehyd			2382		2382
4-Hydroxy-3-methoxyzimtaldehyd				59	59
Benzylbenzoat				59	59
Aceton	10000	8481	7618	4382	2000

Tabelle 7: Mischtablette für die Zugabe von Substanzen zur SPLAT®-Masse, welche in den Experimenten zur Bestimmung der Effizienz des „Attract-and-Kill“-Systems verwendet wurde (siehe 3.6)

Substanzname	% in Mischung
Phenylacetonitril	0,91
4-Vinylanisol	0,91
1,4-Dimethoxybenzol	92,32
1,2,4-Trimethoxybenzol	0,91
Linalool	0,18
(E)- β -Ocimene	0,09
4-Oxosiophoron	0,09
(E)-p-Methoxyzimtaldehyd	4,57

3.5 Verhaltensexperimente mit dem Westlichen Maiswurzelbohrer

3.5.1 Laborexperimente

Laborexperimente zur Identifizierung verhaltensrelevanter Kürbisblütenduft-Komponenten 2019:

Mit den aus der Zucht bereitgestellten Käfern wurden in einem Tageslichtraum Verhaltensexperimente durchgeführt, um die Wirkung der 2019 identifizierten EAD-aktiven Blütenduftstoffe auf das Verhalten der Käfer zu testen. Das dafür vorgesehene Testdesign musste mehrfach abgeändert und angepasst werden, bis letztendlich reproduzierbare Ergebnisse erzielt wurden. Ein Zwei-Wahl-Test wurde in einem 30 x 30 cm großen Aerarium (Netzkäfig) durchgeführt (Abbildung 3). Es wurde eine VersuchSPLAT®tform aus Styropor in den Käfig gestellt, worauf sich in zwei gegenüberliegenden Ecken auf Draht gefädelt Filterpapier (Hartenstein Rundfilter, d = 9 cm, wurde geviertelt) befand. Das Filterpapier hatte keinen direkten Kontakt mit dem Styropor (Abbildung 3). Eines der Papiere diente als Kontrolle und wurde mit 10–20 μ l Aceton imprägniert. Auf das zweite Filterpapier wurde eine entsprechende Menge der Kürbisduftmischung 2019 (Tabelle 1) aufgetragen. Um das Filterpapier wurde ein Fangbereich ($\frac{1}{4}$ Kreis mit 3 cm Radius) definiert (Abbildung 4 und Abbildung 5). Ein Käfer wurde als angelockt klassifiziert, wenn er in den Fangbereich gelaufen oder geflogen ist. Sobald dieses Verhalten beobachtet wurde, wurde der entsprechende Käfer mittels Exhaustor gefangen, um zu vermeiden, dass ein bestimmter Käfer mehrmals als angelockt gezählt wird (Pseudo-replikation). Ein Test dauerte zwei Stunden, wobei nach einer Stunde die Plattform um 180° gedreht wurde, um einen Positionseffekt ausschließen zu können.

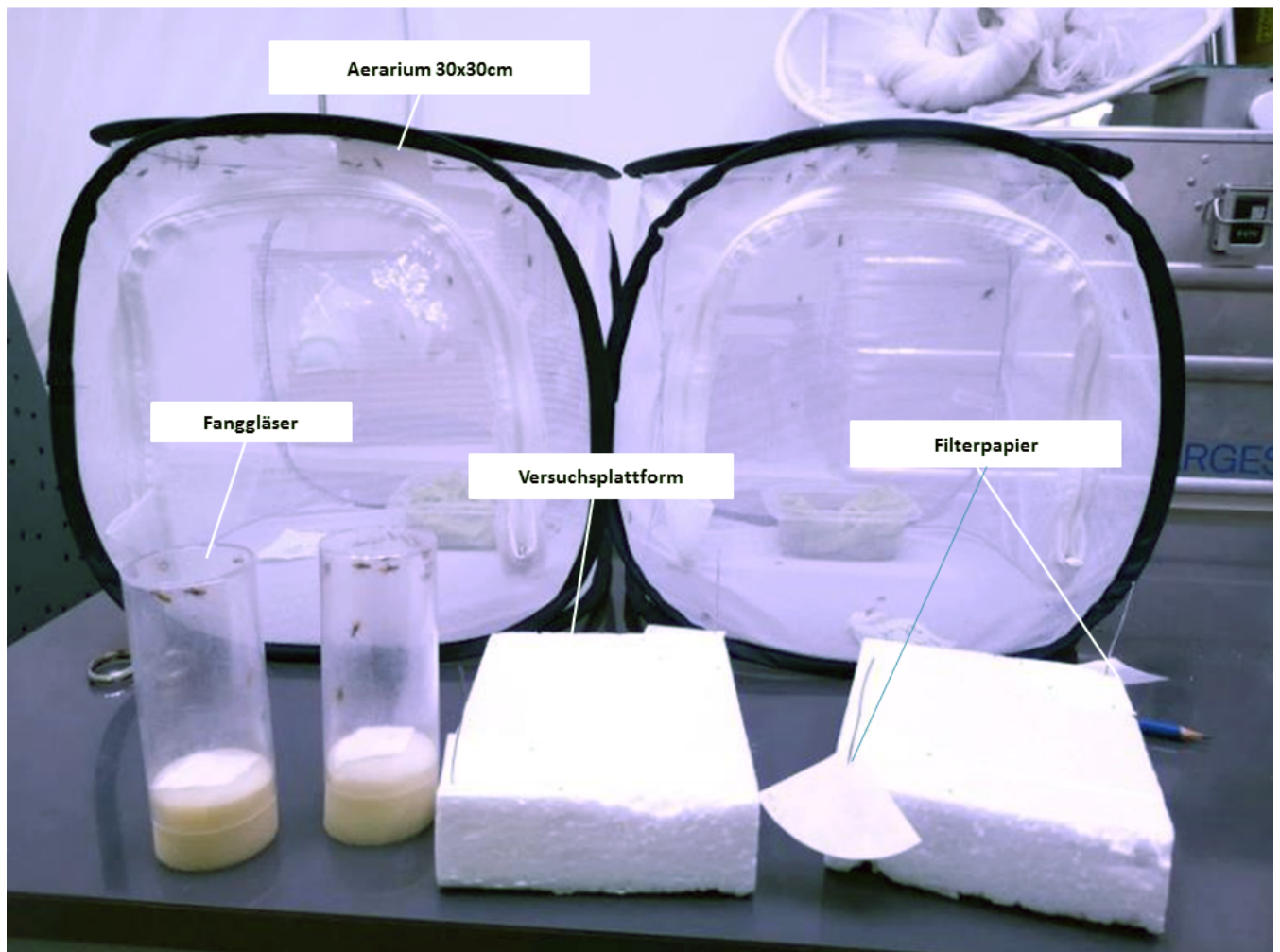


Abbildung 3: Verwendete Materialien bei den Verhaltensexperimenten

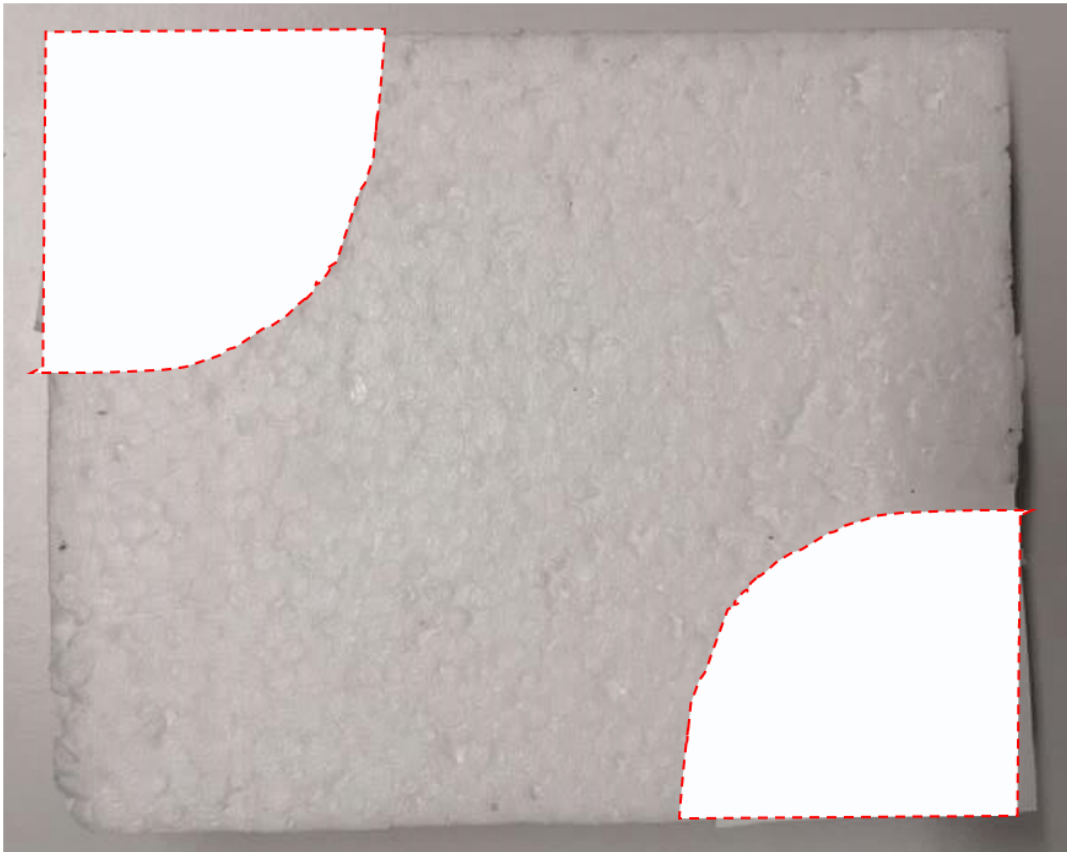


Abbildung 4: VersuchSPLAT®tform aus Styropor, mit den Filterpapieren. In rot ist der Fangbereich markiert.

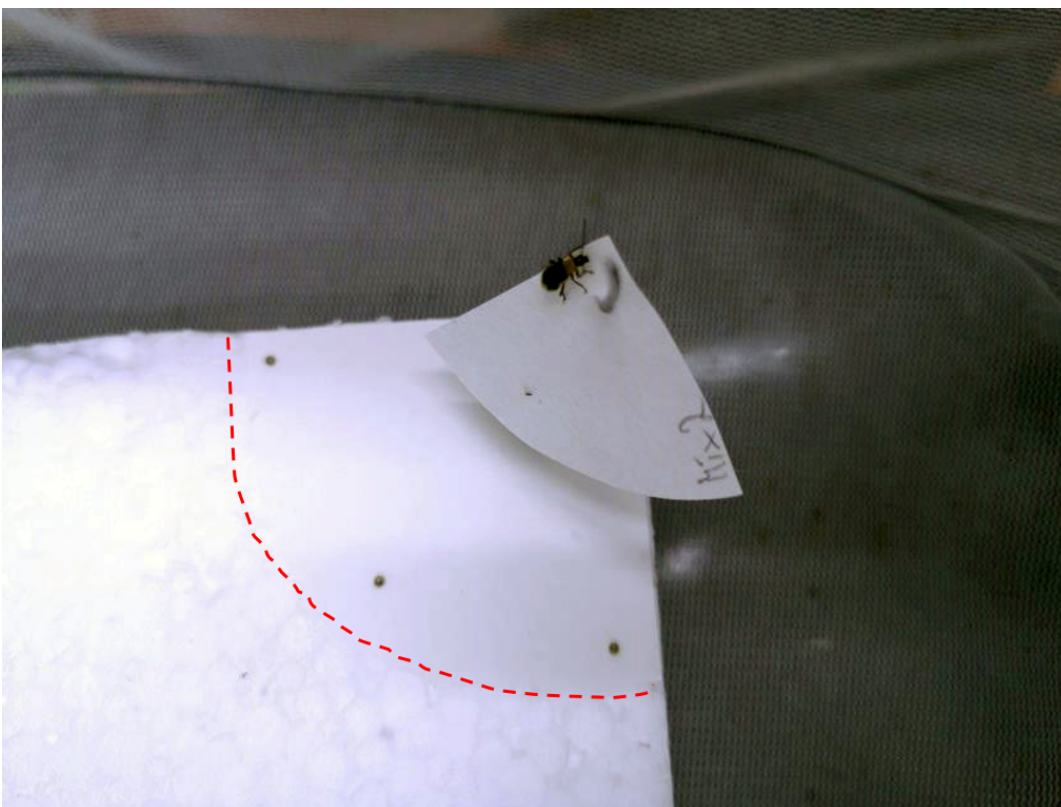


Abbildung 5: Ein von der Kürbisduftmischung angelocktes WMB Weibchen, in rot der Fangbereich.

Anlock- und Fraßversuche der WMB mit SPLAT®, unter Berücksichtigung von Cucurbitacin B:

Da in der SPLAT®-Mischung unserer Feldtests (siehe 3.6) kein Cucurbitacin (Fraßstimulanz) enthalten war, wurde im Labor auf einen möglichen Unterschied in der Lockwirkung beziehungsweise der Fraßaktivität getestet. Es wurde einer Mischung aus 200 ml SPLAT® und 914 mg (*E*)-p-Methoxyzimtaldehyd 0,3 % (lt. METCALF et LAMPMAN 1989) Cucurbitacin B zugesetzt. Die Tiere wurden für die Testläufe in Plastikbehälter (10 x 7 x 5 cm) überführt, worin eine erbsengroße Menge vom SPLAT®, entweder mit oder ohne Cucurbitacin B, auf einem Stück Alufolie platziert war. Die Tiere wurden in Kleingruppen von 5 bis 20 Tieren zugleich für mindestens 1h getestet. Nach 150 getesteten Käfern (100 mit, 50 ohne Cucurbitacin B) ohne positive Reaktion und ohne Fraß am SPLAT® (unabhängig davon ob Cucurbitacin B beigemischt war oder nicht), jedoch einer steten Reaktion mit Fraßaktivität innerhalb von 30min auf ein Gurkenstück als Positivkontrolle, wurde das Testdesign abgeändert. Ein Gurkenstück wurde mit Alufolie umwickelt, wobei eine kleine Öffnung frei gelassen wurde, sodass der Gurkenduft entweichen konnte, und außen mit SPLAT® bestrichen, sodass angelockte Käfer am SPLAT® zu fressen beginnen sollten. Mit diesem Design wurden 357 Käfer getestet.

3.5.2 Feldexperimente 2019

Überprüfung der Attraktivität der synthetischen Kürbisblütenduftmischung 2019 und zum Vergleich der Ungarnmischung unter Feldbedingungen 2019:

Experiment 1_2019:

Am 19. September 2019 um 10:00 wurde nahe Greiling (48°16'34.0"N, 15°37'56.1"O) das Experiment aufgebaut, der Abbau erfolgte am Folgetag. Es wurden vier verschiedene Duftgemische (Tabelle 1 und Tabelle 2), Aceton (ACE, Kontrolle), reduzierter Kürbismix (RED), starker Kürbismix (STR) und der Ungarische Mix (HUN), in fünf Replikaten und drei Szenarien (Zwischenstreifen, Kürbisfeld und Maisfeld) mit transparenten Leimfallen (16 x 10 cm) ausgebracht (Abbildung 6 und Abbildung 7). Die Einzelpositionen der Replikate in einem Szenario wurden für die gesamte Fläche randomisiert.

Der Ansatz „Zwischenstreifen“ wurde 50 m von der Straße entfernt und 3 m neben dem Maisfeld, als Linie im Kürbisfeld entlang dem Mais angelegt, um Käfer potenziell beim Verlassen des Maisfelds abzufangen. Der Ansatz im „Kürbisfeld“ wurde etwa 50 m von der Straße, mit 33 m Abstand vom Maisfeld als Rechteck (5 x 4) angelegt. Der Ansatz im „Maisfeld“ wurde etwa 30 m vom Kürbisfeld entfernt und etwa 50 m von der Straße entfernt in den längs gebauten Maisreihen angelegt. Der Abstand zwischen den Fallen im gleichen Ansatz war immer 10 m.

Die Fallen wurden im oberen Drittel der Maispflanzen aufgehängt, bzw. auf 1 m langen Pflöcken, ca. 90 cm über dem Boden montiert (Zwischenstreifen/Kürbis). 2 ml des Duftstoffes wurden auf einem Zahnarztwatteröllchen in einem perforierten Bratschlauch aufgebracht und über die Falle gebunden (Abbildung 7). Am Vormittag des nächsten Tages (20.09.2019) wurden die Fallen eingesammelt und die auf ihnen klebenden *Diabrotica*-Käfer, Honigbienen und Schwebfliegen gezählt. Zusätzlich wurden die Fallen fotografiert und in Frischhaltefolie für den Transport verpackt. Die Fangzahlen wurden mit Kruskal-Wallis-ANOVA und im Falle einer Signifikanz dem Dunn's-Test als post-hoc-Verfahren analysiert.

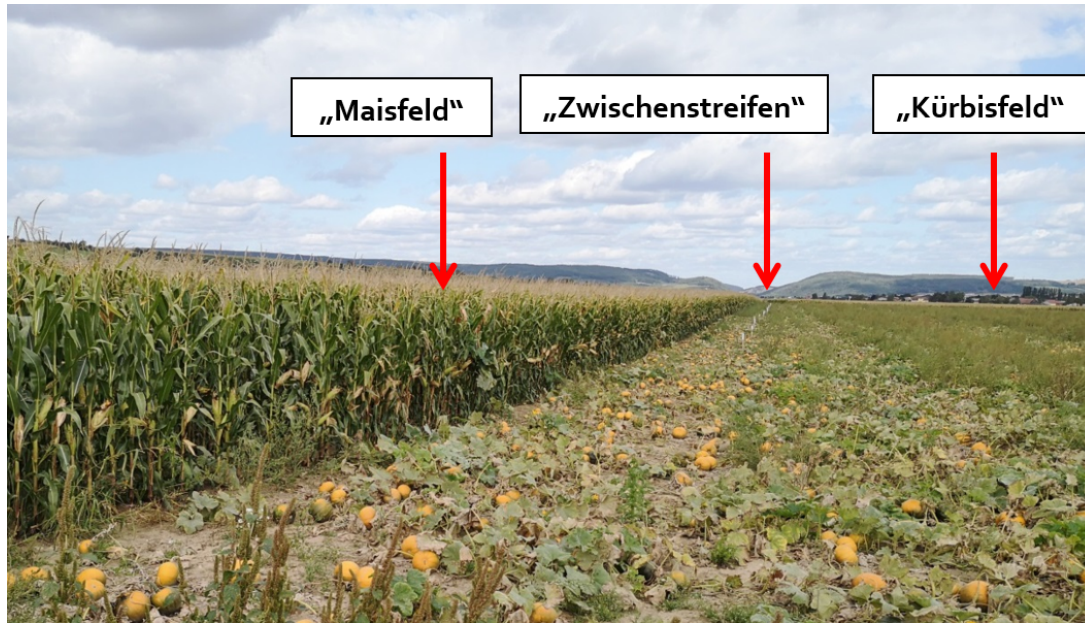


Abbildung 6: Lage der drei Testszenarien bei Experiment 1_2019.



Abbildung 7: Klebefallen mit Duftköder im Kürbisfeld, Experiment 1_2019.

Experiment 2_2019:

Noch am 20.09.2019 wurde ein weiteres Experiment gestartet, um die Attraktivität einer 1:1 Kombination aus starkem Kürbismix (STR) und Ungarnmix (HUN) gegenüber eines Ungarnmixes allein zu testen (Tabelle 2). Als Negativkontrolle diente wie zuvor Aceton (ACE). Die Fallen, diesmal etwas größere Gelbtafeln (Abbildung 8, 36 x 23 cm), wurden im Maisfeld aufgehängt und drei Tage später wieder eingesammelt und ausgezählt.



Abbildung 8: Gelbe Leimfalle im Maisfeld, Experiment 2_2019.

3.5.3 Feldexperimente 2020

Ziel der Feldexperimente 2020 war es unter anderem, die minimal notwendige Anzahl an Kürbissubstanzen zu bestimmen, die für eine maximale Lockwirkung ausreichend ist. Auf diese Weise sollen Stoffe, welche keinen relevanten Beitrag zur Anlockung leisten, exkludiert werden. Diese ursprünglich für das Labor geplanten Experimente wurden im Feld durchgeführt, da unsere 2019 durchgeführten Verhaltensexperimente zeigten, dass sie im Feld effektiver durchgeführt werden können als im Labor. Die Lockwirkung der Kürbisblütendüfte wurde auch mit der Ungarnmischung verglichen und auch wurde getestet, ob Indol, eine Substanz der Ungarnmischung, welche nicht vom Ölkürbis abgegeben wird, die Lockwirkung der Kürbisduftmischung erhöht. Um die Ziele zu erreichen, wurden insgesamt vier Experimente (Experiment 1_2020 bis Experiment 4_2020) in Maisfeldern im Zeitraum von 10. August bis 14. September 2020 an vier Standorten durchgeführt. Drei Felder befanden sich in Niederösterreich, eines in Bayern (Tabelle 8). Zudem wurde ein Experiment auf einem Maisfeld nahe des AGES-Geländes (48°15'25.7"N, 16°29'02.7"E) durchgeführt, um die geeignete Fallhöhe zu ermitteln (Experiment 5_2020)

Tabelle 8: Versuchsfelder für die Freilandversuche 2020 zur Ermittlung von für den Westlichen Maiswurzelbohrer attraktiven Substanzen

Feldname	Breitengrad (Nord)	Längengrad (Ost)
NÖ_Feld_1	48°15'53.2"N	15°39'17.1"O
NÖ_Feld_2	48°16'09.8"N	15°38'02.6"O
NÖ_Feld_3	48°15'28.9"N	15°37'25.6"O
Bayern_Feld_4	48°01'31.9"N	12°48'06.6"O

Aufbau der Fallen:

Um die Käfer zu fangen, haben wir PAL-Klebefallen (csalomontraps.com, Abbildung 9) in verschiedenen Ausführungen (transparent, gelb, ganze oder halbe Klebetafeln) verwendet, worauf die Käfer nach erfolgreicher Anlockung kleben blieben. Die Fallen wurden im oberen Drittel der Maispflanzen auf einer Höhe von 1,5 m angebracht. Größe und Farbe, sowie Aushangdauer unterschied sich bei manchen Experimenten (siehe Beschreibung der einzelnen Experimente). Direkt an der Oberkante der Klebetafeln wurden die Lockmischungen angebracht. Dazu wurden pro Falle 1-2 ml (siehe Experimentbeschreibung) der Duftmischung auf vorgereinigte Zahnarztwatte (gewaschen in Aceton & mind. 2 h bei 100 °C ausgeheizt) pipettiert. Die Watteröllchen ($\varnothing = 10$ mm) wurden in einen perforierten Bratschlauch (Toppits®, ca. 10 x 10 cm) gegeben, welcher mit Gartendraht auf den Fallen fixiert wurde. Zur Vermeidung von Kontaminationen wurden für jede Mischungsvariante eigene Einweg-Pasteurpipetten verwendet. Abschließend wurden die Maispflanze und die Klebetafel mit Kreppband und einem zugehörigen Code markiert. Die Fallen mitsamt den gefangenen Tieren wurden beim Abhängen in Frischhaltefolie gewickelt und anschließend bis zur Auswertung tiefgefroren.

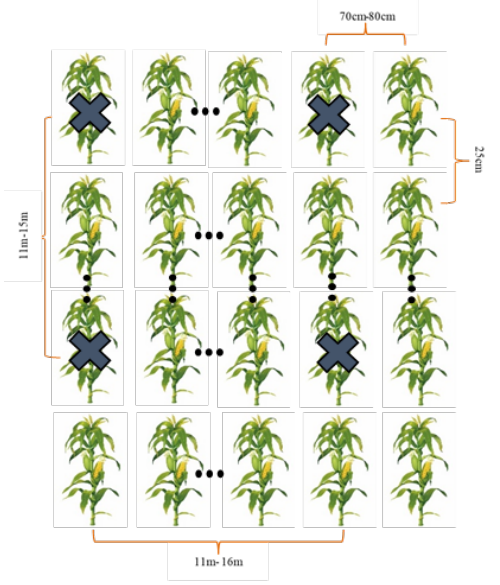



Abbildung 9: Transparente PAL-Klebefalle mit Lockstoffköder (Watteröllchen in Bratschlauch) und Fallenmarkierung mit Lockstoffbezeichnung.

Anordnung der Fallen:

Beim Säen der Maiskultur entsteht ein Reihensystem (Abbildung 10), welches ca. 25 cm Abstand von Pflanze zu Pflanze innerhalb einer Reihe, sowie zwischen 70-80 cm zwischen den Reihen misst. Wir haben dementsprechend unseren Versuchsaufbau entworfen. Zur besseren Orientierung im Maisfeld wurde vor der Montage der Fallen ein Querband (Abbildung 11) montiert, welches den Beginn einer Versuchsreihe markierte.

In jedem der Experimente wurden die verschiedenen Lockmischungen in einem lateinischen Quadrat organisiert (jede Lockstoffmischung nur 1x pro Zeile und Spalte). Bei einem Versuchsaufbau, wo eine höhere Anzahl an Replikaten als Lockmischungen geplant war, wurde ein Teil-lateinisches Quadrat berechnet. Dabei wurde zur Anordnung jeder zusätzlichen Wiederholung nur mehr N-2 Reihen als Referenz herangezogen (N: Anzahl an Lockstoffen) und nicht mehr alle vorhergehenden Reihen, da sich sonst das Muster der ersten Reihe wiederholt hätte. Die Abstände zwischen den Klebefallen variierte innerhalb (11-15 m) und zwischen Reihen (11-16 m) aus Platzgründen (siehe Experimentbeschreibungen).

	
<p>Abbildung 10: Versuchsdesign der Freilandexperimente 2020 im Maisfeld. Der Abstand der Klebefallen (Kreuz) betrug innerhalb einer Reihe zwischen 11m und 15m und zwischen den Reihen 11-16m. Die generellen Abstände der Pflanzen durch Aussaat war 25cm innerhalb einer Reihe und 70-80cm zwischen den Reihen.</p>	<p>Abbildung 11: Querband zur besseren Orientierung im Maisfeld und zur Markierung des Beginns einer Versuchsreihe.</p>

Auswertung der Fallen:

Zur Auszählung der Käfer wurde ein hochauflösendes Foto der Falle erstellt (Abbildung 12, Kamera: Nikon D5100, Objektiv: AF-S Nikkor 18-55 mm), in die Bildanalysesoftware ImageJ eingelesen und dort mit einem Zählwerkzeug manuell ausgezählt. Zur Auswertung der Geschlechterverhältnisse wurden die Fallen auf ein Raster (Abbildung 13) gelegt, welches die Klebefläche in 12 Quadranten mit je 8 x 9 cm einteilt. Bei den halben Tafeln war das Raster dementsprechend auch halb so groß (12 Quadranten, je 4 x 4,5 cm). Befanden sich mehr als 30 Käfer auf einer Falle, wurden 20 Käfer aus vier zufällig gewählten Quadranten (je 5 Individuen/Quadrant) entnommen und das Geschlecht bestimmt. Hatte ein Quadrant weniger als 5 Käfer, wurden die restlichen Käfer aus den anderen bereits ausgewählten Quadranten entnommen, beziehungsweise zufällig ein neuer Quadrant bestimmt. Bei 30 Käfern oder weniger pro Falle wurden alle entnommen und das Geschlecht bestimmt. Als geschlechtsspezifisches Merkmal diente das erste Tarsenglied, welches bei Männchen eine plane Fläche aufweist und bei Weibchen kegelig-konisch ist (Abbildung 14), und unter einer Stereolupe (Abbildung 15) erkannt werden kann. Das bestimmte Geschlechterverhältnis diente auch dazu, die Anzahl pro Falle gefangener Weibchen, welche für die Populationsentwicklung von besonderer Relevanz sind, zu schätzen. Unterschiede in der Anzahl der von den verschiedenen Lockmischungen pro Experiment angelockten Käfer wurden in der Statistiksoftware R-Statistics (Version 3.6.1) und dem UI RStudio (Version 1.3.959) mit einer Kruskal-Wallis-ANOVA ausgewertet, und bei einem signifikanten Ergebnis mit einem nicht parametrischen, paarweisen Tukey-Test als post-hoc Verfahren analysiert.



Abbildung 12: Kamera auf Dreibein zum Fotografieren der Klebefallen mit gefangenen WMB

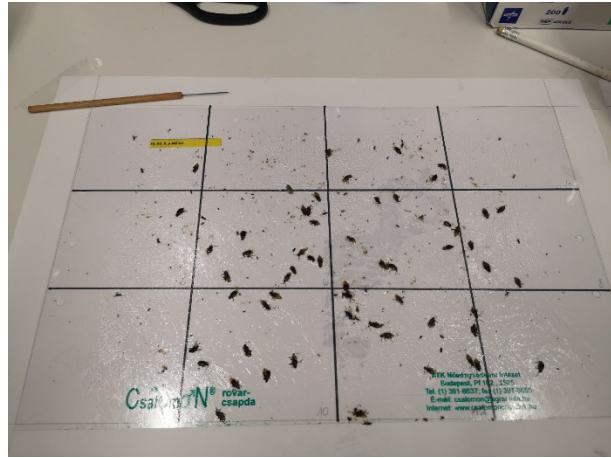


Abbildung 13: Klebefalle mit gefangenen WMB und Auszählungsraster mit 12 Quadranten

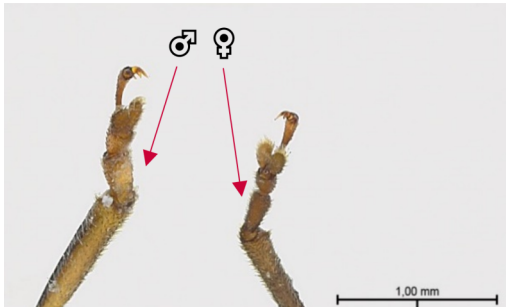


Abbildung 14: Tarsenglieder eines männlichen WMB mit einem abgeflachten ersten Glied (links) und eines weiblichen WMB mit konischem Glied (rechts)

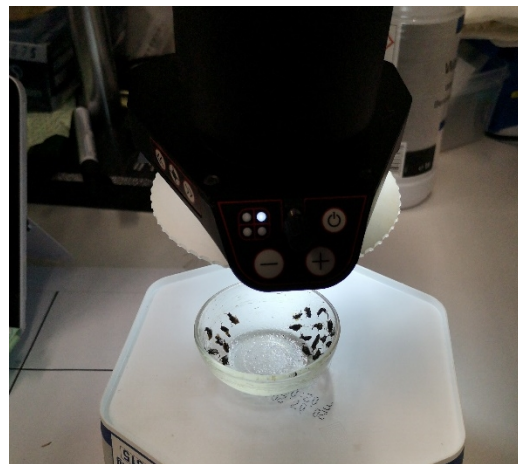


Abbildung 15: Stereolupe mit nach Geschlecht getrennten WMB in einer Glasschale

Beschreibung der einzelnen Experimente:

Experiment 1_2020:

Dieser Versuch fand auf drei Feldern in der Nähe von Großhain (Abbildung 16, NÖ_Feld_1 - Feld_3), vom 10. August bis 14. August 2020 statt und verwendete Gelbtafeln als Fallen. Das Aufhängen der Fallen nahm zwei Tage in Anspruch. Die Klebetafeln wurden in einem Abstand von 15 m innerhalb einer Reihe und 16 m zwischen den Reihen angebracht. Es wurden acht verschiedene Duftmischungen (Tabelle 3) mit je 10 Replikaten pro Feld getestet (Fangzahlen über die Felder aufsummiert). Von den unterschiedlichen Lockstoffmischungen wurde 1 ml auf die Watte pipettiert, mit Ausnahme der 1:1 Kürbisduft-Indol-Mischung (Kürbis + Indol), und des Ungarnmixes (UMix) wovon insgesamt 2 ml aufpipettiert wurden, um zu testen, ob Indol die Attraktivität der Kürbismischung erhöht, sowie den Vergleich zur bereits kommerziell erhältlichen Ungarnmischung zu haben. Durch einen Pipettierfehler bei der Herstellung der Lockmischungen wurde Linalooloxid pyranoid neben DMB+pMZA+1/2 auch in DMB+pMZA+2/2 pipettiert (Tabelle 3). Bei diesem Experiment wurden die Geschlechterverhältnisse von einem der drei Felder ausgezählt und scheinen in den hier verwendeten und über die Felder aufsummierten Fangzahlen nicht auf.

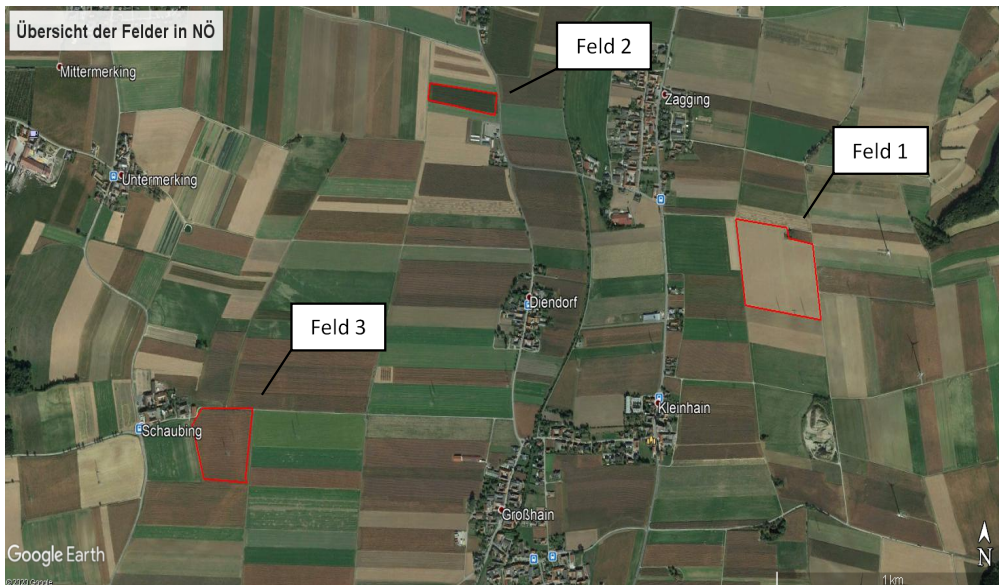


Abbildung 16: Satellitenbildübersicht (Google Earth 2020) über die drei Versuchsfelder in Niederösterreich im Experiment 1_2020

Experiment 2_2020:

Auch dieser Versuch fand auf einem Feld in der Nähe von Großhain statt, auf NÖ_Feld_1 und vom 28. August bis 31. August 2020. Halbierete und transparente Klebetafeln wurden in einem Abstand von 11 m innerhalb einer Reihe und 11 m zwischen den Reihen aufgehängt. Es wurden zwölf verschiedene Duftmischungen (Tabelle 4) mit je 10 Replikaten getestet. Von den unterschiedlichen Lockstoffmischungen wurde 1 ml auf die Watte pipettiert, mit Ausnahme der Mischungen: Umix, Umix + N_MA und Umix + PhPr, wovon 2 ml aufpipettiert wurden, um zu testen, ob gewisse Kürbisblütenduftstoffe die Lockwirkung der Ungarnmischung erhöhen.

Experiment 3_2020:

Entsprechend dem Experiment 2, fand auch dieser Versuch in der Nähe von Großhain auf NÖ_Feld_1 statt, vom 31. August bis 04. September 2020. Transparente Klebetafeln wurden in einem Abstand von 11 m innerhalb einer Reihe und 11 m zwischen den Reihen aufgehängt. Es wurden neun verschiedene Duftmischungen (Tabelle 5) mit je 10 Replikaten pro Feld getestet, wobei je 1 ml der Mischungen auf die Watte pipettiert wurde.

Experiment 4_2020:

Dieser Versuch fand in einem Feld in der Nähe von Pietling (Bayern_Feld_4) vom 08. September bis 15. September 2020 statt. Transparenten Klebetafeln wurden in einem Abstand von 11 m innerhalb einer Reihe und 11 m zwischen den Reihen aufgehängt. Es wurden fünf verschiedene Duftmischungen (Tabelle 6) mit je 10 Replikaten pro Feld getestet und davon 1 ml auf die Watte pipettiert. Aufgrund vieler Nullwerte bei der Auszählung dieses Experimentes, haben wir auf die Analyse des Geschlechterverhältnisses und der extrapolierten Anzahl an Weibchen verzichtet.

Experiment 5_2020:

Um die Applikationshöhe und damit die Ausbringoptionen für einen Attract-and-Kill Ansatz besser einschätzen zu können, wurden vom 28. August bis 7. September 2020 in einem mit Maiswurzelbohrern befallenen Maisfeld (Wien 1220, 48°15'25,7"N, 16°29'02,7"O) Fallen für WMB aufgehängt. Jeweils 10 PAL Gelbtafeln wurden 10 cm vom Boden entfernt bzw. in ca. 150 cm Höhe wie Manschetten an Maispflanzen aufgehängt und mit einem Lockstoffsäckchen bestückt (1 ml Ungarnmix + 1 ml starker Kürbisblütenduft 2019; Tabelle 2). Die Fallenhöhe eines bestimmten Lockstoffsäckchens wurde nach Zufallsprinzip bestimmt und manuell zwischen den Feldhälften in N/S und O/W Richtung ausbalanciert. Der Abstand zwischen einzelnen Fallen betrug in der Reihe ca. 10 m, zwischen den Reihen aber nur 5 Reihen (ca. 4 m), da das Feld relativ klein war.

3.5.4 Feldexperimente 2021:

Versuche zur Überprüfung der Reichweite des Kürbisduftgemisches 2021

Zur Überprüfung der Reichweite von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd als Schlüsselkomponente (stärkste im Feld getestete Konzentration) wurden drei Wiederfangversuche mit markierten *Diabrotica*-Käfern 2021 durchgeführt. Einer auf einem Sojafeld nahe Großnondorf (Distanzversuch 1), die anderen in einem Maisfeld bei Wien (Distanzversuche 2 und 3).

Distanzversuch 1:

Für diesen Versuch wurden ca. 600 Käfer bei Bad Radkersburg gefangen und bei Langtagbedingung gehalten (16 h Tag, 14 h davon bei 25 °C, Rest bei 20 °C, 70% rH). Die Käfer wurden anhand der Basitarsi nach Geschlechtern getrennt (HAMMACK and FRENCH 2007). Je geplanter Distanz wurden jeweils 25 Männchen und Weibchen bei 5 °C mit 1-2 mm dicken Glanz-Lackmalern (Edding 751) mit unterschiedlichen Farben am Halsschild markiert und zusammen bis zum Versuch am darauffolgenden Tag in kleineren Aerarien gehalten (30 x 30 x 30 cm, Bioform).

Für den Versuch selbst wurde ein Schlag gewählt, bei dem der Einfluss von Mais bzw. Kürbis aufgrund der Distanz zu diesen Kulturen möglichst gering sein sollte. Die Durchführung des Versuchs erfolgte auf einem Sojafeld in Großnondorf, in einem Abstand zum Feldrand von etwa 50 m (48°38'34,5"N, 16°00'40,7"O). Die Klebeflächen der Klebetafeln wurden fast nördlich, in Richtung der Reihen ausgerichtet. An diesem Punkt betrug der Abstand zum nächsten Maisfeld ca. 140-150 m Luftlinie und der Wind kam zum Zeitpunkt der Aufstellung aus Süden (26.7.2021, 10 Uhr; ca. 0,5 m/s). Die Falle bestand aus vier transparenten PAL Klebetafeln, die im Hochformat an ein Gerüst aus Metallstangen

und Kunststoffstangen befestigt wurden. Windmesser und Duftstoff (1 ml 17,11 % (E)-p-Metoxyzimtaldehyd in Aceton; siehe Abbildung 17) wurden in ca. 140 cm Höhe mittig zwischen den Klebetafeln angebracht. Anschließend wurden Richtung Süden, entlang der Reihe, im Abstand von 5 m (weiß), 10 m (rosa), 20 m (blau), 50 m (grün) und 100 m (gold) zur Falle, schwarze Kunststoffteller auf Bestandeshöhe aufgestellt. Auf diesen wurden kurz vor 11 Uhr die Aerarien mit je 50 markierten und flugfähigen Käfern (je 25 Männchen und Weibchen) aufgestellt und nach oben hin geöffnet. Bereits nach etwa 15 min waren die Aerarien leer und die Teller wurden wieder abgebaut.

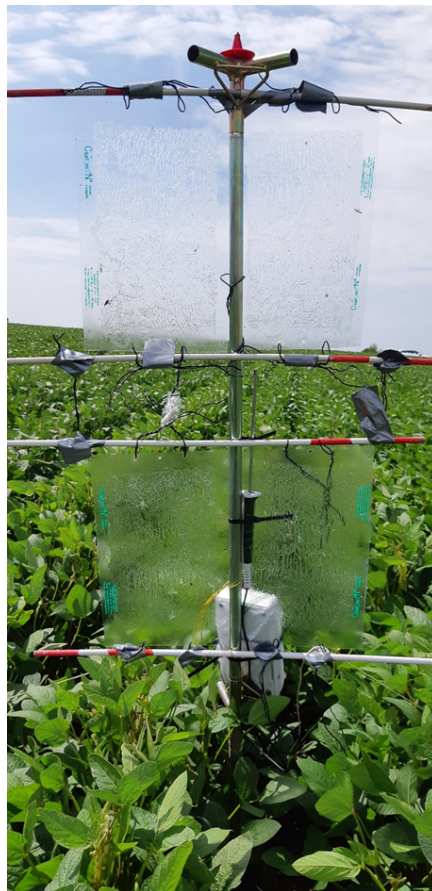


Abbildung 17: Falle im Sojafeld bei Großnondorf bei Distanzversuch 1. Vier transparenten PAL Klebetafeln wurden im Hochformat an ein Gerüst aus Metallstangen und Kunststoffstangen befestigt. Windmesser und Duftstoff wurden in ca. 140 cm Höhe mittig zwischen den Klebetafeln angebracht

Distanzversuch 2:

Für diesen Distanzversuch in Mais wurden in Bad Radkersburg erneut ca. 600 Käfer gefangen und, wie oben beschrieben, nach Geschlecht getrennt und markiert. Auch bei diesem Versuch wurden je Farbe jeweils 25 männliche und 25 weibliche Käfer in ein Aerarium übertragen. Der Versuch wurde diesmal in einem Maisfeld (Wien 1220, 48°15'25,7"N 16°29'02,7"O) durchgeführt, da die geringe Wuchshöhe der Sojapflanzen als eine der Ursachen für die geringe Wiederfangquote des vorherigen Versuchs vermutet wurde und weil es der Situation in der Praxis näherkommt. Die Falle wurde erneut aufgebaut und zwischen den Reihen positioniert (Abbildung 18). In der Maisfläche wurde die Falle ca. 10 m vom Feldrand aufgestellt. Die Käfige wurden in Abständen von 0,5 m (weiß), 1 m (rosa), 2 m (blau), 5 m (grün) und 10 m (gelb) entlang der Reihe positioniert und um 10 Uhr (20.8.2021) geöffnet. Der Wind kam aus Ost-Süd-Ost mit weniger als 0,2 m/s.



Abbildung 18: Falle im Maisfeld in Wien, Donaustadt. Vier transparente PAL Klebetafeln wurden im Hochformat an ein Gerüst aus Metallstangen und Kunststoffstangen befestigt und für den Distanzversuch 2 verwendet. Windmesser und Duftstoff wurden in ca. 140 cm Höhe mittig zwischen den Klebetafeln angebracht. Die markierten Käfer wurden im Abstand von 0,5 m, 1 m, 2 m, 5 m und 10 m Entfernung zur Falle aus den Aerarien entlassen.

Distanzversuch 3:

Ähnlich Experiment 2 wurde ein weiterer Versuch an der gleichen Stelle gestartet. Es wurden wieder fünf Distanzen getestet, wobei jeweils 25 Männchen und 25 Weibchen farblich markiert und bis zum Versuchsstart in Aerarien gehalten wurden. Die Distanzen waren diesmal etwas enger gestellt: 0,5 m (weiß), 1 m (rosa), 1,5 m (blau), 2 m (grün) und 2,5 m (gelb). Die Käfige wurden am 7.9.2021 9:00 Uhr geöffnet, es dauerte aber diesmal länger als 15 Minuten, bis die Käfige leer waren. Sie wurden erst gegen Mittag abgebaut. Die Klebetafeln wurden am 10.9.2021 um 12:00 Uhr eingesammelt.

3.6 Bestimmung der Effizienz eines neu entwickelten „Attract-and-Kill“-Systems

Dieses zweijährige Experiment hatte zum Ziel, die Effektivität des SPLAT®-Systems (ISCA Inc.) in Kombination mit den Kürbislockstoffen zu testen. Die Käfer sollten durch die Kürbislockstoffe angelockt werden, am SPLAT®-Gemisch fressen, und durch beigemischt organisches Insektizid abgetötet werden. An vier Terminen (22.07.2020, 30.07.2020, 19.08.2020 und 02.09.2020) wurde die SPLAT®-Mischung auf zwei Maisflächen in der Oststeiermark (Abbildung 19 und Abbildung 20, SPLAT®-Fläche 1 & 2) ausgebracht. Jeder behandelten Teil-Fläche stand eine gleich große Kontrollfläche gegenüber, dazwischen wurde ein Pufferstreifen freigelassen. In der folgenden Saison 2021 wurde der Käferschlupf mittels Eklektoren (Abbildung 27) auf den behandelten Flächen mit den unbehandelten Flächen verglichen. Wir gingen davon aus, dass dort, wo mit dem SPLAT®-Gemisch behandelt wurde, es zu einer geringeren Eiablage und daraus resultierend, zu einem geringeren Käferschlupf kommt. Dieses Design gibt uns ein Maß für die Effizienz des Attract-and-Kill-Systems. Zusätzlich wurde auf der SPLAT®-Fläche 2 die Rückhaltewirkung, d.h. die Verringerung der Emigration der WMB in umliegende Felder, v.a. Kürbisfelder, des SPLAT®-Gemisches auf die Käfer getestet werden.

Auf **Fläche 1**, in Bad Radkersburg, waren die Teilflächen 60 m lang und 30 m breit. Die dazwischenliegende Pufferzone trennte die Versuchs- und Kontrollfläche um 40 m. In der Versuchsfläche wurde das SPLAT® an je 10 Maispflanzen von 5 Reihen aufgetragen. Der Abstand zwischen den behandelten Reihen betrug 6 m, der Abstand zwischen den Pflanzen innerhalb der Reihen betrug 5 m.

Auf **Fläche 2**, in St. Peter im Sulmtal, welche im Vergleich zu Fläche 1 sehr groß war, konnten zwei eigenständige Versuche durchgeführt werden. Die erste Versuchsfläche

betrug 112 m x 50 m, wobei der Länge nach an 10 Reihen mit je 11 m Abstand zueinander die SPLAT®-Masse aufgetragen wurde. In jeder Reihe wurden 10 Pflanzen mit einem Abstand von 5 m pro Applikation behandelt. Zwischen der behandelten Fläche und der Kontrollfläche lagen 20 m Pufferzone. Die zweite Versuchsfläche war nur ca. halb so lang, maß 50 m x 50 m und umfasste sieben Reihen mit wieder 11 m Abstand zueinander. Jede Reihe enthielt 10 behandelte Pflanzen, welche wieder 5 m voneinander entfernt waren. Zwischen den behandelten Flächen und den Kontrollflächen eines Versuches lagen 20 m Pufferzone und zwischen den beiden Versuchsflächen 50 m.

Zusätzlich hatte **Fläche 2** eine Kürbisfläche angrenzend, auf welcher in der Saison 2021 Mais kultiviert wurde. Dies ermöglichte uns die Rückhaltewirkung (Verhinderung der Auswanderung von Käfern in die Kürbisfläche) des Attract-and-Kill-Systems zu bestimmen. Dazu wurde auf zwei Reihen am Rande des Maisfeldes (2. & 4. Reihe vom Rand) auf halber Länge (120 m) SPLAT® ausgebracht. Pro Reihe wurde alle 10 m eine Pflanze (insgesamt 12 Pflanzen pro Reihe) bestückt. Die andere Hälfte der Grenzfläche wurde als Kontrolle unbehandelt belassen (Abbildung 20).



Abbildung 19: Satellitenbild (Google Earth 2020) der SPLAT® Versuchsfläche 1 mit dem Versuchsdesign

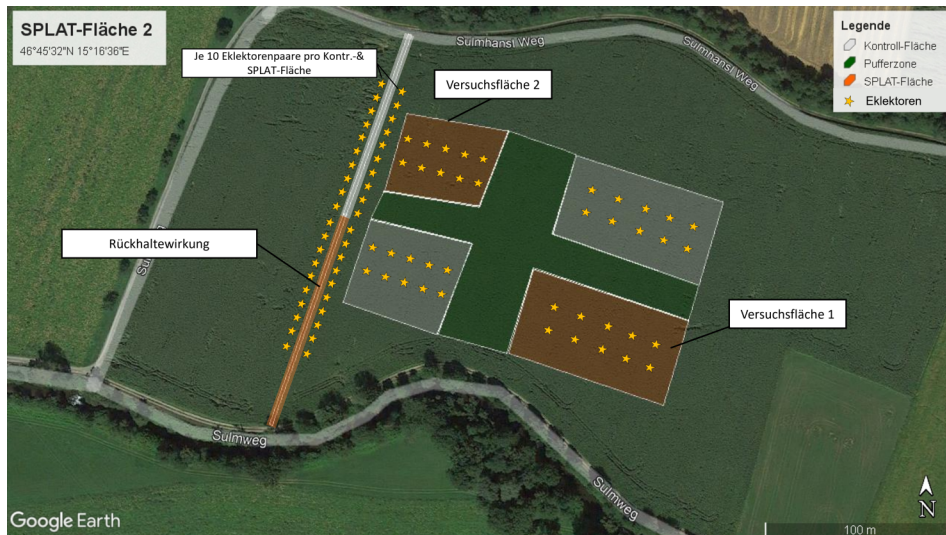


Abbildung 20: Satellitenbild (Google Earth 2020) der SPLAT® Versuchsfläche 2 mit dem Versuchsdesign

Es wurden 2 Liter der SPLAT®-Masse pro Hektar Maisacker mit Spritzsäcken auf den Pflanzen verteilt (Abbildung 21). Pro Pflanze wurden 5 ml auf Augenhöhe und 5 ml unter den letzten Kolben auf Kniehöhe dressiert. Eine Kontamination des Erntegutes ist nicht zu erwarten, da das SPLAT® innerhalb weniger Stunden auf den Blättern eintrocknet und nicht mehr auf den Kolben gelangen kann (Abbildung 22).

Das SPLAT® wurde von der Firma ISCA auf zwei Chargen geliefert, wobei die erste Charge bereits mit den Kürbislockstoffen (Mischung Kürbis stark 2019, siehe Tabelle 2) fertig gemischt geliefert wurde. Bei der zweiten Charge wurden die Düfte erst an der PLUS beigemischt (Tabelle 7).

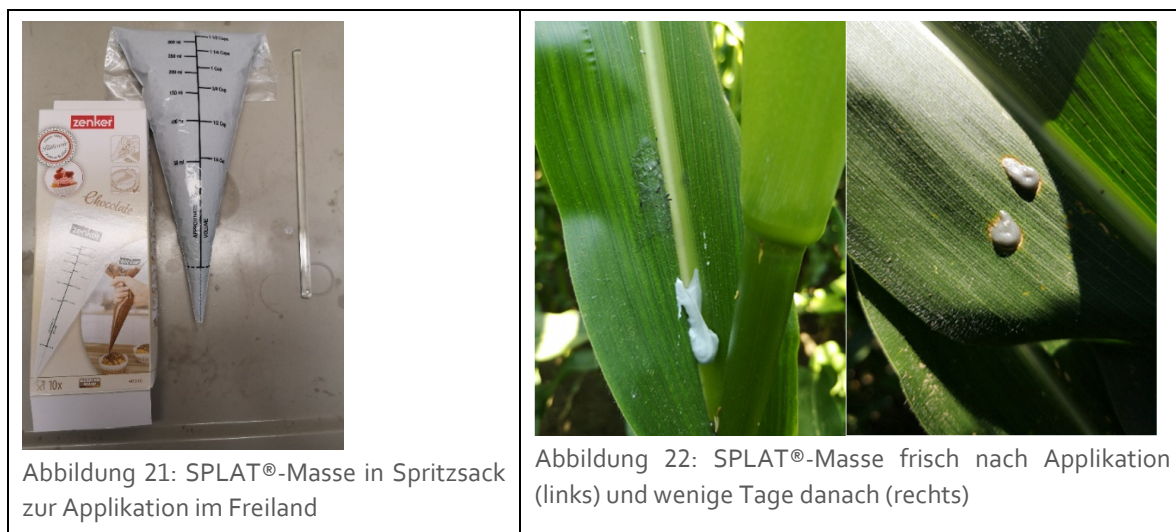


Abbildung 21: SPLAT®-Masse in Spritzsack zur Applikation im Freiland

Abbildung 22: SPLAT®-Masse frisch nach Applikation (links) und wenige Tage danach (rechts)

3.6.1 Käferbefall an Maiswurzeln

Zur Bestimmung der Befallssituation der SPLAT®-Felder bei Beginn des Experimentes wurden an behandelten und Kontrollflächen gesamt 70 Pflanzen entnommen, um die Fraßschäden an den Wurzelstöcken ermitteln zu können. Dies erlaubt uns eine Einschätzung des Larvenbestandes der WMB und einen Vergleich zum Käferbestand in der Saison 2021. Die Pflanzen wurden auf eine Höhe von 1,30 m abgeschnitten, mit einem Spaten vorsichtig ausgegraben, um möglichst keine/wenige Wurzeln abzutrennen, und anschließend soweit möglich in angrenzenden Bächen von der Erde befreit (Abbildung 23). Auf der SPLAT®-Fläche 1 wurden 50 Wurzelstöcke ausgegraben, 25 Pflanzen auf der behandelten und die anderen 25 auf der Kontroll-Fläche. Es wurden auf den Testflächen je 5 Reihen mit 6m Abstand zueinander markiert und alle 10 m der Reihe entlang eine Pflanze entnommen.

Auf der SPLAT®-Fläche 2 wurde pro Testfläche (Abbildung 20, 4 Testflächen= 2x SPLAT®, 2x Kontrolle) nur eine Reihe beprobt. Der Reihe entlang wurde alle 10m eine Pflanze entnommen, dadurch wurden pro Testfläche fünf Wurzelstöcke ausgegraben. Bei einer ersten Beurteilung der Situation bei SPLAT®-Fläche 2 vor Ort konnten an keinem Wurzelstock Fraßschäden erkannt werden, deshalb wurde es bei der Größe dieser Stichprobe belassen. Die abgewaschenen Wurzelstöcke wurden bei mehrmaligem Wenden an einem trockenen und gut belüfteten Ort im Botanischen Garten der PLUS getrocknet und zur späteren Evaluierung entsprechend der Iowa-Skala für Wurzelfraß (OLESON et al. 2005) an Mais (Tabelle 9) aufbewahrt.



Abbildung 23: Gereinigte Maiswurzeln nach der Entnahme aus dem Feld

Tabelle 9 Skala des Iowa-Indexes zur Bewertung von Wurzelfraßschäden am Mais, OLESON et al, 2005

1	kein Wurzelfraß
1,5	einzelne Fraßspuren sichtbar
2	bis zu 3 Wurzeln geringfügig zurück gefressen
2,5	mehr als 3 Wurzeln geringfügig zurück gefressen, aber keiner bis auf 4 cm vom Stängel entfernt
3	ein bis 3 Wurzeln zurück gefressen bis auf weniger als 4 cm vom Stängel entfernt
3,5	mehr als 3 Wurzeln zurück gefressen bis auf weniger als 4 cm vom Stängel entfernt
4	ein kompletter Ring von Wurzeln oder dessen Äquivalent zerstört
4,5	etwa 1,5 Wurzelringe zerstört
5	2 Wurzelringe zerstört
5,5	etwa 2,5 Wurzelringe zerstört
6	3 oder mehr Wurzelringe komplett zerstört

Ausbringung der Eklektoren und Auswertung der SPLAT® Freilandversuche:

Zur Evaluierung unseres Experimentes wurden von kurz vor Beginn der Schlupfzeit (07.-08.07.2021) 100 Eklektoren in den beiden Versuchsflächen eingegraben. Diese ermöglichten es die Schlupfaktivität der Diabrotica-Käfer zu messen und zu vergleichen. Dazu wurden am 10.06.2021 Wege in die noch niedrige Maiskultur (Abbildung 24) angelegt, um zum späteren Zeitpunkt, wenn der Mais hochgewachsen ist (Abbildung 25), noch eine angemessene Bewegungsfreiheit mit den Eklektoren zu gewährleisten. Die Eklektoren (0,5 m²) bestehend aus einem Holzrahmen, einem Netz und einem mit SPLAT® beködertem Sammelgefäß an der höchsten Stelle (Abbildung 26) wurden über abgeschnittene Maispflanzen aufgebaut, wobei der Rahmen mit umgeschlagenem Netz eingegraben wurde (Abbildung 27). Dies hatte den Grund, dass die im Boden verbliebenen Maiswurzeln allen Larven bis zur Verpuppung als Nahrungsquelle dienen konnten und so ein restloses Schlüpfen der WMB ermöglichten. Zur Auswertung der Schlupfzahlen wurden die Teilflächen in St. Martin im Sulmtal gepoolt. In Bad Radkersburg wurden die Eklektoren pro Ansatz in je zwei annähernd N-S orientierten Transekten angelegt. Zwischen den Fallen waren jeweils ca. 10 m Abstand. Sie waren von einem Zentral angelegten Weg über Kreuzwege erreichbar (Abbildung 19). In St. Martin im Sulmtal wurden insgesamt zwei Hauptwege angelegt, die am östlichen Rand der westlichen Flächenvariante und westlich der östlichen Flächenvariante lagen. Die Grenzfläche zwischen ehemaligem Kürbis und

Mais ganz im Westen war ohne zusätzliche Weganlage erreichbar. Die Fallen wurden in den Flächen mit 10 m Abstand entlang der Reihen und zwischen den Reihen innerhalb eines Ansatzes angelegt. Im Grenzbereich wurden die Fallen auf der Seite des ehemaligen Kürbisfeldes in der zweiten Maisreihe angelegt, auf der Maisfläche war es die dritte Reihe, da zwischen den Reihen des SPLAT®-Vorhangs des Vorjahres (Reihe 2 und 4) der größte Effekt zu erwarten war (Abbildung 20).



Abbildung 24: Angelegte Wege in niedrigem Mais



Abbildung 25: Angelegte Wege in hohem Mais



Abbildung 26: Der Grundrahmen des Eklektors wurde um abgeschnittene Maispflanzen gelegt



Abbildung 27: Der fertig installierte Eklektor

3.7 Erhebung einer potenziellen Schädigung des „Attract-and-Kill“-Systems auf Nicht-Zielorganismen

Zur Erfassung einer möglichen Schädigung auf Nicht-Ziel-Arten wurden stellvertretend für bestäubende Insekten Honigbienen (*Apis mellifera*) und Schwebfliegen (*Episyrphus balteatus*, Fa. Katzbiotech) getestet. Dazu wurde eine Mischung aus 200 ml SPLAT® und 914 mg (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd hergestellt, welche in diesen Experimenten in erbsengroßer Menge den Tieren angeboten wurde. Es wurde stets die „frische“, also noch feuchte, und die 30 min getrocknete Mischung getestet, da sich nach dieser Zeit bereits eine Haut auf dem SPLAT® bildete. Zunächst wurde die Lockwirkung in kleinen Flugkäfigen (30 x 30 cm) getestet, indem das SPLAT® auf eine Alufolie in ein flaches Glasgefäß gegeben und in die Mitte des Netzkäfiges gestellt wurde. So hatten die Tiere ungehinderten Zugang. Als Kontrolle wurde dasselbe Setup verwendet, jedoch wurde der Zugang durch einen Gaze-Stoff, der über das Glasgefäß montiert wurde, verhindert. Nachdem bei mehr als 100 getesteten Individuen nur Einzeltiere der Honigbienen, und Schwebfliegen das SPLAT® aufsuchten, wurde ein kleineres Plastikbehältnis (10 cm Ø x 13 cm Höhe, Abbildung 28) gewählt. Das Ergebnis blieb dasselbe, woraufhin die Anlockversuche abgebrochen und die Tiere direkt mit dem SPLAT® in Kontakt gebracht wurden. Die Tiere wurden schonend fixiert, indem sie in ein Eppendorgefäß (1,5 ml) gegeben wurden, bei dem an der Spitze ein Loch geschnitten wurde. Der Durchmesser des Loches musste stets an die Tiergruppe angepasst werden und war so groß, dass die Tiere den Kopf problemlos durchstecken, jedoch nicht hinausklettern konnten. Zusätzlich wurde hinten ein Stück Zellstoff gegeben, um zu verhindern, dass die Tiere sich in das Eppendorf-Gefäß zurückziehen konnten. Danach wurde eine kleine Menge an SPLAT® auf die Spitze einer Federstahlpinzette (Abbildung 29) gegeben und den Tieren zugeführt. Die Experimente mit Honigbienen umfassten drei Ansätze. Bei der ersten Variante wurde die frische Masse (ohne Haut, <30 min) direkt auf den Mandibeln der Tiere appliziert. Für die anderen beiden Ansätze (frisches SPLAT® ohne Haut; angetrocknetes SPLAT® mit Haut) wurde der Rüsselausklappreflex (Proboscis-Extension-Reflex, KUWABARA, 1957) der Tiere ausgenutzt. Zunächst wurde der Reflex durch Bestreichen der Antennen mit Zuckerwasser ausgelöst (Abbildung 30). Nach erfolgtem Ausstrecken des Rüssels wurde das SPLAT® vorgelegt, sodass die Tiere es aufnehmen konnten. Bei den Schwebfliegen wurde nur der Rüsselausklappreflex-Ansatz (Abbildung 31) mit frischem und angetrocknetem SPLAT® durchgeführt, bei den *Diabrotica*-Käfern wurden die Mandibeln bestrichen. In all diesen Experimenten stand der Testgruppe stets eine gleich große Kontrollgruppe gegenüber, welche gleich behandelt wurde, jedoch keinem Kontakt zum SPLAT® ausgesetzt war. Alle Tiere wurden stets mit feuchtem Zellstoff vor Austrocknung geschützt in den Aerarien,

oder Plastikbehältnissen aufbewahrt. Zur Auswertung der Überlebensraten wurde ein Exakter Fisher-Test am zweiten Tag nach Beginn des Experimentes durchgeführt. Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, weil innerhalb der ersten beiden Tage meist alle Tiere in den Testgruppen verstorben waren.

	
<p>Abbildung 28: Honigbienen in Versuchsbehältnissen zur Ermittlung der Lebensdauer nach der SPLAT®-Behandlung bzw. bei Kontrolltieren</p>	<p>Abbildung 29: Federstahlpinzette mit SPLAT®-Tropfen an der Spitze</p>
	
<p>Abbildung 30: Honigbiene nach erfolgtem Rüsselausklappreflex, ausgelöst durch Zuckerwasser</p>	<p>Abbildung 31: Schwebfliege <i>Episyrphus balteatus</i> nach erfolgtem Rüsselausklappreflex, ausgelöst durch Zuckerwasser</p>

4 Ergebnisse

4.1 Analyse der Blütendüfte verschiedener Ölkürbissorten

4.1.1 Blütenduftzusammensetzung

Der Duft aller Proben war von einer aromatischen Substanz, dem 1,4-Dimethoxybenzol, dominiert. Sie kam in allen Proben vor und war im Durchschnitt für mehr als die Hälfte und bis zu 96% des abgegebenen Duftes der verschiedenen Sorten und Blütengeschlechter verantwortlich. Abgesehen davon, gab es acht weitere Substanzen, welche im Schnitt, zumindest in einem Blütengeschlecht einer der Sorten, mehr als fünf Prozent zum Duft beigetragen haben (Tabelle 10, grün hinterlegt). Der Großteil der Duftstoffe war im Schnitt weniger als ein Prozent im Gesamtduft enthalten.

Wir konnten Unterschiede in der Zusammensetzung des Duftes, sowohl zwischen den Sorten, (PERMANOVA: Pseudo- $F_{df=4;50} = 11,9$; $p < 0,001$) als auch zwischen den Geschlechtern (PERMANOVA: Pseudo- $F_{df=1;50} = 4,7$; $p = 0,002$) feststellen, bei einer nicht-signifikanten Interaktion zwischen den beiden Faktoren (PERMANOVA: Pseudo- $F_{df=4;50} = 0,4$; $p = 1,00$). Eine Visualisierung der Ähnlichkeiten bzw. Unterschiede zwischen einzelnen Proben zueinander macht deutlich, dass sich vor allem die Blüten der Sorte Venus in ihren Düften von allen anderen Sorten unterscheiden (Abbildung 32). Im Vergleich dazu sind sich die Blütendüfte der anderen Sorten, bei erhöhter Streuung der Gleisdorferproben, sehr ähnlich. Unabhängig von der Sorte sind sich trotz des signifikanten Befundes auch die Blütendüfte der verschiedenen Geschlechter innerhalb einer Sorte recht ähnlich. Abbildung 32 zeigt auch, welche Substanzen für die Variabilität in den Blütendüften zwischen den Proben und Sorten verantwortlich sind. So zeichnen sich die Venus-Düfte durch höhere Anteile am Gesamtduft von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd und 4-Methoxybenzenpropanol aus. In der Tat kommen diese Substanzen mit Anteilen von mindestens 4% nur in Blütendüften der Sorte Venus vor, während sie in anderen Sorten nicht oder nur in geringeren Mengen vorkommen (Tabelle 10). Dem gegenüber ist der mittlere Anteil am Gesamtduft von 1,4-Dimethoxybenzol in dieser Sorte geringer als in jeder anderen Sorte (Tabelle 10).

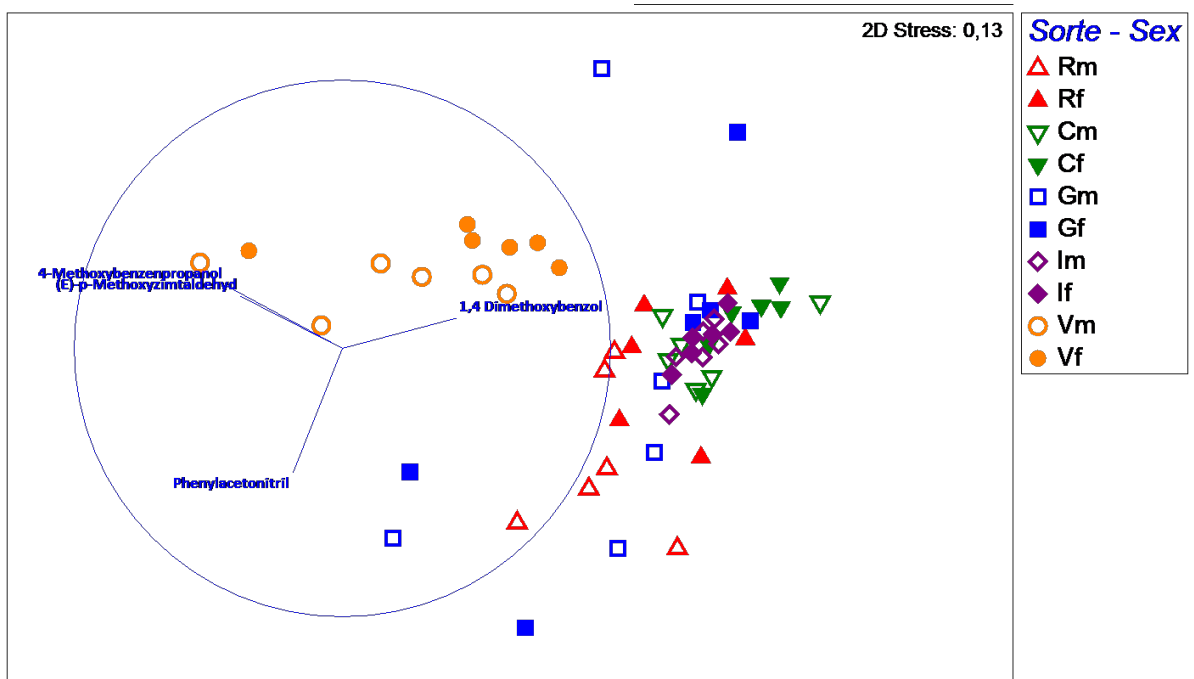


Abbildung 32: Nicht-metrische Multidimensionale Skalierung (Ordination) der Duftproben. Proben, welche nah zusammen liegen, hatten ein ähnliches Duftmuster, weiter entfernt liegende Proben zeichneten sich durch ein verschiedenartiges Duftprofil aus. R: Rustika, C: Classic, G: Gleisdorfer, I: Inka, V: Venus, m: männlich, f: weiblich; blaue Linien: Vektoren einer multiplen Korrelation, wobei die angegebenen Duftstoffe am besten die Anordnung der Proben im 2-dimensionalen Dufttraum (Ordination) erklären.

Tabelle 10: Durchschnittliche Duftmenge und relative Anteile der einzelnen Substanzen (%) im Blütenduft der verschiedenen Ölkürbissorten sowie Geschlechter (N = 6 Replikate pro Geschlecht und Sorte).

Elektrophysiologisch aktive Substanzen (siehe 4.2) sind durch ein hochgestelltes E gekennzeichnet. Grün hervorgehoben sind Substanzen mit einem Mindestanteil am Bouquet von 5%. „tr“: < 0,1%.

	Classic		Gleisdorfer		Inka		Rustik		Venus	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Ø Duftmenge ng/Blüte/min Substanzen	2,36	2,46	1,04	0,92	2,43	1,22	0,94	0,43	0,98	0,68
4-Methylanisol	0,1	0,1	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	tr
Benzylalkohol	0,1	0,5	0,3	1,1	0,5	1,3	0,6	1,0	5,1	3
(E)-β-Ocimen ^E	-	-	-	-	0,1	-	0,7	-	-	5
(Z)-Linalooloxid furanoid	-	-	-	-	-	-	tr	0,1	-	0
(Z)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatrien	-	-	tr	0,1	tr	tr	-	-	-	1
(E)-Linalooloxid furanoid	tr	tr	0,2	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	tr	0
Linalool ^E	0,3	0,8	5,3	2,9	1,0	0,8	1,6	3,8	0,9	4
(E)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatrien	-	-	4,6	6,1	0,8	1,1	-	-	-	3
2-Phenylethanol	0,1	0,2	0,4	0,7	0,3	0,4	0,1	0,5	0,3	0
Epoxyoxoisophoron	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	7
Phenylacetonitril ^E	1,1	2,2	6,0	8,4	2,2	2,3	2,3	3,9	1,1	1
4-Oxoisophoron ^E	0,4	0,6	1,4	3,4	0,4	0,6	0,9	0,9	1,0	8
4-Vinylanisol ^E	0,2	0,3	0,5	1,1	0,2	0,6	0,4	2,8	0,5	6
1,4-Dimethoxybenzol ^E	95,8	92,1	72,8	66,2	92,1	90,1	86,9	73,0	67,7	52
(E)-Linalooloxid pyranoid	-	0,1	-	-	-	tr	0,6	-	-	7
Benzenpropanol	tr	0,1	0,4	0,3	-	-	0,6	1,2	1,0	1
(E)-2-Methyl-2-buten-1-yl-tiglat	0,3	tr	0,7	0,1	0,6	0,1	0,1	tr	0,9	6
(E/Z)-Phenylalldoxim_1	0,2	0,4	1,7	1,4	0,4	0,2	0,4	0,8	0,3	0
Linalylacetat	-	tr	-	-	-	-	-	-	tr	0
p-Anisaldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6	5
(Z)-Zimtalkohol	tr	-	tr	tr	tr	-	tr	-	0,1	0
(E/Z)-Phenylalldoxim_2	0,2	0,3	1,4	1,2	0,3	0,2	0,3	0,6	0,2	0
(E)-Zimtaldehyd	tr	0,1	tr	tr	-	-	tr	0,1	0,8	3

	Classic		Gleisdorfer		Inka		Rustik		Venus	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
<i>p</i> -Anisylalkohol	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	1,0	1
1-Nitro-2-phenylethan	0,3	0,3	1,0	2,6	0,4	0,6	0,4	0,9	0,5	6
(<i>E</i>)-Zimtalkohol	tr	tr	tr	-	tr	tr	tr	tr	0,7	9
Unbekannt_1321	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	-	0,5	9
3,4-Dimethoxystyrol	0,1	0,1	tr	0,1	tr	tr	0,1	0,2	0,1	0
1,2,4-Trimethoxybenzol ^E	0,2	0,3	0,4	0,8	0,2	0,3	0,2	0,4	0,5	2
Unbekannt_1428	-	-	0,1	0,2	-	-	tr	tr	0,2	0
4-Methoxybenzenpropanol	-	-	1,7	1,9	-	-	0,1	0,2	4,5	7
Benzyltiglat	0,1	tr	-	-	tr	tr	tr	1,1	1,5	0
Unbekannt_1553	tr	0,5	0,5	1,4	0,2	1,1	3,2	5,6	0,1	6
(<i>E</i>)- <i>p</i> -Methoxyzimtalkohol	-	-	-	-	tr	-	-	tr	0,2	8
(<i>E</i>)- <i>p</i> -Methoxyzimtaldehyd	-	-	0,1	tr	-	-	-	-	7,1	9
Syringaaldehyd	0,1	tr	0,1	-	-	-	-	0,4	0,1	0
4-Hydroxy-3-methoxyzimtaldehyd	tr	tr	tr	-	-	-	-	0,5	tr	0
Unbekannt_1784	tr	tr	tr	-	-	-	-	tr	tr	1
Benzylbenzoat	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	0,3	0,2	0
Sinapinaldehyd	0,2	tr	-	-	-	-	-	0,9	0,1	0

3

4.1.2 Anzahl Substanzen

Es wurden in den 60 Proben insgesamt 40 Blütenduftstoffe festgestellt, wobei unabhängig vom Geschlecht die Sorte Venus, mit im Median knapp 30 Substanzen, signifikant mehr Substanzen abgab als die anderen vier Sorten, mit im Median knapp 20 Substanzen (Abbildung 33; Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{4;55} = 29,7$; $p < 0,001$).

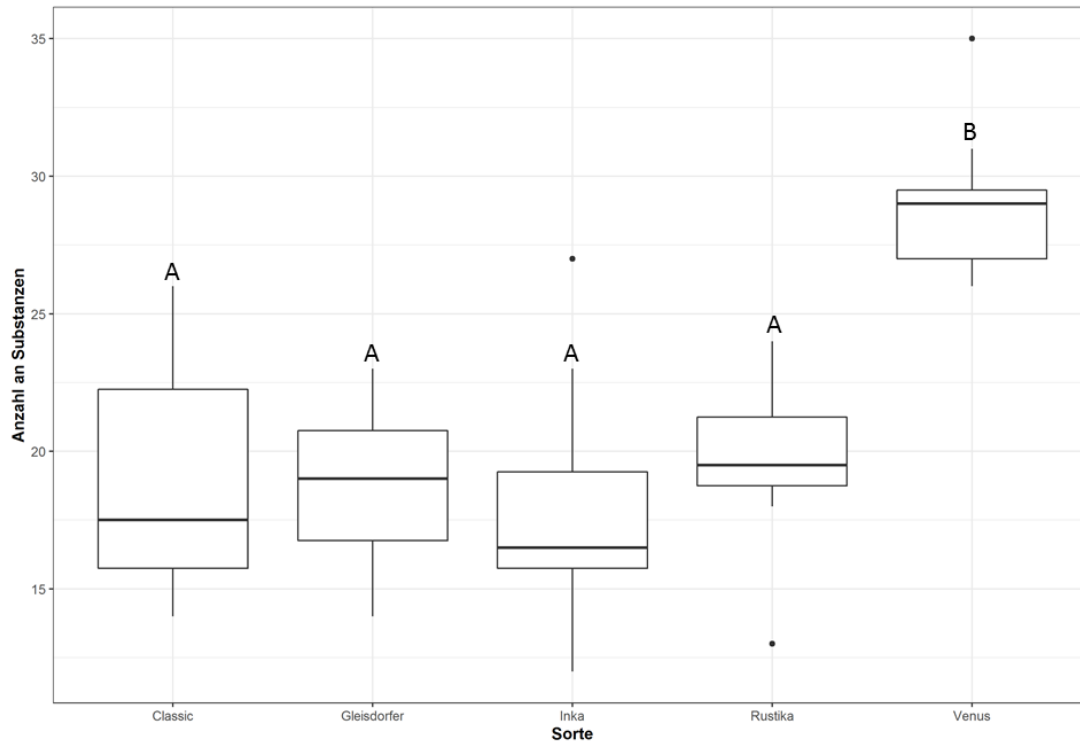


Abbildung 33: Anzahl der in den verschiedenen Sorten gefundenen Blütenduftstoffe. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Dunn's-Test). Venus gab mehr Substanzen ab als die anderen Sorten. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer.

4.1.3 Absolute Duftmenge

Auch bei der Menge an insgesamt abgegebenem Duft gab es, unabhängig vom Geschlecht, Unterschiede zwischen den Sorten (Abbildung 34, Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{4,55} = 18,1$; $p < 0,001$). Inka und Classic haben mehr Duft abgegeben als die anderen Sorten, die untereinander einheitlich waren.

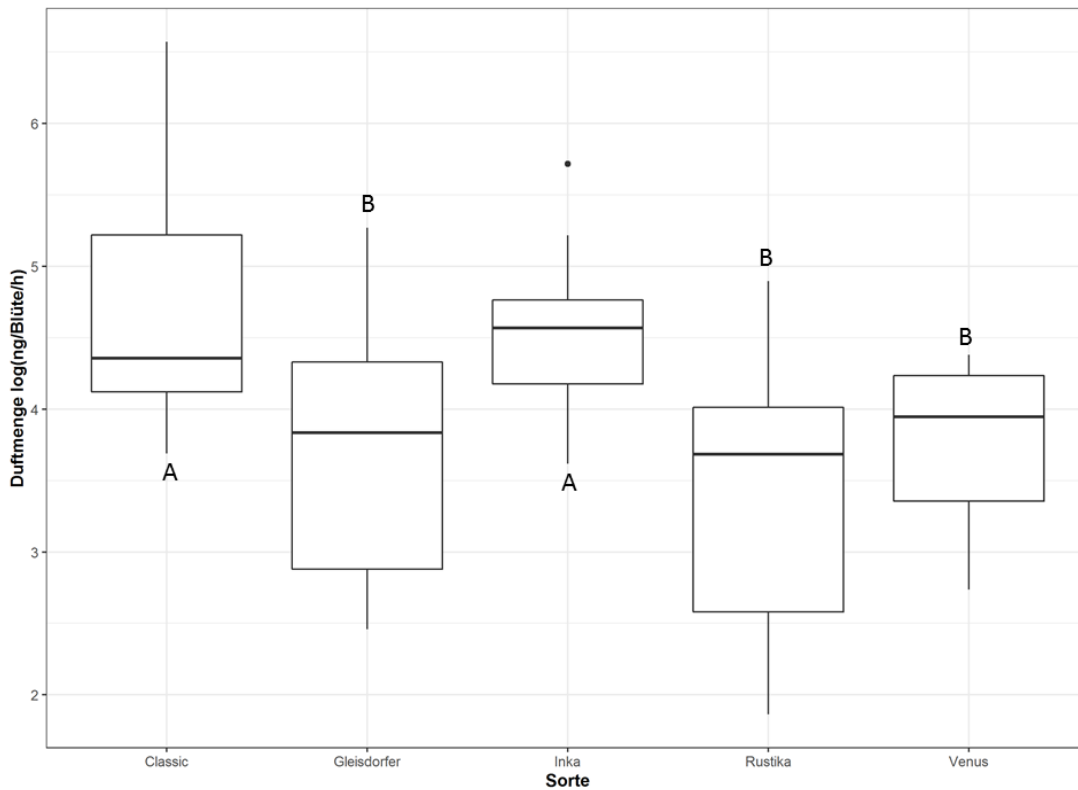


Abbildung 34: Gesamtblütenduftmenge in ng pro Blüte und Stunde für die getesteten Kürbissorten. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Dunn's-Test). Inka und Classic gaben mehr Duft ab als die anderen Sorten. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer.

4.2 Elektroantennographisch aktive Kürbisblütendüfte beim Westlichen Maiswurzelbohrer

Die 2019 durchgeführten Messungen haben die physiologische Aktivität folgender Substanzen ergeben: Phenylacetonitril, 1,4-Dimethoxybenzol, 1,2,4-Trimethoxybenzol, Linalool, 4-Oxoisophorone. Weiters wurde die Aktivität von 4-Vinylanisol, Benzaldehyd und (E)- β -Ocimen angenommen. In den weiterführenden Messungen 2020 konnte die physiologische Aktivität von 4-Vinylanisol, Benzaldehyd, und (E)- β -Ocimen nicht bestätigt werden, allerdings wurden 12 weitere Substanzen als elektroantennographisch aktiv identifiziert: Benzylalkohol, Linalool, 2-Phenylethanol, Phenylacetonitril, 4-Oxoisophoron, 1,4-Dimethoxybenzol, Linalooloxid pyranoid, p-Anisaldehyd, (E)-Zimtaldehyd, p-Anisylalkohol, (E)-Zimtalkohol, 3,4-Dimethoxybenzol, 1,2,4-Trimethoxybenzol, (E)-Benzyltiglat, (E)-p-Methoxyzimtaldehyd, 4-Hydroxy-3-Methoxyzimtaldehyd (Aktivität noch nicht restlos geklärt) und Benzylbenzoat (Abbildung 35).

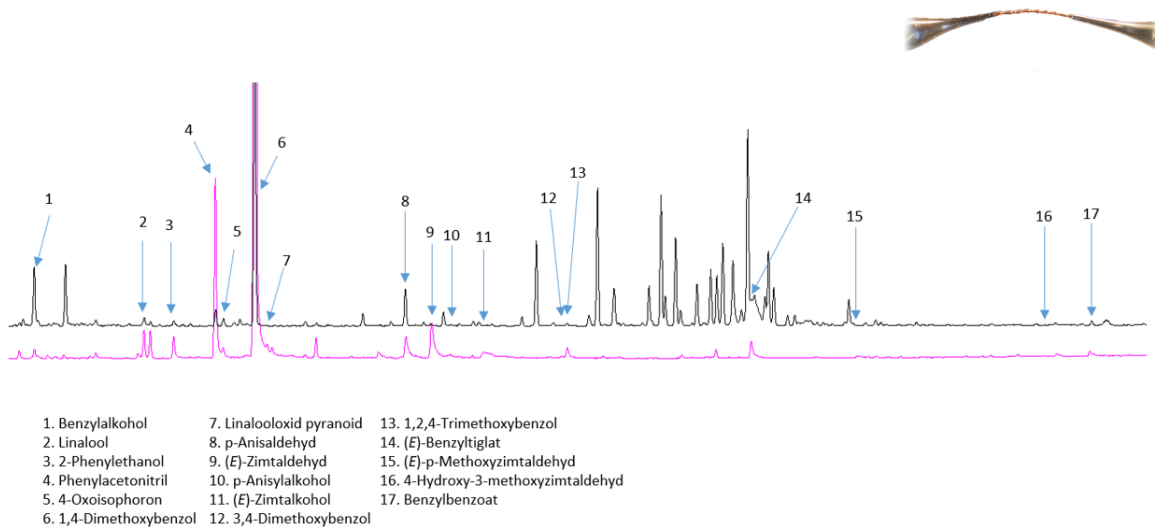


Abbildung 35: Gaschromatogramme einer Kürbisblütenduftprobe der Sorte Venus (schwarz; männliche Blüte) und einer 2020 synthetisch hergestellten Kürbisduftmischung (pink) mit den darin enthaltenen elektrophysiologisch aktiven Substanzen in den Antennen des Westlichen Maiswurzelbohrers (Pfeile und Zahlen). Nicht nummerierte Substanzen konnten von den Käfern nicht wahrgenommen werden oder stellen Kontaminationen dar.

4.3 Attraktivität von synthetischen Blütenduftmischungen auf den Westlichen Maiswurzelbohrer

4.3.1 Laborexperimente

Laborexperimente zur Identifizierung verhaltensrelevanter Kürbisblütenduft-Komponenten:

In 15 durchgeführten Zwei-Wahl-Tests wurden insgesamt 279 Käfer (88 ♂, 175 ♀) angelockt. Es entschieden sich dabei signifikant mehr Tiere (exakter Binominaltest: $p < 0,001$) für die Kürbisduftmischung (174 Individuen) als für die Lösungsmittelkontrolle (Aceton, 105 Individuen). Dieses Ergebnis zeigt, dass die Mischung der acht Substanzen nicht nur elektrophysiologisch, sondern auch verhaltensbiologisch aktiv ist und erfolgreich WMB anlockt. Von der Kürbisduftmischung angelockte Käfer haben oft ein aktives Suchverhalten mit Antennenbewegung gezeigt, sowie den Kopf gesenkt und die Mandibeln wiederholt geöffnet. Auch dieses Verhalten, welches nicht bei Tieren beobachtet wurde, die von der Lösungsmittelkontrolle angelockt wurden, bestärkt, dass die Kürbisduftmischung attraktiv für die Tiere ist und als Futterlockstoff dient.

Anlock- und Fraßversuche der Käfer mit SPLAT®, unter Berücksichtigung von Cucurbitacin B:

Von den 357 Käfern, die mit dem SPLAT® bestrichenen, mit Alufolie umwickelten Gurkenstück getestet wurden, haben drei am SPLAT® gefressen und waren nach 2h tot. Die anderen Tiere zeigten keine Reaktion auf das mit SPLAT® versehene Gurkenstück. Dieses Experiment legt die Vermutung nahe, dass SPLAT® die Käfer vermutlich effizient abtötet, wenn sie daran fressen, die SPLAT®-Masse (eventuell deren Eigengeruch) aber eher als Repellent für die Käfer fungiert.

4.3.2 Feldexperimente 2019

Überprüfung der Attraktivität der synthetischen Kürbisblütendüftmischung 2019 und zum Vergleich der Ungarnmischung:

Experiment 1_2019:

Im Maisfeld wurden bei Aceton (ACE) und dem reduzierten Kürbismix (RED) mit durchschnittlich 2,8 bzw. 4 Käfern die geringsten Fänge festgestellt. Beim starken Kürbismix (STR) befanden sich durchschnittlich 13,8 Käfer in der Falle, während beim Ungarischen Mix (HUN) durchschnittlich 38,4 Käfer kleben blieben. Der Maximalwert lag bei 110 Käfern für HUN und 26 für STR. Bei HUN lag der Median bei 16 und für STR bei 14. In diesem Szenario konnte insgesamt ein signifikanter Unterschied der Ungarn- (HUN) sowie starken Kürbismischung (STR) zur Kontrolle festgestellt werden. HUN, aber nicht STR hat sich zudem von der reduzierten Kürbismischung unterschieden. Letzterer konnte nicht mehr Käfer anlocken als die Kontrolle (Abbildung 36).

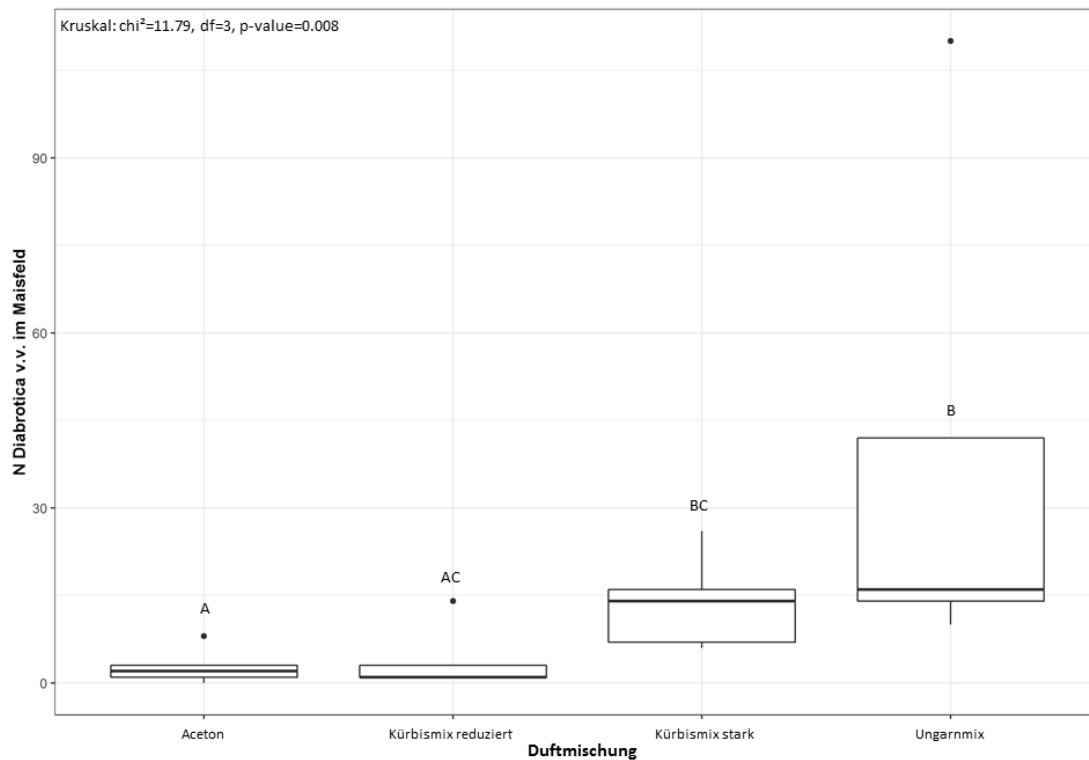


Abbildung 36: Freilandtest (Experiment 1_2019) im Maisfeld mit transparenten Leimtafeln. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Dunn's-Test). Beim Ungarnmix sowie beim starken Kürbismix wurde eine höhere Anzahl an Käfern gefangen als auf den Kontrollen. Bei ersterem auch mehr als beim reduzierten Kürbismix. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer. *Diabrotica virgifera virgifera*: WMB.

Im Zwischenstreifen liegen die Mittelwerte für RED und HUN mit 6,6 bzw. 16,4 etwas höher. Bei ACE und STR liegt der Durchschnitt an Käfern in der Falle mit 0,6 bzw. 12,2 etwas niedriger im Vergleich zum Maisfeld. Ein ähnlicher Trend ist bei der Lage der Mediane zu sehen, wobei dieser für STR bei 11 und für HUN bei 19 liegt. Beim Zwischenstreifen zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Acetonkontrolle und den 3 anderen Lockmischungen (Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{3; 16} = 12,59$; $p = 0,001$), die statistisch gesehen gleich attraktiv waren. Allerdings ist ein ansteigender Trend RED – STR – HUN erkennbar (Abbildung 37).

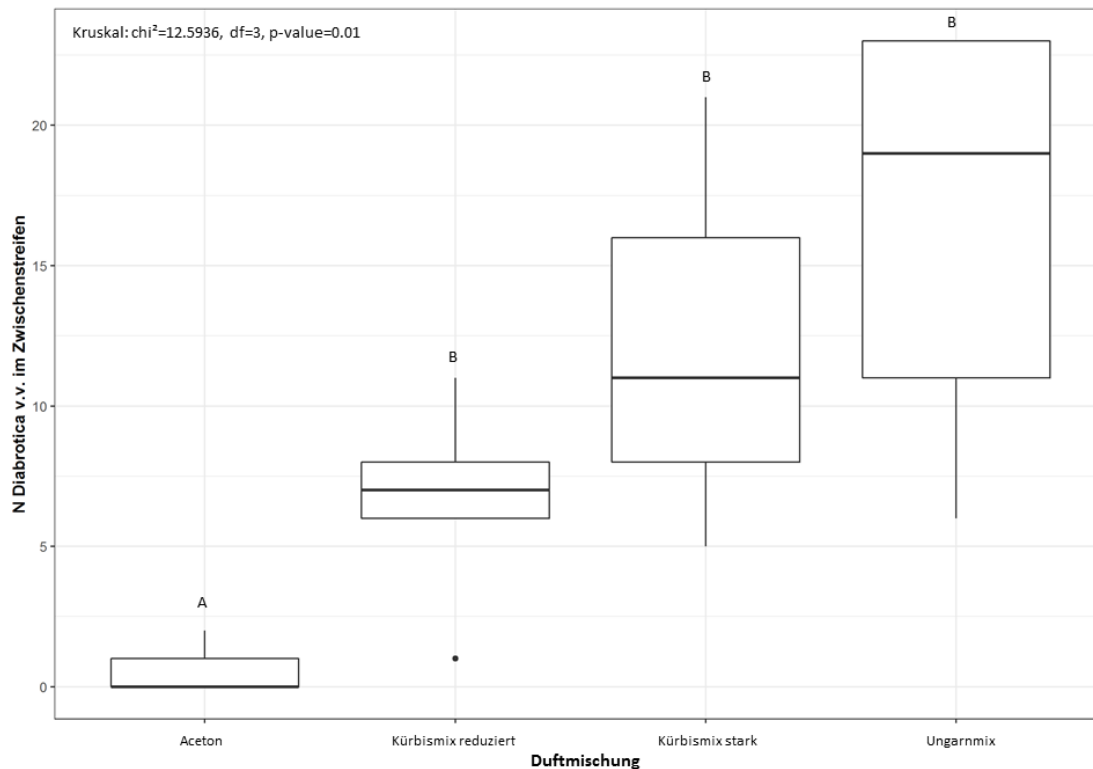


Abbildung 37: Freilandtest (Experiment 1_2019) im Zwischenstreifen mit transparenten Leimtafeln. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Dunn's-Test). Jede der Lockmischungen hat mehr *Diabrotica*-Käfer angelockt als die Kontrolle. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer. *Diabrotica virgifera virgifera*: WMB.

Im Kürbisfeld waren die Fangzahlen allgemein wesentlich geringer mit durchschnittlichen Fangzahlen unter 2 Individuen (Abbildung 38). Diese geringe Anflugrate ermöglicht es nicht eine klare statistische Aussage über die Verteilungsmuster der Käfer auf die verschiedenen Fallen zu treffen; es werden dazu weitere Replikate benötigt.

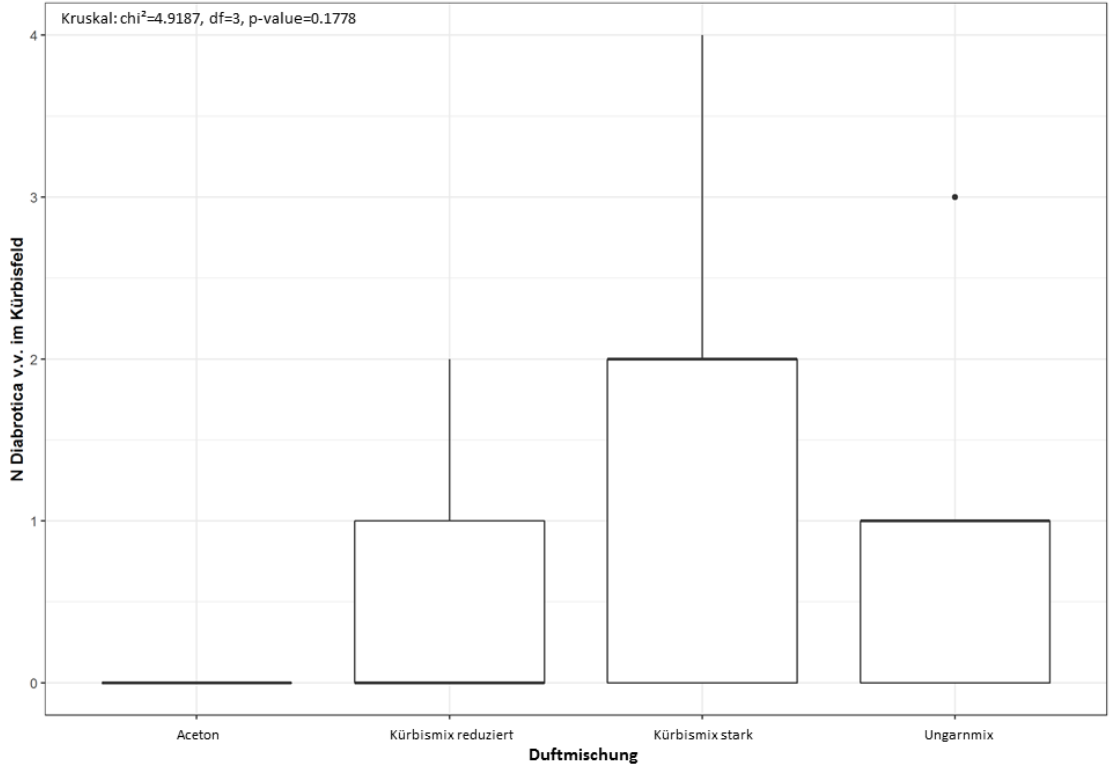


Abbildung 38: Freilandtest (Experiment 1_2019) im Kürbisfeld mit transparenten Leimtafeln. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer. *Diabrotica virgifera virgifera*: WMB.

Experiment 2_2019:

Bei diesem Experiment konnten über drei Tage bis zu 585 Käfer pro Falle angelockt werden (ges. 15 Fallen, 5 Replikate/Mix). Beim Ungarn Mix (HUN) waren es durchschnittlich 268,6 Käfer, beim Gemisch HUN + STR sogar 350. Bei ACE lag der Durchschnitt bei 19,4 Käfern. Beide Lockmischungen waren deutlich attraktiver als die Kontrolle, es konnten jedoch keine statistischen Unterschiede zwischen den beiden Mischungen gefunden werden (Abbildung 39).

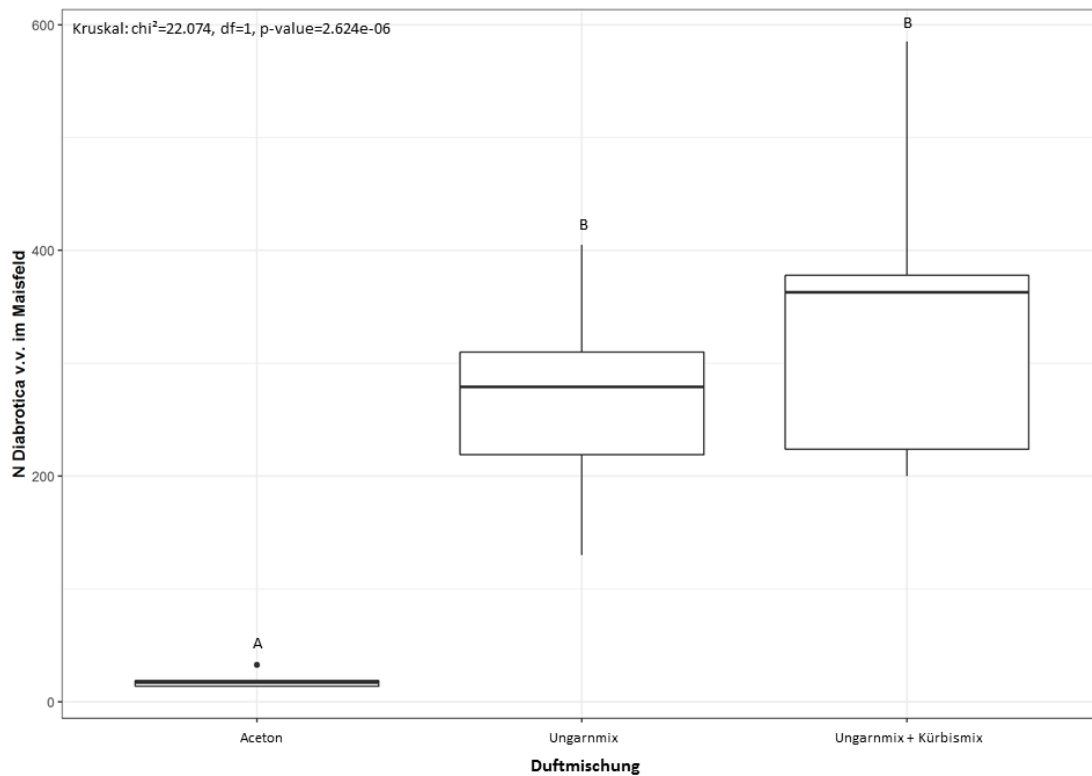


Abbildung 39: Freilandtest (Experiment 2_2019) im Maisfeld mit gelben Leimtafeln. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem Dunn's-Test). Sowohl der Ungarnmix als auch der Ungarn+ Kürbismix haben mehr Käfer angelockt als die Kontrolle, wobei die beiden Lockmischungen statistisch gleich attraktiv waren. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer, sowie die Ausreißer. *Diabrotica virgifera virgifera*: WMB.

4.3.3 Feldexperimente 2020

Experiment 1_2020: Anzahl angelockter WMB

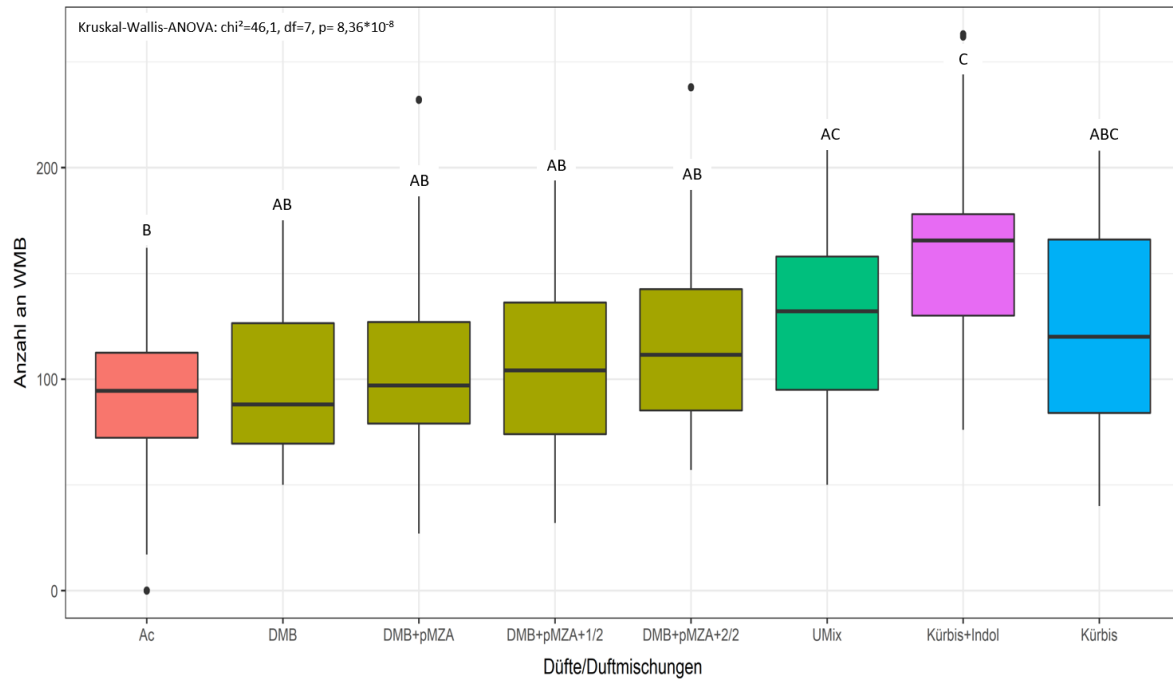


Abbildung 40: Anzahl der gefangenen WMB in Experiment 1_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). Kürbis+Indol (lila) konnten mehr Käfer anlocken als die Kontrolle (orange), die anderen Lockmischungen hatten eine intermediäre Attraktivität. hellgrün=Kürbisblütenduftstoffmischungen, türkis=ungarische Lockmischung, blau=vollständige Kürbismischung. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac:Aceton, DMB: 1,4-Dimethoxybenzol, pMZA: (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, 1/2: Erste Hälfte der Komplettmischung, 2/2 Zweite Hälfte der Komplettmischung, UMix: Ungarnmischung, Kürbis: vollständige Kürbisduftmischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 3

Insgesamt (die Anzahl der in den verschiedenen Feldern angelockten Tiere wurde pro Duftstoff/-mischung aufsummiert) wurden auf den drei Feldern 27789 Käfer gefangen, wobei verschiedene Lockmischungen mehr oder weniger attraktiv waren (KW-ANOVA: $\chi^2_{7;240} = 46,1$; $p < 0,001$). Die Kürbis + Indol-Mischung hat im Median mit 166 Individuen mehr Käfer angelockt als die Aceton-Negativkontrolle, DMB, DMB+pMZA, DMB+pMZA+1/2, und DMB+pMZA+2/2, welche statistisch gleich attraktiv waren und im Schnitt zwischen 88 und 112 Käfer anlockten. Die Kürbismischung (120) und die ungarische Mischung (132) hatten eine intermediäre Lockwirkung. Auffällig bei diesem Experiment war, dass eine sehr hohe Zahl an Käfern auch auf den mit der Negativkontrolle (Aceton) bestückten Fallen zu finden war (Abbildung 40). Diese von Blütendüften unabhängige Fangzahl maskiert mögliche deutlichere Unterschiede in der Lockwirkung der verschiedenen Mischungen. Eine mögliche Ursache für die hohe Fängigkeit der Negativkontrolle könnte die gelbe Farbe der Klebefalle und der daraus resultierende hohe Kontrasteffekt im Maisfeld sein.

Experiment 2_2020: Anzahl angelockter WMB

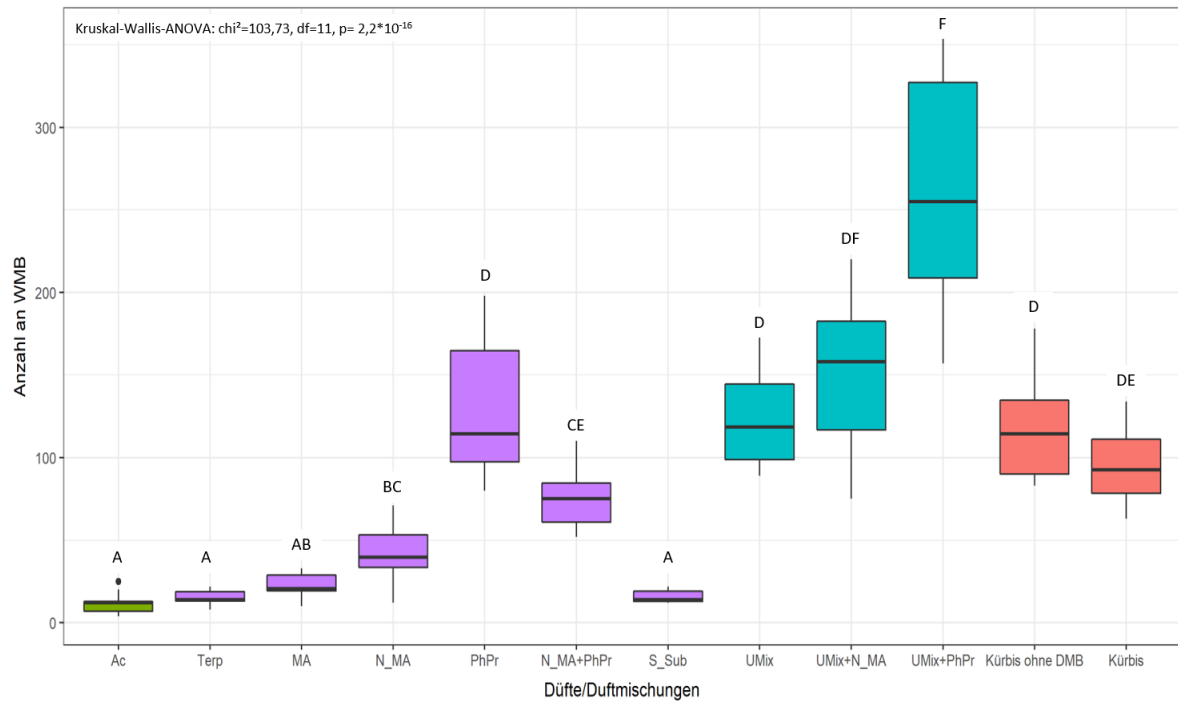


Abbildung 41: Anzahl der gefangenen WMB in Experiment 2_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). Die größte Lockwirkung hatte UMix+PhPr; PhPr, UMix, und Umix+N_MA; Kürbis ohne DMB und Kürbis hatten eine intermediäre Lockwirkung. Auch N_Ma und N_MA+PhPr waren effektiver als die Kontrolle, die restlichen Lockmischungen nicht. grün= Negativkontrolle, lila= Stoffgruppen des Kürbisblütenduft, blau= Varianten der ungarischen Lockmischung, orange= Kürbismischung vollständig und ohne DMB. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac:Aceton, Terp: Terpene, MA: Methoxylierte Aromaten, N_MA: Nichtmethoxylierte Aromaten, PhPr: Phenylpropanoide, S_Sub: Stickstoffhaltige Substanzen, UMix: Ungarnmischung, Kürbis ohne DMB: vollständige Kürbismischung ohne 1,4-Dimethoxybenzol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 4

Im Zuge dieses Experimentes wurden insgesamt 10602 WMB gefangen, mit deutlichen Unterschieden in der Lockwirkung der verschiedenen Düfte/Duftmischungen (Kruskal-Wallis ANOVA $\chi^2_{11,120} = 103,55$; $p < 0,001$). Am attraktivsten war die ungarische Mischung (Umix) + Phenylpropanoide (PhPr), welche im Median 255 Tiere anlockte (Abbildung 41). Bis auf Umix+N_MA (158 WMB) lockten alle andern Mischungen weniger Tiere an. Mit zwischen 12 und 40 angelockten Käfern waren Ac, Terp, MA, N_MA und S_Sub am wenigsten Attraktiv. Die anderen Mischungen hatten eine intermediäre Lockwirkung (75 bis 119 angelockte WMB), wobei interessant ist, dass durch Zugabe von N_MA zu den Phenylpropanoiden die Attraktivität der letzteren reduziert wurde, die Lockwirkung der ungarischen Mischung durch Zugabe von N_MA unverändert blieb, und 1,4-Dimethoxybenzol keine Lockwirkung innerhalb der Kürbismischung hatte. Interessant ist auch, dass die Phenylpropanoide (PhPr) allein genauso attraktiv waren wie die vollständige Kürbismischung und auch wie die Ungarnmischung.

Experiment 2_2020: Geschlechterverhältnis der angelockten WMB

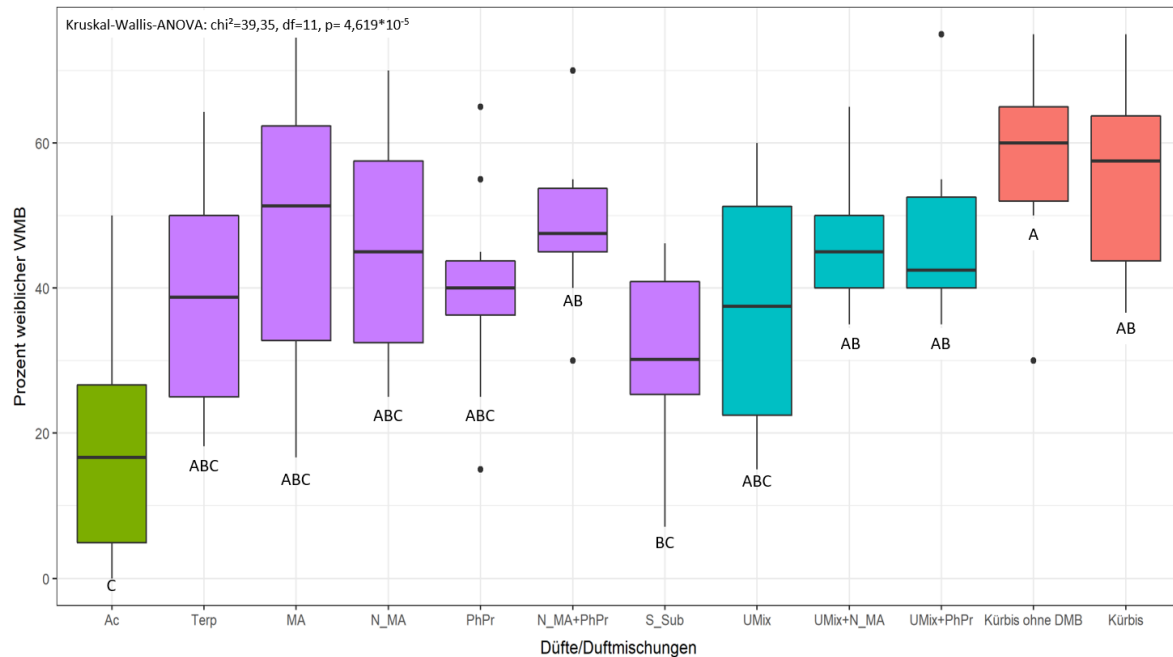


Abbildung 42: Prozent weiblicher WMB in Experiment 2_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). Kürbis ohne DMB hat im Vergleich zur Negativkontrolle deutlich mehr Weibchen angelockt als Männchen. Bei allen anderen wurde eine mittelmäßige Spezifität für weibliche Käfer beobachtet. grün= Negativkontrolle, lila= Stoffgruppen des Kürbisblütenduft, blau= Varianten der ungarischen Lockmischung, orange= Kürbismischung vollständig und ohne DMB. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac: Aceton, Terp: Terpene, MA: Methoxylierte Aromaten, N_MA: Nichtmethoxylierte Aromaten, PhPr: Phenylpropanoide, S_Sub: Stickstoffhaltige Substanzen, UMix: Ungarnmischung, Kürbis ohne DMB: vollständige Kürbismischung ohne 1,4-Dimethoxybenzol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 4

Zur Ermittlung des Geschlechterverhältnisses wurden 2219 Tiere auf ihr Geschlecht untersucht, 1259 davon waren Männchen, 960 Weibchen. Das Geschlechterverhältnis war zwischen den verschiedenen Düften/Duftmischungen verschieden (Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{11,120} = 39,35$; $p < 0,001$). Kürbis ohne DMB hat mit 60% relativ mehr Weibchen angelockt als Aceton mit 17% und S_Sub mit 30%. Die von allen anderen Lockmischungen angelockten Käfer hatten mit knapp 40% bis knapp 60% ein intermediäres Geschlechterverhältnis (Abbildung 42).

Experiment 2_2020: Extrapolierte Anzahl angelockter weiblicher WMB

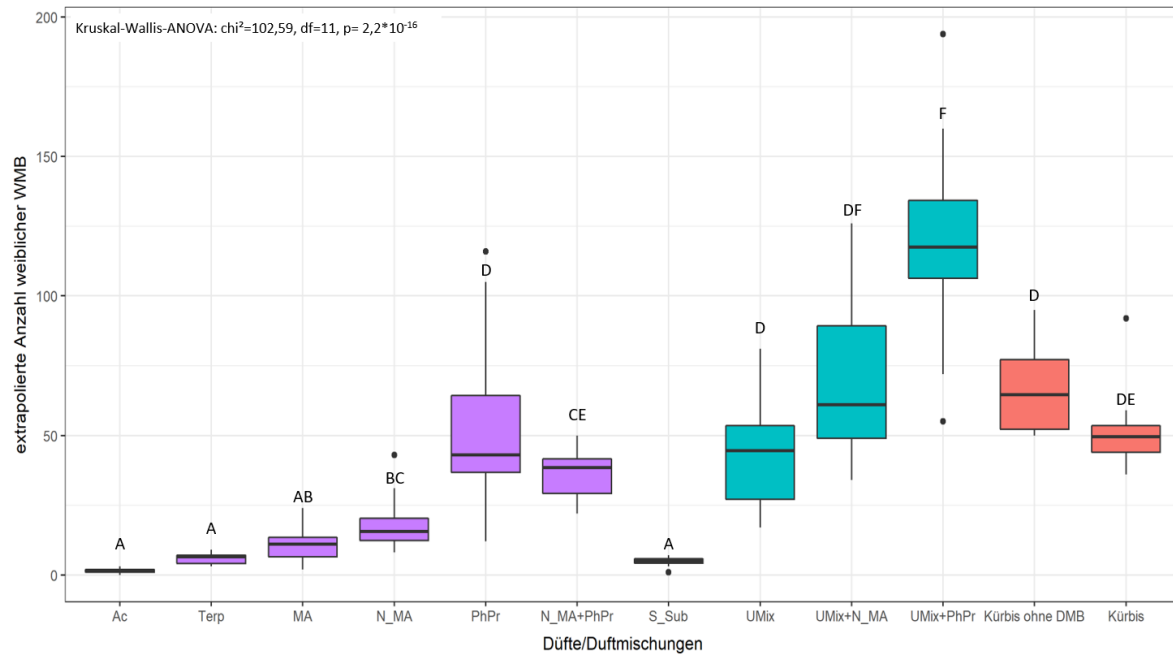


Abbildung 43: Extrapolierte Anzahl weiblicher WMB in Experiment 2_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). Die UMix+PhPr-Mischung konnte die höchste Zahl an Weibchen anlocken, bis auf UMix+N_MA lockten alle anderen Mischungen signifikant weniger Weibchen an. Ac, Terp, MA und S_Sub waren an wenigsten attraktiv für weibliche WMB. Die restlichen Lockmischungen hatten eine intermediäre Lockwirkung. grün= Negativkontrolle, lila= Stoffgruppen des Kürbisblütenduft, blau= Varianten der ungarischen Lockmischung, orange= Kürbismischung vollständig und ohne DMB. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac:Aceton, Terp: Terpene, MA: Methoxylierte Aromaten, N_MA: Nichtmethoxylierte Aromaten, PhPr: Phenylpropanoide, S_Sub: Stickstoffhaltige Substanzen, UMix: Ungarnmischung, Kürbis ohne DMB: vollständige Kürbismischung ohne 1,4-Dimethoxybenzol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 4

Entsprechend der Ergebnisse für die Gesamtzahl der angelockten Käfer, waren die verschiedenen Duftmischungen auch verschieden attraktiv für die hochgerechnete Anzahl der Weibchen (KW-ANOVA $\chi^2_{11,120} = 102,24$; $p < 0,001$), mit den gleichen Effekten bei den paarweisen Vergleichen (Abbildung 43). Die UMix+PhPr-Mischung konnte die höchste Zahl an Weibchen (118) anlocken. Bis auf UMix+N_MA (61) lockten alle anderen Mischungen signifikant weniger Weibchen an. Die Aceton-Kontrolle (2), Terp, MA, und S_Sub waren mit fünf bis 11 gefangenen Individuen am wenigsten attraktiv für die weiblichen WMB. Die restlichen Stoffe hatten eine intermediäre Lockwirkung auf die Weibchen (16 – 65 angelockte weibliche WMB). Interessant ist, dass durch die Zugabe der Phenylpropanoide (PhPr) aus der Kürbisblütenduftmischung die Lockwirkung des Ungarnmixes deutlich

gesteigert werden konnte. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Phenylpropanoide allein getestet ebenso viele Weibchen anlocken konnten als der Ungarnmix und die gesamte Kürbismischung. Außerdem zeigen die Ergebnisse, dass 1,4-Dimethoxybenzol keinen signifikanten Effekt auf die Fängigkeit weiblicher Käfer innerhalb der Kürbismischung ausgeübt hat.

Experiment 3_2020: Anzahl angelockter WMB

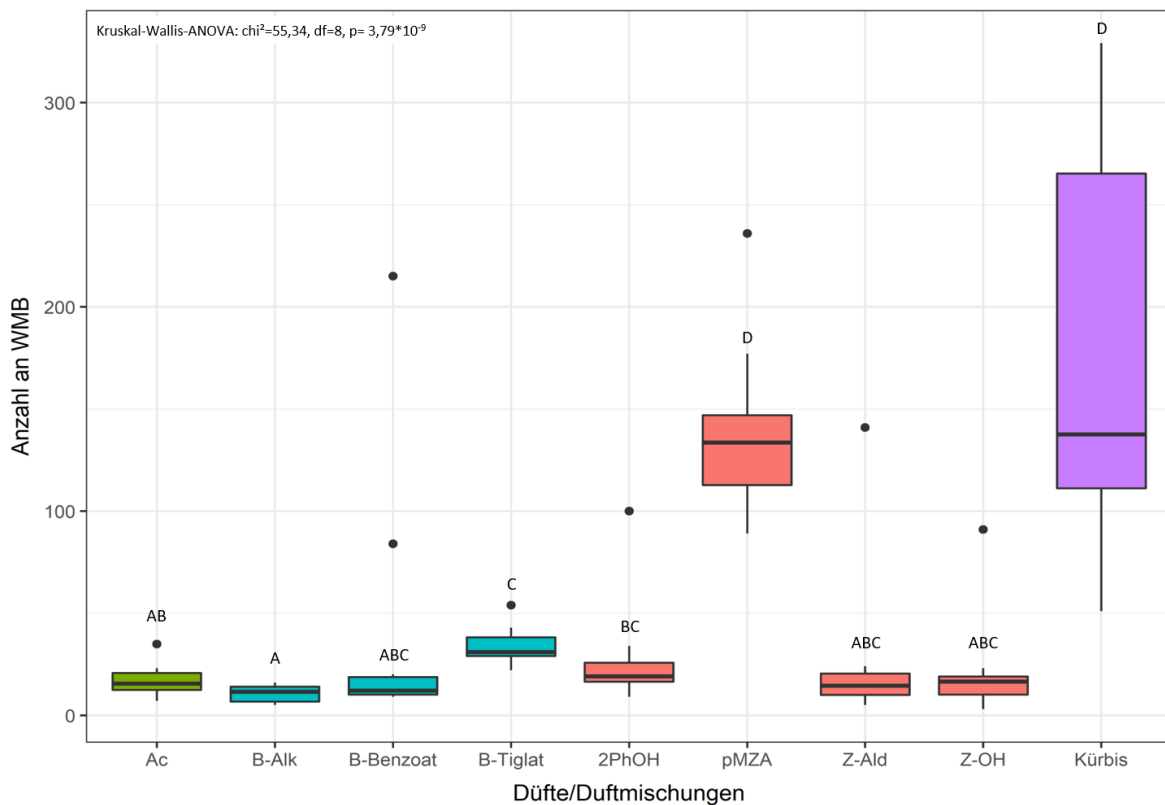


Abbildung 44: Anzahl der gefangenen WMB in Experiment 3_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). pMZA und Kürbis waren deutlich attraktiver als alle anderen Lockstoffe, wobei nur noch B-Tiglat sich von der Kontrolle unterschied. grün= Negativkontrolle, blau= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe N_MA (siehe Experiment2), orange= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe PhPr (siehe Experiment2), lila= vollständige Kürbisblütenduftmischung. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac: Aceton, B-Alk: Benzylalkohol, B-Benzoat: Benzylbenzoat, B-Tiglat: Benzyltiglat, 2PhOH: 2-Phenylethanol, pMZA: (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, z-Ald: (*E*)-Zimtaldehyd, z-OH: (*E*)-Zimtalkohol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 5

Bei diesem Experiment wurden gesamt 4432 WMB angelockt, wobei die neun getesteten Duftmischungen sehr unterschiedlich attraktiv für die Käfer waren (Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{8,90} = 55,34$; $p < 0,001$). Das (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd (pMZA) sowie die Kürbismischung waren gleich attraktiv und lockten mit im Median je ca. 135 Tieren deutlich mehr Käfer an als alle anderen Lockstoffproben (Abbildung 44). Bis auf Benzyltiglat (B-Tiglat), das mit 31 Käfern im Median geringfügig mehr Käfer anlockte als die Aceton-Negativkontrolle (15,5), hatten die anderen Lockstoffproben sogar keine nachweisbare Lockwirkung. Dieses Ergebnis ist sehr interessant, da es zeigt, dass (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd die gesamte Lockwirkung der Kürbismischung zu erklären scheint und die restlichen darin enthaltenen Stoffe keinen Beitrag zur Lockwirkung leisten, auch wenn Benzyltiglat eine schwache Lockwirkung hat, wenn es allein getestet wird und die vollständige Kürbismischung öfter mehr als 150 Käfer anlockte als (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd.

Experiment 3_2020: Geschlechterverhältnis der angelockten WMB

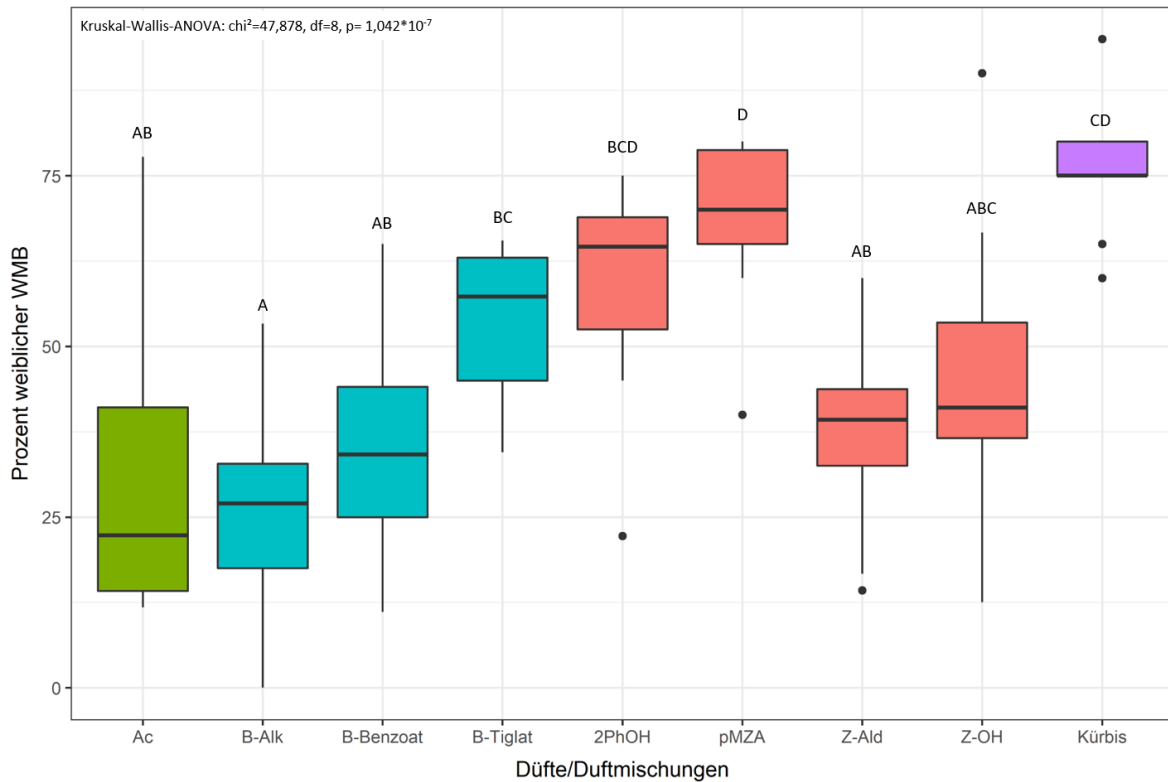


Abbildung 45: Prozent weiblicher WMB in Experiment 3. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). pMZA und Kürbis lockten deutlich spezifischer weibliche Käfer an als alle anderen Lockstoffe, welche sich nicht von der Kontrolle unterschieden. grün= Negativkontrolle, blau= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe N_MA (siehe Experiment2), orange= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe PhPr (siehe Experiment 2_2020), lila= vollständige Kürbisblütenduftmischung. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac: Aceton, B-Alk: Benzylalkohol, B-Benzooat: Benzylbenzoat, B-Tiglat: Benzyltiglat, 2PhOH: 2-Phenylethanol, pMZA: (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, z-Ald: (*E*)-Zimtaldehyd, Z-OH: (*E*)-Zimtalkohol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 5

Im Zuge dieser Analyse wurden 1516 WMB auf ihr Geschlecht untersucht, davon waren 727 Männchen und 789 Weibchen. Die Geschlechterverhältnisse bei diesem Experiment sind zwischen den Lockmischungen recht unterschiedlich (Abbildung 45). Zwei der getesteten Düfte haben bevorzugt weibliche Käfer angelockt: die Kürbismischung (75% weibl. WMB) und das (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd (70% weibliche WMB). Die restlichen Duftmischungen (27% - 65% weibliche Käfer) konnten statistisch gesehen nicht bevorzugter Weibchen anlocken als die Aceton-Negativkontrolle (22% weibliche WMB).

Experiment 3_2020: Extrapolierte Anzahl angelockter weiblicher WMB

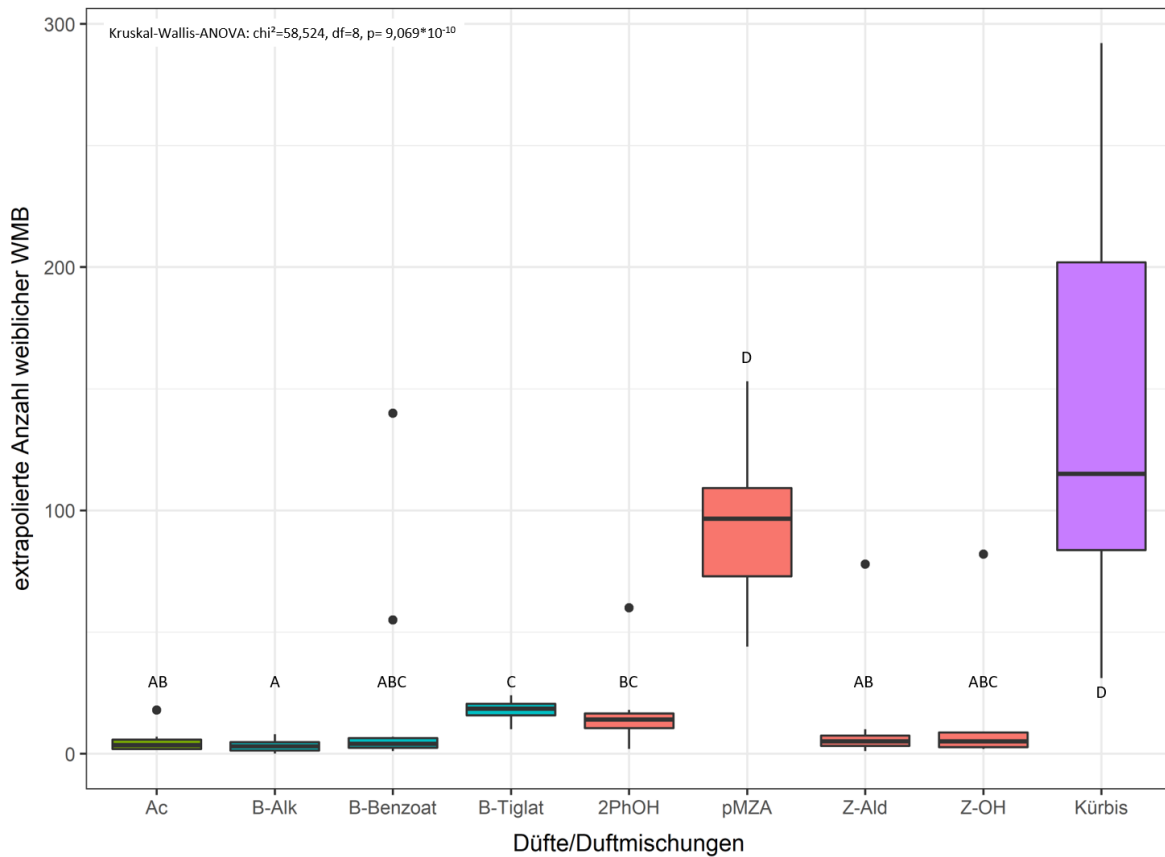


Abbildung 46: Extrapolierte Anzahl weiblicher WMB in Experiment 3_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). pMZA und Kürbis waren lockten deutlich mehr Weibchen an als alle anderen Lockstoffe, wobei nur noch B-Tiglat unbedeutend mehr Weibchen anlockte als die Negativkontrolle. grün= Negativkontrolle, blau= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe N_MA (siehe Experiment2), orange= Einzelsubstanzen der Stoffgruppe PhPr (siehe Experiment2), lila= vollständige Kürbisblütenduftmischung. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac: Aceton, B-Alk: Benzylalkohol, B-Benzoat: Benzylbenzoat, B-Tiglat: Benzyltiglat, 2PhOH: 2-Phenylethanol, pMZA: (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, z-Ald: (*E*)-Zimtaldehyd, Z-OH: (*E*)-Zimtalkohol, Kürbis: vollständige Kürbismischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 5

Die extrapolierten Daten zeigen, dass es auch starke Unterschiede zwischen den Lockmischungen in der Anlockung der Weibchen gibt (KW-ANOVA $\chi^2_{8,90} = 58,52$; $p < 0,001$), wobei wieder nur drei der getesteten Substanzen attraktiver waren als die Aceton-Negativkontrolle (Abbildung 46). Am attraktivsten auch für die Weibchen waren wieder (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd (97) und die vollständige Kürbismischung (115), mit deutlichem Abstand gefolgt von Benzyltiglat (18).

Experiment 4_2020: Anzahl angelockter WMB

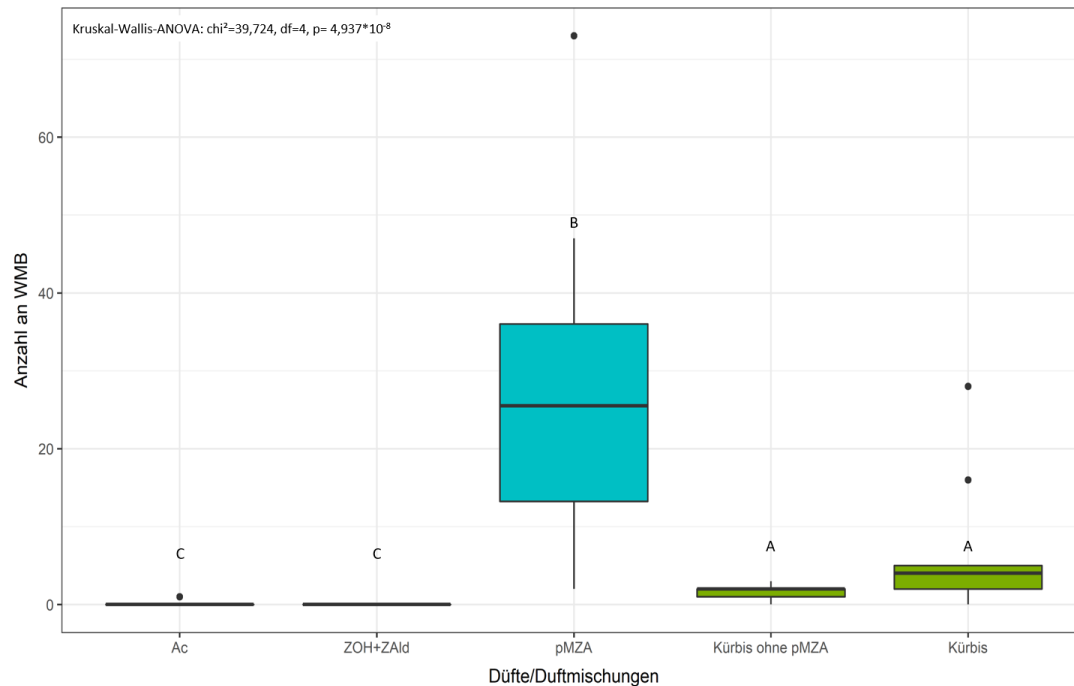


Abbildung 47: Anzahl der gefangenen WMB in Experiment 4_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). pMZA konnte deutlich mehr Käfer anlocken als die anderen Duftstoffmischungen. Die beiden Kürbismischungen lockten nur wenig mehr als die Kontrolle und bei ZOH+ZAlD konnte keine Lockwirkung festgestellt werden. orange= Negativkontrolle, lila= ZOH+ZAlD, blau=pMZA, grün=Kürbisblütenduft ohne pMZA und vollständig. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Ac:Aceton, ZOH+ZAlD: (*E*)-Zimtalkohol + (*E*)-Zimtaldehyd, pMZA: (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, Kürbis ohne pMZA: vollständige Kürbisduftmischung ohne (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, Kürbis: vollständige Kürbisduftmischung; für detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 6

Bei diesem Experiment war die Hauptflugzeit der Tiere wohl schon vorbei, was sich in den niedrigen Fangzahlen widerspiegelt (gesamt 365 WMB). Dennoch konnten Unterschiede in der Attraktivität der verschiedenen Lockstoffproben beobachtet werden (Kruskal-Wallis-ANOVA: $\chi^2_{4,50} = 39,72$; $p < 0,001$). Das (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd (pMZA) hat mit 26 Käfern im Median mehr als das fünffache der anderen Duftmischungen angelockt (Abbildung 47). Die Mischung aus (*E*)-Zimtalkohol und (*E*)-Zimtaldehyd (ZOH+ZAlD) konnte nicht mehr Käfer anlocken als die Negativkontrolle mit Aceton. Die vollständige Kürbismischung (4 WMB) und die Kürbismischung ohne pMZA (2 WMB), hatten eine intermediäre Fangleistung. Bemerkenswert ist, dass in diesem Experiment die Kürbismischung nur sehr wenige Tiere angelockt hat im Vergleich zu (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, obwohl diese Substanz in beiden Lockstoffproben in der gleichen absoluten Menge enthalten war.

Experiment 5_2020: Anzahl angelockter WMB

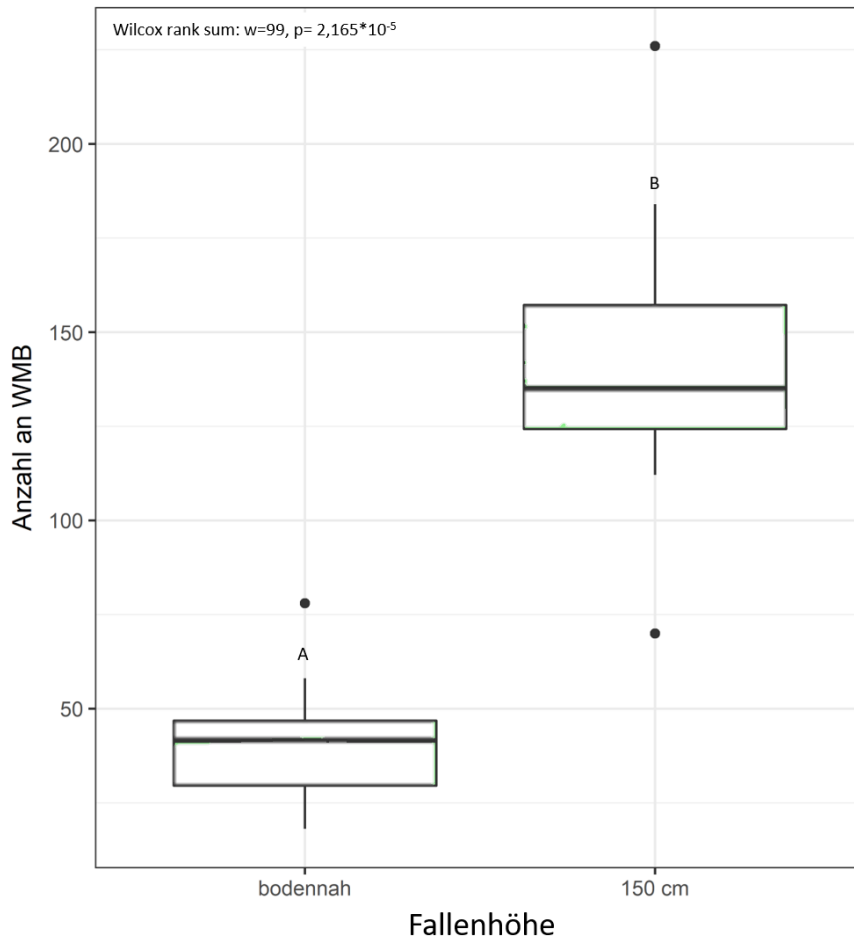


Abbildung 48: Anzahl der gefangenen WMB in Experiment 5_2020. Verschiedene Großbuchstaben über den Plots geben signifikante Unterschiede an (Kruskal-Wallis-ANOVA mit anschließendem nichtparametrischen Tukey-Test). Fallen auf 150cm Höhe konnten deutlich mehr Käfer fangen als Fallen in Bodennähe. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer

Gesamt wurden für diesen Versuch 1825 Käfer ausgezählt, wobei sich die Anzahl der Käfer zwischen den Fallenhöhen signifikant unterschied (Wilcox rank sum: $w=99$, $p < 0,001$). Werden die Fallen auf einer Höhe von ca. 150 cm angebracht, ist der Fangerfolg fast dreimal so hoch (Abbildung 48). Dies liegt vermutlich an der stark erhöhten Auffindbarkeit der Fallen für die Käfer, verglichen mit den Fallen unter den Blättern. Eine wichtige Rolle könnte auch die unterschiedliche Besonnung sein, welche ebenfalls auf den höher angebrachten Fallen stärker war. Die Ausbringung des Lockstoffes als Teil eines Attract-and-Kill-Systems mittels Drohne oder Stelzentraktor erscheint daher als besonders geeignet, da das Material bei diesen Ausbringungssystemen vor allem an den obersten Blättern der Maispflanzen haften bleibt.

4.3.4 Feldexperimente 2021:

Versuche zur Überprüfung der Reichweite des Kürbisduftgemisches 2021

Distanzversuch 1: Anzahl angelockter WMB

Der Abbau der Falle erfolgte am nächsten Tag um 11 Uhr. Zu diesem Zeitpunkt war allerdings nur ein einzelner *Diabrotica*-Käfer (unten links, männlich) in der Falle gelandet. Die farbliche Markierung war leider nicht feststellbar. Im Beifang waren 9 Florfliegen und eine Wanze zu finden.

Die geringe Wiederfangquote wurde auf zu große Abstände zwischen den Freilassungspunkten und der Falle zurückgeführt. Es konnte außerdem nicht ausgeschlossen werden, dass die niedrige Wuchshöhe der Soja im Vergleich zum Mais einen negativen Einfluss auf die Fortbewegung der *Diabrotica*-Käfer hatte. Daher wurde entschieden, die folgenden Versuche in Maisbeständen und mit geringeren Distanzen zwischen den Aerarien und der Falle durchzuführen.

Distanzversuch 2: Anzahl angelockter WMB

Bereits während der 15 Minuten, die die Käfer zum Verlassen der Käfige benötigten, waren die ersten Käfer auf den Klebefallen gelandet. Dabei handelte es sich um Käfer aus dem Aerarium, das in einer Entfernung von 0,5 m (weiß) von der Falle entfernt stand, sowie um unmarkierte Käfer, die sich bereits im Feld befanden. Sieben Stunden nach der Freilassung der markierten Käfer erfolgte eine erste Erhebung der Fangzahlen auf den Klebeflächen der Falle. Zu diesem Zeitpunkt waren 9 Käfer aus 0,5 m Distanz (weiß), 2 Käfer aus 1 m Distanz (rosa) und 10 unmarkierte Käfer aus der Versuchsfläche in der Falle gelandet. Aufgrund des schlechten Wetters und der damit verbundenen ungünstigen Flugbedingungen für die Käfer, erfolgte erst drei Tage nach der Freilassung der markierten Käfer der Abbau der Falle und die endgültige Auswertung. Die Falle wurde am 23.8.2021 um 15 Uhr abgebaut und die Anzahl der Käfer erhoben. Einer der Käfer (weiß) dürfte übers Wochenende aus eigener Kraft, oder durch den Regen, von der Klebetafel auf das Befestigungsgestänge gelangt sein und ist dort verendet; er wurde jedoch mitgezählt. Im Vergleich zur ersten Auswertung nach 7 h war über das Wochenende nur ein weiteres Exemplar aus einer Entfernung von 1 m hinzugekommen, sowie ein weiterer unmarkierter Käfer aus der Versuchsfläche. Das bedeutet, dass von jeweils 50 Stück insgesamt neun Käfer (18%) aus 0,5 Metern Entfernung und drei von 1 m Entfernung (6%) gefangen wurden.

Die Geschlechterverteilung der markierten Käfer war gleich (jeweils 6 Individuen). Bei den unmarkierten Käfern überwiegte dagegen eindeutig der weibliche Anteil mit nur 2 Männchen und 23 Weibchen. Insgesamt wurden also 8 Männchen und 27 Weibchen gefangen. Die vertikale Verteilung zeigt keine signifikanten Unterschiede. Es wurden 5 Männchen auf den oberen und 3 Männchen auf den unteren Tafeln gefangen. Bei den Weibchen waren es 13 oben und 16 unten. Horizontal gab es eine Tendenz zur linken Seite hin. 2 Männchen und 20 Weibchen wurden auf der linken Seite gefunden, verglichen mit 6 Männchen und 9 Weibchen auf der rechten Seite (Tabelle 11). Die Ergebnisse des Versuchs im Maisfeld weisen darauf hin, dass die Käfer etwa aus einer Distanz von einem Meter angelockt werden. Die Ausbringung des Lockstoffes als Teil eines Attract-and-Kill-Systems sollte daher so erfolgen, dass die Tröpfchen in Abständen von etwa einem Meter zueinander ausgebracht werden, um einen möglichst großen Anteil der Käferpopulation im Feld zu erreichen.

Distanzversuch 3: Anzahl angelockter WMB

Bei einer Kontrolle am ersten Tag um 17:15 Uhr wurden bereits zwei weiße Exemplare (0,5 m) und sieben unmarkierte Exemplare gezählt. Ein zuerst als grün identifiziertes Exemplar (2 m) konnte bei der Endauswertung nicht mehr aufgefunden werden.

Die zwei weißen Exemplare waren beides Männchen, eines oben rechts und eines unten links auf den Klebetafeln. Die restlichen 16 Individuen waren Großteils Weibchen. Drei oben links, sechs oben rechts, drei unten links und zwei unten rechts. Des Weiteren wurden 2) Käfer als Männchen identifiziert, jeweils eines unten links und unten rechts (Tabelle 11). Allgemein war die Flugaktivität wesentlich geringer. Auch fand der Versuch aufgrund niedrigerer Temperaturen (15 °C) und hoher Feuchte (taunasse Blätter) unter etwas anderen Umständen statt als der Vorhergehende. Die Flugaktivität und des Westlichen Maiswurzelbohrers nimmt mit sinkender Lufttemperatur ab. Aufgrund der, laut Wetterbericht gleichbleibenden Wetterlage in den Tagen nach Beendigung dieses Versuches, wurde auf eine weitere Wiederholung verzichtet.

Tabelle 11: Übersicht über die Fänge und Distanzen bei den drei Distanzversuchen. Verteilung von markierten Käfern bzw. Geschlechterverteilung bezieht sich auf die 4 einzelnen Klebetafeln bei Frontalansicht. M: Männchen, W: Weibchen

Versuch	V6		V7		V8	
Ort	Großnondorf		Wien, Spargelfeld		Wien, Spargelfeld	
Kultur	Soja		Mais		Mais	
Zeitpunkt	26.7. - 27.7.2021		20.08.-23.08.2021		7.9. - 10.9.2021	
Fang	5 m	0	0,5 m	9	0,5 m	2
	10 m	0	1 m	3	1 m	0
	20 m	0	2 m	0	1,5 m	0
	50 m	0	5 m	0	2 m	0
	100 m	0	10 m	0	2,5 m	0
	unmark.	1	unmark.	25	unmark.	16
Geschlecht	mark. M	1	mark. M	6	mark. M	2
	mark. W	0	mark. W	6	mark. W	0
	unmark. M	0	unmark. M	2	unmark. M	2
	unmark. W	0	unmark. W	23	unmark. W	14

4.4 Effizienz des neu entwickelten „Attract-and-Kill“-Systems bei der Reduzierung des Westlichen Maiswurzelbohrers

4.4.1 Käferbefall an Maiswurzeln

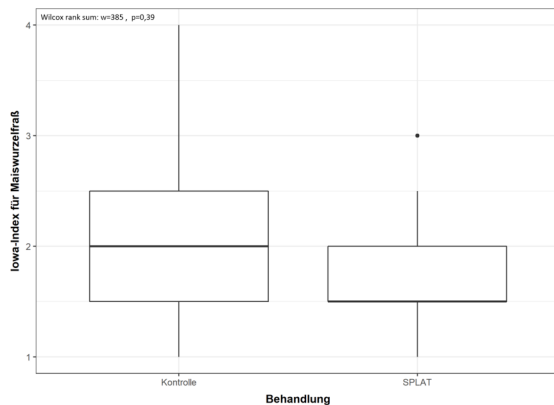


Abbildung 49: IOWA-Index zur Bestimmung des Larvendrucks auf den Bereichen der SPLAT®-Fläche 1

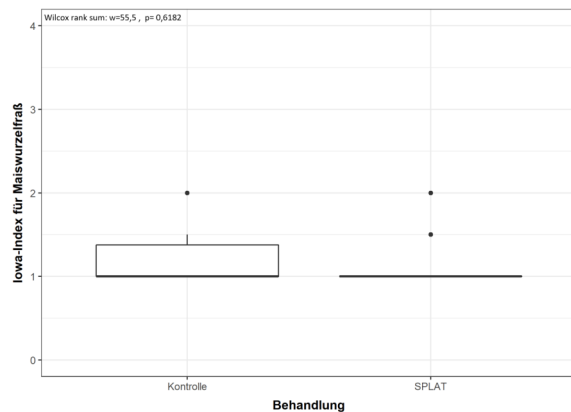


Abbildung 50: IOWA-Index zur Bestimmung des Larvendrucks auf den Bereichen der SPLAT®-Flächen 2

Auf der Fläche 1 in Bad Radkersburg wurden bei den meisten Wurzelstöcken zumindest geringfügige Fraßspuren gefunden (Abbildung 49). In zwei Fällen wurden auf der Kontrollfläche sogar ein Schadbild der Kategorie 4 (ein kompletter Ring von Wurzeln oder dessen Äquivalent zerstört) festgestellt. Im Schnitt war der Schaden gemäß IOWA-Index (Tabelle 9) jedoch 2,2 bei der Kontrolle und mit 1,74 bei der SPLAT®-Fläche etwas geringer. Statistische Analysen ergaben jedoch keinen signifikanten Unterschied (Wilcoxon rank sum: $w=385$, $p=0,39$) zwischen den Teilflächen.

Die Auswertung ergab ein etwas anderes Bild für die Fläche 2 in St. Martin im Sulmtal (Abbildung 50). Dort wiesen die meisten Wurzelstöcke keine Fraßspuren auf und Schaden der Kategorie 2 wurde nur drei Mal gefunden. Im Schnitt war der Schaden auf der Kontrollfläche 1,25 und auf der SPLAT®-Fläche 1,15. Auch hier wurde kein signifikanter Unterschied (Wilcoxon rank sum: $w=55,5$, $p=0,62$) zwischen den Teilflächen gefunden. Da insgesamt keine statistisch nachweisbaren Unterschiede im Wurzelfraß zwischen den Kontroll- und SPLAT® gefunden wurden, mussten keine Unterschiede beim Larvenbestand bei der Auswertung der Eklektordaten berücksichtigt werden.

4.4.2 Auswertung der SPLAT® Freilandversuche

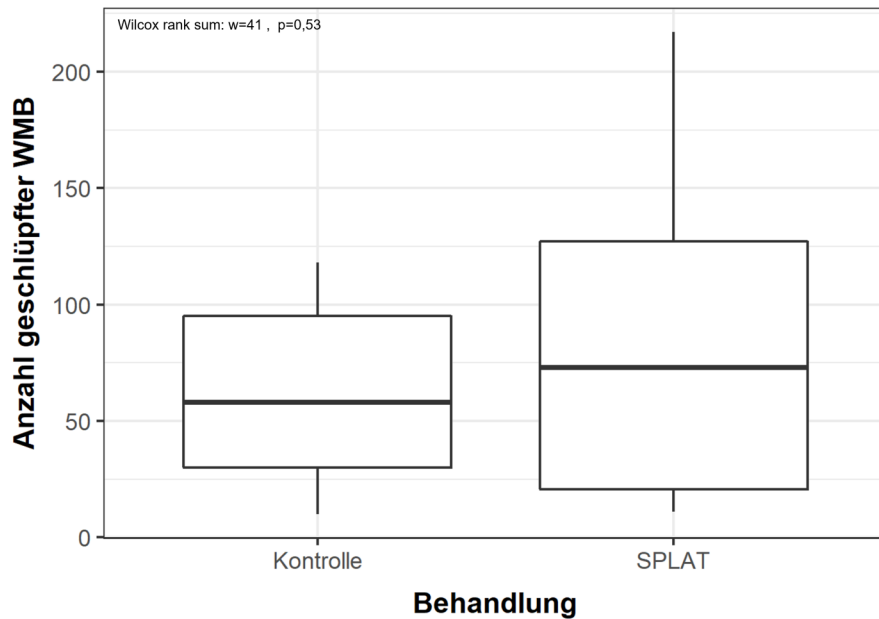


Abbildung 51: Anzahl der geschlüpften WMB aus den Eklektoren der Versuchsfläche in Bad Radkersburg. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile und die Spanne. Auf beiden Flächentypen wurde eine statistisch gleiche Anzahl an Käfern gefangen

Auf der Versuchsfläche in Bad Radkersburg wurden insgesamt 612 Käfer in den Eklektoren der Kontrollfläche und 897 Käfer in den Eklektoren der mit SPLAT® behandelten Fläche gezählt. Das Minimum in der Kontrolle waren 10 Käfer und das Maximum 118 Käfer pro Eklektor. In der mit SPLAT® behandelten Fläche war das Minimum 11 Käfer und das Maximum 217 Käfer pro Eklektor. Der Median lag in der SPLAT®-Variante mit 73 Käfern über der Kontrolle, wo er bei 58 Käfern lag. Die statistischen Analysen ergaben jedoch keinen signifikanten Unterschied (Wilcox rank sum: w=41, p=0,53) zwischen den Behandlungsvarianten (Abbildung 51).

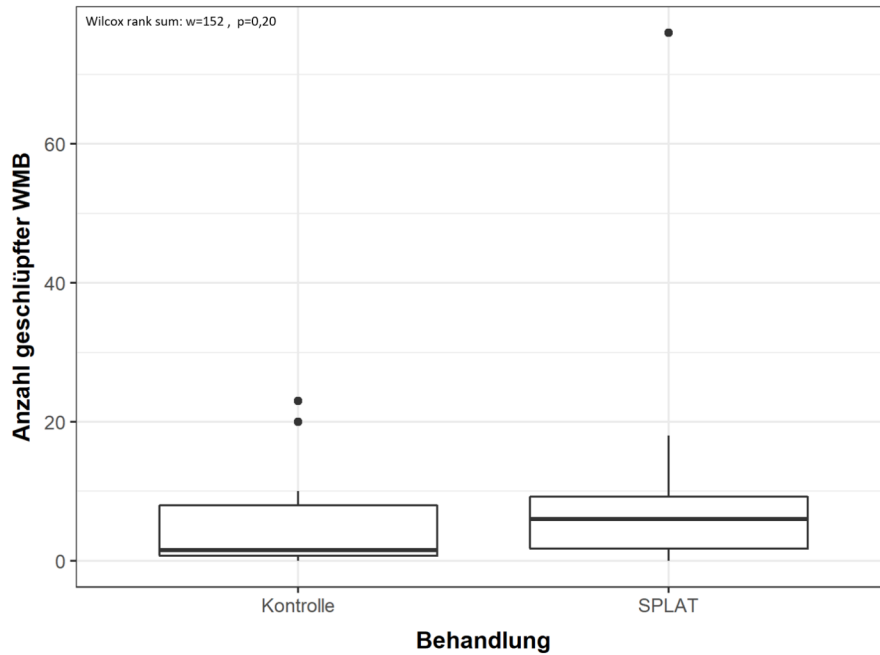


Abbildung 52: Anzahl der geschlüpften WMB aus den Eklektoren der Versuchsfläche in Sankt Martin im Sulmtal. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Auf beiden Flächentypen wurde eine statistisch gleiche Anzahl an Käfern gefangen

Auf der Versuchsfläche in Sankt Martin im Sulmtal wurden 93 Käfer in den Eklektoren der Kontrollfläche und 186 Käfer in den Eklektoren der mit SPLAT® behandelten Fläche gezählt. Das Minimum in der Kontrolle waren 0 Käfer und das Maximum 23 Käfer pro Eklektor. In der mit SPLAT® behandelten Fläche war das Minimum 0 Käfer und das Maximum 76 Käfer pro Eklektor. Der Median lag in der SPLAT®-Variante bei 6 Käfern und in der Kontrolle bei 1,5. Die statistischen Analysen ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungsvarianten (Wilcoxon rank sum: $w=152$, $p=0,20$; Abbildung 52).

Trotz der fehlenden statistischen Signifikanz weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die Attraktivität des Lockstoffes zwar gegeben ist (da tendenziell mehr Käfer, in den mit SPLAT® behandelten Flächen gefangen wurden), dass die Käfer vom Insektizid in der Mischung jedoch nicht in ausreichendem Maße beeinträchtigt wurden. Eine Reduktion der Käferpopulation konnte daher durch das SPLAT® auf keiner der drei Versuchsflächen erreicht werden.

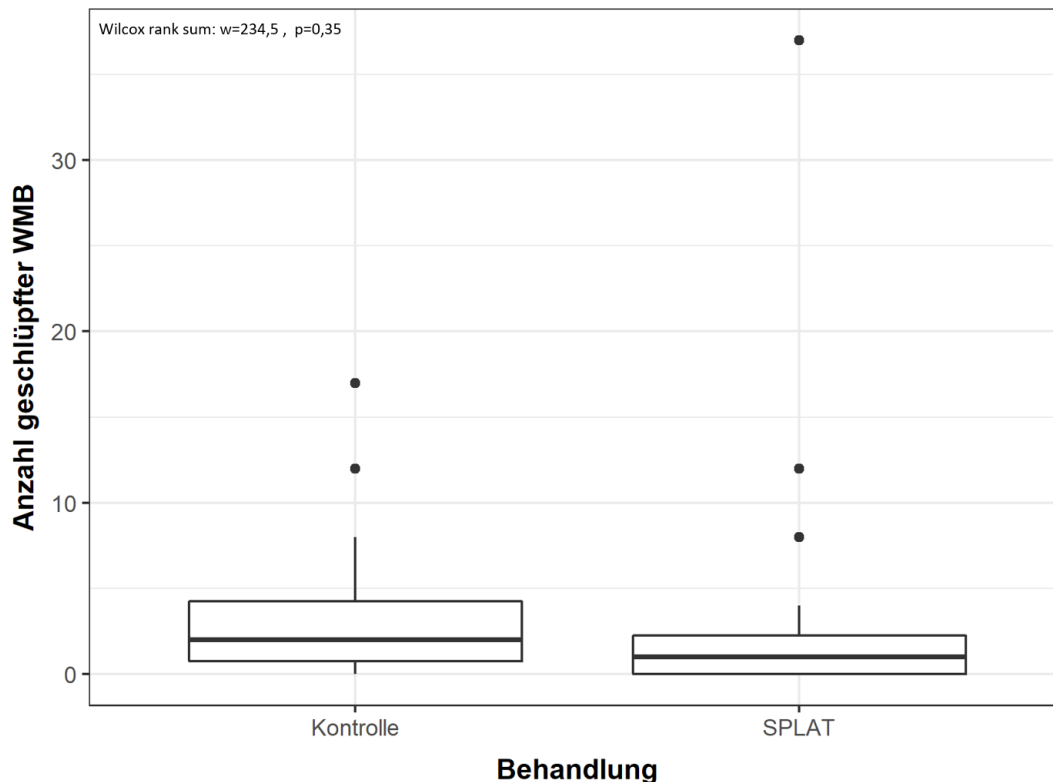


Abbildung 53: Anzahl der geschlüpften WMB aus den Eklektoren, die zwischen der Versuchsfläche in Sankt Martin im Sulmtal und der angrenzenden Maisfläche mit Vorfrucht Ölkürbis aufgestellt waren. In der behandelten Variante wurde, im Jahr vor der Erhebung der Käferzahlen, SPLAT® zwischen der Versuchsfläche und der angrenzenden Kürbisfläche ausgebracht. In der Kontrolle erfolgte keine Behandlung. Angegeben sind jeweils der Median, die Quartile, die Spanne ohne Ausreißer und die Ausreißer. Die Unterschiede der Fangzahlen zwischen den beiden Behandlungsvarianten waren statistisch nicht signifikant

Auf dem Streifen zwischen der Versuchsfläche in Sankt Martin im Sulmtal und der angrenzenden Maisfläche mit Vorfrucht Ölkürbis wurden 75 Käfer in den Eklektoren der Kontrollfläche und 76 Käfer in den Eklektoren der mit SPLAT® behandelten Fläche gezählt. Das Minimum an Käfern pro Eklektor war sowohl in der Kontrolle als auch in der mit SPLAT® behandelten Fläche 0 Käfer. Das Maximum war in der Kontrolle 17 Käfer und in der mit SPLAT® behandelten Fläche 37 Käfer pro Eklektor. Der Median lag in der SPLAT®-Variante bei 2 Käfern und in der Kontrolle bei 1 Käfer pro Eklektor. Die Analysen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsvarianten (Wilcox rank sum: w= 234,5, p=0,35; Abbildung 53).

4.5 Drohnenapplikation

Ingenieure von unserem Kooperationspartner in den USA (ISCA) haben Applikatoren entwickelt, die eine gezielte Ausbringung von SPLAT® mittels Drohnen auf Kulturpflanzen erlaubt. Auch haben sie mehre Drohnen auf deren Brauchbarkeit hin getestet, SPLAT®-Applikatoren zu transportieren. Am überzeugendsten war das Modell DJI MG-1S. Auf Mandelplantagen in Kalifornien konnte mit den entwickelten Systemen erfolgreich ein pheromonbasiertes Mittel gegen den Nachtfalter *Amyelois transitella* in 10 min auf 6 ha ausgebracht werden. Erfolgreich verliefen auch Versuche gegen die Traubenmotte in der Türkei (Abbildung 54,oben). Im Moment arbeitet ISCA an der Optimierung des Applikationssystems (Abbildung 54, unten), unter anderem mit dem Ziel, die Planung der Ausbringung auf dem Feld zu vereinfachen sowie die Flugroute und die Ausbringungsrate des Produkts zu automatisieren. Mittelfristiges will ISCA zeigen, dass die Schädlingsbekämpfung mit Hilfe von Drohnen auf Basis von Semiochemikalien eine gleichwertige oder bessere Schädlingsbekämpfung ermöglicht als die manuelle Anwendung oder das traditionelle Besprühen mit Pestiziden, und zwar zu vergleichbaren Kosten und ohne die negativen Auswirkungen auf die Umwelt. Langfristiges Ziel von ISCA für diese SPLAT®-Drohnen-Technologie ist die Schaffung eines Teils autonomen Schädlingsbekämpfungssystems, in dem Drohnennetzwerke Rückmeldungen von einem drahtlosen Sensornetzwerk auf dem Feld nutzen. Aufgrund der Covid-Pandemie konnte die Ausbringung von SPLAT® gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer mittels Drohne nicht in Österreich umgesetzt werden.



Abbildung 54 Oben: eine Drohne mit zwei SPLAT®-Applikatoren über einen Weinberg in der Türkei bei der Ausbringung von SPLAT® gegen die Traubenmotte. Unten: Ein neueres System erlaubt bereits drei oder vier SPLAT®-Applikatoren zu nutzen. Alle Bilder: ©ISCA

4.6 Schadwirkung des „Attract-and-Kill“-Systems auf Nicht-Zielorganismen

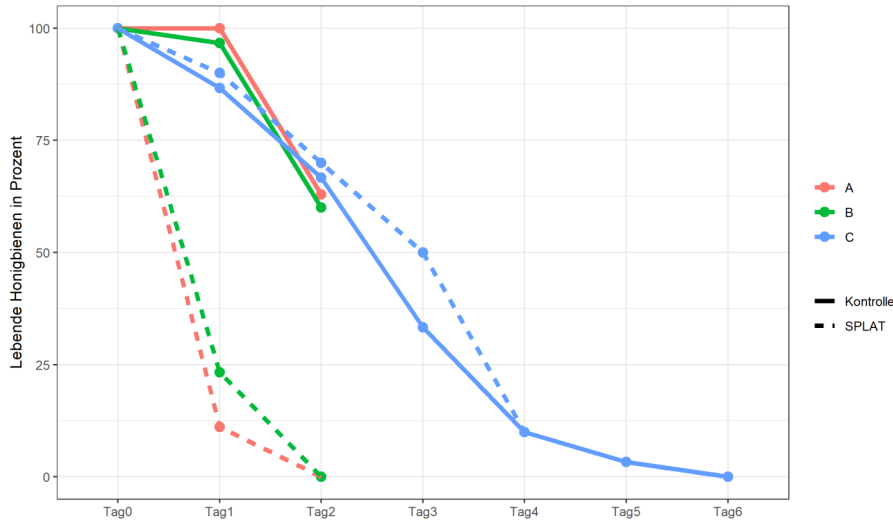


Abbildung 55: Überlebenskurven der Honigbienen (*Apis mellifera*) in Prozent, A= frisches SPLAT® auf die Mandibeln appliziert, B= frisches SPLAT® mit Rüsselausklappreflex getestet, C= angetrocknetes SPLAT® mit Rüsselausklappreflex; unterbrochene Linien zeigen die Ergebnisse der mit SPLAT® behandelten Gruppen, durchgehende Linien jene der Kontrollgruppen

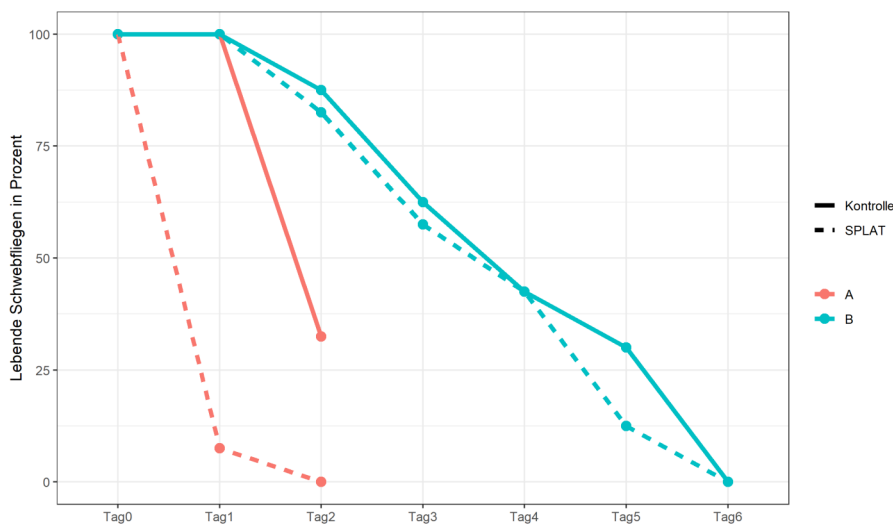


Abbildung 56: Überlebenskurven der Schwebfliegen (*Episyrphus balteatus*) in Prozent, A= frisches SPLAT® mit Rüsselausklappreflex getestet, B= angetrocknetes SPLAT® mit Rüsselausklappreflex, unterbrochene Linien zeigen die Ergebnisse der mit SPLAT® behandelten Gruppen, durchgehende Linien jene der Kontrollgruppen

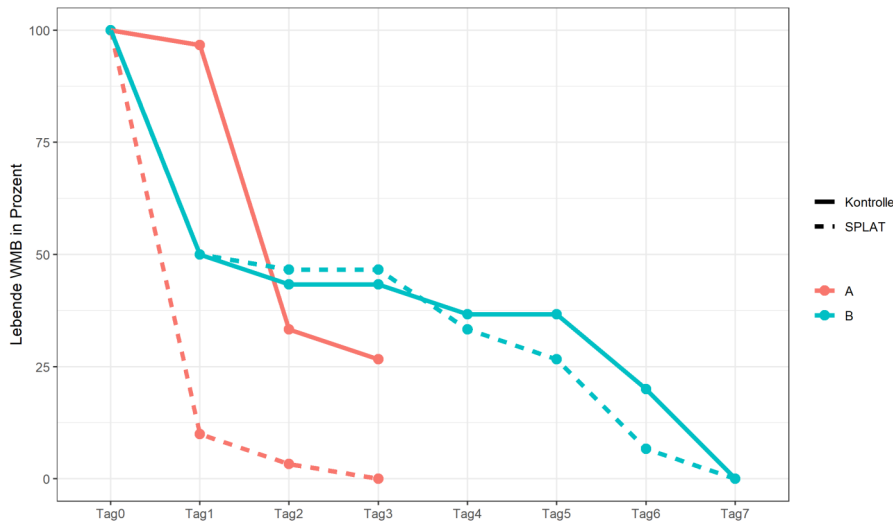


Abbildung 57: Überlebenskurven der WMB in Prozent, A= frisches SPLAT® auf die Mandibeln appliziert, B= angetrocknetes SPLAT® auf die Mandibeln appliziert, unterbrochene Linien zeigen die Ergebnisse der mit SPLAT® behandelten Gruppen, durchgehende Linien jene der Kontrollgruppen

Bei diesem Experiment wurden insgesamt 174 Honigbienen getestet. Bei 27 Tieren wurde das frische SPLAT® auf die Mandibeln appliziert (Abbildung 55, Gruppe A). Hier zeigte sich, dass innerhalb eines Tages 90% der Tiere starben, die meisten innerhalb weniger Stunden. Am Tag 2 waren alle Tiere gestorben. Bei den 27 Tieren aus der Kontrollgruppe haben am Tag 1 noch fast alle Tiere gelebt, am Tag 2 noch ca. 60%. Ein Fisher-Exakt-Test (Tag 2) untermauerte den Unterschied ($p < 0,001$). Insgesamt zeigt das Experiment, dass auf die Mandibeln appliziertes SPLAT® die Lebensdauer der Honigbienen deutlich verringert.

Bei den Tests mit Rüsselausklappreflex wurden 30 Honigbienen mit frischem SPLAT® getestet. Sie zeigten ähnliche starke Reaktionen (Tag 2, Fisher exakt: $p < 0,001$) als Tiere, bei denen die Masse auf die Mandibeln appliziert wurde (Abbildung 55, Gruppe B). Nach einem Tag waren $\frac{3}{4}$ der Individuen verstorben, am zweiten Tag waren alle Tiere der Testgruppe tot. In der Kontrollgruppe waren zu diesem Zeitpunkt noch mehr als die Hälfte der 30 Tiere am Leben (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p < 0,001$). Dieses Experiment zeigt, dass die Lebensdauer auch von Tieren, die ihren Rüssel in eine frische, d.h. noch nicht angetrocknete, SPLAT®-Masse stecken, die Lebensdauer deutlich reduziert ist. Keine erhöhte Mortalität wiesen allerdings Honigbienen (N = 30 Individuen) auf, welche mit ihren Rüsseln eine angetrocknete SPLAT®-Masse berührten. Nach dem zweiten Tag konnte kein Unterschied in der Sterblichkeit nachgewiesen werden (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p = 1$). Sowohl bei der Test- als auch bei der Kontrollgruppe lebten nach regelmäßiger Sterberate manche Tiere bis zum sechsten Tag (Abbildung 55, Gruppe C).

Für die Schwebfliegen tests (*Episyrphus balteatus*) wurden 160 Tiere unter Anwendung des Rüsselausklappreflex getestet, wobei die Hälfte davon Tiere der Kontrollgruppe waren. Ähnlich wie bei den Honigbienen, wiesen Tiere, die ihre Rüssel in das frische SPLAT® steckten, eine höhere Sterblichkeit auf als jene der Kontrolle (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p < 0,001$). In der Testgruppe waren am zweiten Tag alle Tiere tot, während in der Kontrollgruppe nach hoher Sterblichkeit von Tag 1 auf Tag 2 immer noch 32% der Individuen am Leben waren (Abbildung 56 Gruppe A). Die angetrocknete Mischung hatte keinen Einfluss auf die Sterblichkeit der je 40 getesteten Schwebfliegen (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p = 0,76$). Die Sterberaten der Test- und Kontrollgruppen waren über den Zeitraum von sechs Tagen einigermaßen regelmäßig und wichen nur geringfügig voneinander ab (Abbildung 56 Gruppe B). Insgesamt zeigen die Experimente mit den nicht-Zielorganismen, dass sowohl bei den Bienen als auch bei den Schwebfliegen nur das frische SPLAT®, nicht aber eine angetrocknete Masse einen negativen Einfluss auf die Überlebensrate der Tiere hatten. Beim Versuch, von angetrocknetem SPLAT® zu fressen nahmen sie scheinbar keine oder nur eine sehr geringe Menge von dem darin enthaltenen Insektizid auf.

Bei den Experimenten mit dem Maiswurzelbohrer wurden 120 Käfer getestet. 30 Individuen davon wurde frisches SPLAT® auf die Mandibeln gestrichen, worauf 90% innerhalb eines Tages starben. Auch die Kontrolltiere hatten von Tag 1 bis Tag 2 eine sehr hohe Sterblichkeit, diese pendelte sich jedoch bei 25% ein (Abbildung 57 Gruppe A). Die Sterblichkeit der Testgruppe unterschied sich signifikant von jener der Kontrollgruppe (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p < 0,01$). Der Kontakt mit angetrocknetem SPLAT® hatte keinen Effekt auf die Überlebensrate (Abbildung 57 Gruppe B) der Testgruppe im Vergleich zur Kontrolle (Tag 2, Fisher-Exakt-Test: $p = 1$).

5 Zusammenfassung, Diskussion und Ausblick

Im ersten Projektjahr konnte der Duft von fünf häufigen Ölkürbissorten (Classic, Gleisdorfer, Inka, Rustika, Venus) erstmalig analysiert werden (Tabelle 10). Es zeigte sich, dass die Sorten Classic und Inka eine höhere Gesamtduftmenge pro Blüte abgeben als die anderen Sorten (Abbildung 34). Es wurden insgesamt 40 Substanzen festgestellt, darunter viele Aromaten (z.B. Benzylalkohol, 1,4-Dimethoxybenzol, 1,2,4-Trimethoxybenzol), aber auch Verbindungen anderer Stoffklassen (z.B. Terpenoide wie Linalool; stickstoffhaltige Verbindungen wie Phenylacetonitril). Mengenmäßig trug 1,4-Dimethoxybenzol den mit Abstand größten Anteil zum Bouquet bei. Im Vergleich der Kürbissorten zeigte sich, dass die Sorte Venus Unterschiede im Duftmuster aufwies. Sie enthielt eine höhere Anzahl an Duftstoffen und wies deutlich höhere Anteile der Stoffe (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd und 4-Methoxybenzenpropanol, sowie damit verbunden einen verringerten relativen Anteil von 1,4-Dimethoxybenzol am Gesamtduft auf. Viele der in dieser Arbeit nachgewiesenen Substanzen war bisher noch nicht als Blütenduft von *Cucurbita*-Arten bekannt, wie z.B. 4-Oxoisophonon, Phenylacetonitril und (*E*)-*p*-Methoxycinnamaldehyd, während andere Substanzen wie das 1,4-Dimethoxybenzol weit verbreitet im Blütenduft von *Cucurbita* spp. sind (z.B. ANDERSEN et METCALF 1987; FERRARI et al 2006)

Die Zucht der Maiswurzelbohrer für elektrophysiologische Messungen und Verhaltensexperimente im Labor konnte erfolgreich etabliert werden. In ersten elektrophysiologischen Messungen (2019) wurden 5 aktive und drei potenziell aktive Substanzen identifiziert. Weiterführende Messungen (2020) ergaben 12 weitere Kürbisduftstoffe, die vom Westlichen Maiswurzelbohrer erkannt wurden.

Von diesen Substanzen wurden erfolgreich Mischungen hergestellt, die in deren relativen Anteilen die Situation beim Ölkürbis (Sorte Venus) widerspiegeln. Eine erste kürbisduftähnliche Mischung wurde bereits 2019 in Labortests und Feldversuchen mit Klebetafeln erfolgreich getestet und erwies sich als attraktiv. Diese Mischungen wurden im Folgejahr nach weiteren elektroantennographischen Messungen optimiert und im Feld auf die Attraktivität gegenüber WMB und im Speziellen gegenüber weibliche WMB getestet. Die Mischungen enthielten entweder alle Substanzen oder nur einen Teil davon, und auch einzelne Substanzen wurden getestet. Auch eine kommerziell verfügbare Mischung, die sogenannte Ungarnmischung, welche aus (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd und Indol zusammengesetzt ist (TÓTH et al. 2006), haben wir für unsere Verhaltensexperimente verwendet. Wir konnten zeigen, dass die Attraktivität der vollständigen Mischung aus

Kürbisblütendüften unabhängig von der darin enthaltenen Hauptsubstanz, dem 1,4-Dimethoxybenzol, ist. Demgegenüber hat (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, eine Minorkomponente im Blütenduft des Ölkürbis (Tabelle 10), eine zentrale Rolle bei der Anlockung vom WMB gespielt. Dieses Phenylpropanoid hat primär weibliche Käfer angelockt und genauso attraktiv für die WMB wie die vollständige Kürbismischung (Abbildung 44). In einem Experiment hat sie sogar mehr Käfer angelockt als die vollständige Mischung (Abbildung 47). Diese Experimente zeigen, dass (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, welche erstmalig im Blütenduft einer *Cucurbita*-Art nachgewiesen wurde, als Schlüsselkomponente im Blütenduft des Ölkürbis für die Anlockung des WMB zu Blüten verantwortlich ist, und dass einige Substanzen (z.B. nicht methoxylierte Aromaten wie Benzylalkohol oder 2-Phenylethanol; Abbildung 41) im Kürbisblütenduft eine repellente Wirkung auf WMB haben könnten. Interessanter Weise wurde (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd nur in der Sorte Venus nachgewiesen und es bleibt zu testen, ob die anderen Sorten diese Substanz nicht produzieren oder in Mengen, die nicht nachgewiesen werden konnten. Es bleibt daher offen, ob die Blüten von anderen Sorten als Venus ihre Attraktivität auf den Westlichen Maiswurzelbohrer nur aufgrund anderer Substanzen und Substanzgemische haben (z.B. Substanzen in Lockmischung 2019, Abbildung 37; Benzyltiglat, Abbildung 44), oder/und von sehr kleinen Mengen von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd. Die Substanz (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd wurde bereits früher als effizienter Lockstoff für den Westlichen Maiswurzelbohrer identifiziert. Ohne zu wissen, dass (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd natürlich in Kürbisblüten vorkommt, wurde diese Substanz auf der Suche nach möglichen Lockstoffen für *Diabrotica* spp. schon in Amerika getestet, da sie strukturelle Ähnlichkeiten mit Kürbisdüften, wie *p*-Methoxybenzaldehyd und (*E*)-Zinnamaldehyd, hat (METCALF et LAMPMAN 1991).

Die vollständige Kürbismischung hat gleich viele Käfer angelockt wie die ungarische Mischung (Indol + (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd, siehe METCALF et al. 1995), wobei die Attraktivität der letzteren durch Zugabe von kürbisspezifischen Phenylpropanoiden, in denen (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd enthalten war, bedeutend gesteigert werden konnte (Abbildung 41). Es scheint somit so zu sein, dass eine Erhöhung der Menge von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd zu einem besseren Fangergebnis führt. Indol, die Hauptkomponente in der Ungarmischung, scheint keine große Bedeutung bei der Anlockung der Käfer zu haben, was jedoch in weiteren Untersuchungen näher untersucht werden sollte. In einer Studie in Amerika wurde gezeigt, dass Indol die Attraktivität von (*E*)-*p*-Methoxyzimtaldehyd deutlich erhöht (METCALF et al. 1995), was in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden konnte. In einem der Experimente haben wir gelbe anstatt von transparenten Klebefallen verwenden. Dabei ist aufgefallen, dass auch die Negativkontrolle (Aceton) sehr viele Käfer angelockt hat, was bei transparenten Fallen

nicht beobachtet wurde. Dies deutet auf eine hohe Lockwirkung der gelben Farbe auf die Käfer hin, was in der Tat in früheren Studien bereits angedeutet wurde (YOUNGMAN et al. 1996, HESLER et SUTTER 1993). Abschließend konnten wir zeigen, dass die Höhe, auf welcher die Klebefallen auf den Maispflanzen angebracht wurden, deutlichen Einfluss auf den Fangerfolg hatte und Fallen auf 1,5 m effektiver lockten als in Bodennähe. Die Versuche zur Ermittlung jener Distanz, innerhalb derer Diabrotica-Käfer angelockt werden können, wurden durchgeführt, um Anhaltspunkte für die optimale Ausbringung des Lockstoffes als Teil eines Attract-and-Kill-Systems in der Praxis zu erhalten. Da die Lockwirkung bei einem Abstand von einem Meter noch nachweisbar war, sollte die Ausbringung so erfolgen, dass die SPLAT®-Tröpfchen in Abständen von etwa zwei Metern zueinander im Feld verteilt sind. Bei den Freilandversuchen mit SPLAT® konnte jedoch auch festgestellt werden, dass sich die Käfer nahe der Eklektoren akkumulierten. Aufgrund der hohen Käferzahlen war zu vermuten, dass die Diabrotica-Käfer innerhalb eines Zeitraumes von mehreren Wochen auch aus einem größeren Radius angelockt werden. Um die optimale Aufwandmenge und Ausbringungsmethode zu erheben sind daher noch weitere Untersuchungen nötig. Bei den Feldversuchen mit SPLAT® wurden jene 8 Duftstoffe verwendet, die sich im ersten Projektjahr 2019 als physiologisch aktiv erwiesen hatten. Eine Analyse der Wurzelstöcke ergab, dass der Larvendruck zu Beginn der Experimente auf den Test- und Kontrollflächen gleich war und somit ähnliche Grundvoraussetzungen bestanden. Die Ergebnisse der Käferfänge in 100 ausgebrachten Eklektoren zeigten, dass die SPLAT®-Anwendung keinen mindernden Effekt auf die Käferbestände in den Feldern hatte. Wir führen dies auf mehrere mögliche Gründe zurück. Die SPLAT®-Formulierung bildete bereits nach 30min eine Haut und härtete danach weiter aus. Nach ein paar Tagen war dessen Konsistenz vergleichbar mit jener von eingetrockneter Zahnpasta. Dies könnte zu hart für die Mandibeln der Käfer gewesen sein, um ausreichende Mengen davon aufnehmen zu können. Wie wir in gesonderten Experimenten zeigen konnten, ist das frische SPLAT® nach Applikation auf ihre Mandibeln in hohem Maße letal für die Käfer (Abbildung 57).

Weiters war nicht wie geplant Cucurbitacin B als Fraßstimulanz (METCALF et al. 1982) im gelieferten SPLAT® enthalten. So ist es möglich, dass die Käfer zwar angelockt wurden, jedoch der Fraßstimulus, welcher für die Aufnahme nötig sein kann, ausblieb. Diesbezüglich wurden zusätzliche Laborexperimente durchgeführt, um für einen Einfluss von Cucurbitacin B auf die Menge des gefressenen SPLAT® zu testen. In Kontrast zu anderen Studien (METCALF et al. 1982) konnte kein fraßstimulierender Effekt beobachtet werden. Unerwarteter Weise konnten wir sogar zeigen, dass SPLAT® scheinbar eine abschreckende Wirkung auf die Käfer hat. Gibt man SPLAT® auf ein Gurkenstück, welches hoch attraktiv für die Käfer ist, verliert es seine Attraktivität. Somit scheint die SPLAT®-

Matrix, welche erfolgreich gegen andere Insekten eingesetzt wird (MAFRA-NETO et al. 2013), zumindest in dieser Variante nicht geeignet zu sein, den Westlichen Maiswurzelbohrer zu bekämpfen.

Die Laborexperimente zur möglichen Schadwirkung auf Nicht-Zielarten zeigten, dass weder Honigbienen noch Schwebfliegen (*Episyrphus balteatus*) von einer SPLAT®-Mischung mit (*E*)-*p*-Methoxymaldehyd angelockt werden. Sollten die Tiere dennoch mit dem Ködersystem in Kontakt kommen, muss dies innerhalb der ersten halben Stunde (vor Bildung einer Hautschicht) passieren, um einen negativen Effekt auf die Lebensdauer zu haben. Danach konnte keine lebensverkürzende Wirkung nachgewiesen werden (Abbildung 55, Abbildung 56). Die Ausbringung von SPLAT® mittels Drohne wurde vom Kooperationspartner ISCA in den USA etabliert, konnte jedoch auf Grund der Covid-Pandemie nicht in Österreich umgesetzt werden.

Insgesamt haben wir erfolgreich diejenigen Blütendüfte des Steirischen Ölkürbis identifiziert, die vom Westlichen Maiswurzelbohrer gerochen werden können und für dessen Anlockung zu Kürbisblüten verantwortlich sind. Obwohl offensichtlich durch die Blütendüfte angelockt, haben die Käfer die mit organischem Insektizid versehene SPLAT®-Masse nicht gefressen. Das Attract-and-kill-System mittels SPLAT® muss dementsprechend noch angepasst werden, um im Feld die Dichte an Käfern reduzieren zu können.

Literatur

ANDERSEN, J. F. et METCALF, R. L. (1986) Identification of a volatile attractant for *Diabrotica* and *Acalynnna* spp. from blossoms of *Cucurbita maxima* Duchesne. *J. Chem. Ecol.* 12: 687-699.

ANDERSEN, J. F. et METCALF, R. L. (1987) Factors influencing the distribution of *Diabrotica* species in blossoms of cultivated *Cucurbita* spp. *J. Chem. Ecol.* 13: 681-699.

ANDERSON, M. J., CLARKE, K. R., et GORLEY, R. N. (2008). PERMANOVA+ for Primer. Guide to Software and Statistical Methods (University of Auckland and PRIMER-E Ltd: Plymouth, UK.).

BENJAMIN, E.O., GRABENWEGER, G., STRASSER, H. et WESSLER, J. (2018) The socioeconomic benefits of biological control of western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* and wireworms *Agriotes* spp. in maize and potatoes for selected European countries. *J. Plant. Dis. Prot.* 125: 273–285

BRANSON, T. F., et ORTMAN, E. E. (1969). Feeding behavior of larvae of the western corn rootworm: normal larvae and larvae maxillectomized with laser radiation. *Ann. Entomol. Soc. America.* 62: 808-812.

BRAUNSCHMID, H., MÜKISCH, B., RUPP, T., SCHÄFFLER, I, ZITO, P., BIRTELE, D. et DÖTTERL, D. (2017) Interpopulation variation in pollinators and floral scent of the lady's-slipper orchid *Cypripedium calceolus* L. *Arthropod-Plant Interact.* 11: 363–379

CLARKE, K. R., et GORLEY, R. N. (2006). *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. Plymouth: PRIMER-E.

DIE EUROPÄISCHE KOMMISSION (2013) Durchführungsverordnung No.485/2013 on the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex:32013R0485>

FERRARI, M. J., STEPHENSON, A. G., MESCHER, M. C. et DE MORAES, C. M. (2006). Inbreeding effects on blossom volatiles in *Cucurbita pepo* subsp. *texana* (Cucurbitaceae). *American J. Bot.* 93: 1768-1774.

FOLTIN K. et ROBIER J. (2014). Halting the western corn rootworm by crop rotation – yes, but! Effects of oil pumpkin in Styria. *Julius-Kühn-Archiv.* 10.5073/jka.2014.444.037.

GFRERER, E., LAINA, D., GIBERNAU, M., FUCHS, R., HAPP, M., TOLASCH, T., TRUTSCHNIG, W., HÖRGER, A., COMES, H.P. et DÖTTERL, S. (2021). Floral scents of a deceptive plant are hyperdiverse and under population-specific phenotypic selection. *Front. Plant Sci.* 1910.

HAMMACK, L., & FRENCH, B. W. (2007). Sexual dimorphism of basitarsi in pest species of *Diabrotica* and *Cerotoma* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ann. Entomol. Soc. America.* 100: 59-63.

HESLER, L. S., et SUTTER, G. R. (1993). Effect of trap color, volatile attractants, and type of toxic bait dispenser on captures of adult corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.* 22: 743-750.

Kuwabara M. (1957) Bildung des bedingten Reflexes von Pavlovs Typus bei der Honigbiene, Hokkaido University.

LEVINE, E., SPENCER, J. L., ISARD, S. A., ONSTAD, D. W., & GRAY, M. E. (2002). Adaptation of the western corn rootworm to crop rotation: evolution of a new strain in response to a management practice. *American Entomol.* 48: 94-107.

LUKAS, K., DÖTTERL, S., AYASSE, M., & BURGER, H. (2020). Olfactory and visual floral signals of *Hedera helix* and *Heracleum sphondylium* involved in host finding by nectar-foraging social wasps. *Front. Ecol. Evol.* 8.

MAFRA-NETO, A.; DE LAME, F. M.; FETTIG, C. J.; MUNSON, A. S.; PERRING, T. M.; STELINSKI, L. L.; STOLTMAN, L. L.; MAFRA, L. E. J.; BORGES, R. et VARGAS, R. I., Manipulation of Insect Behavior with Specialized Pheromone and Lure Application Technology (SPLAT®). *Pest Management Nat. Prod.* 1141: 31-58.

METCALF, R. L., LAMPMAN, R. L., DEEM-DICKSON, L. (1995) Indole as an olfactory synergist for volatile kairomones for diabroticite beetles. *J. Chem. Ecol.* 21: 1149-1162.

METCALF, R. L., LAMPMAN, R. L. (1991) Evolution of diabroticite rootworm beetle (Chrysomelidae) receptors for *Cucurbita* blossom volatiles. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 88: 1869-1872

METCALF, R.L., RHODES, A.M., METCALF, R.A., FERGUSON, J., METCALF, E.R. et PO-YUNG LU (1982) Cucurbitacin contents and Diabroticite (Coleoptera:Chrysomelidae) feeding upon *Cucurbita* sp. *Environ.Entomol.* 11: 931-937

MODIC, Š., ŽIGON, P., KOLMANIČ, A., GODEŠA, T., & RAZINGER, J. (2018). Effectiveness of different control measures against western corn rootworm larvae *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868. *Acta Agric. Slov.* 111: 161-167

OLESON, J. D., PARK, Y.-L., NOWATZKI, T. M., TOLLEFSON, J. J. (2005). Node-injury scale to evaluate root injury by corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 98: 1-8

RACINE, J. S. (2012). RStudio: a platform-independent IDE for R and Sweave.

ROSNER, J., FOLTIN, K., NEURURER, H. et HAHNEKAMP, A. (2006) Aspekte der Bekämpfung des Maiswurzelbohrers in Österreich, Stand 2006, Bericht an die NÖ Landesregierung

TÓTH, M., CSONKA, E., SZARUKÁN, I., VÖRÖS, G., FURLAN, L., IMREI, Z. et VUTS, J. (2006) The KLP+ ("hat") trap, a non-sticky, attractant baited trap of novel design for catching the western corn rootworm (*Diabrotica v. virgifera*) and cabbage flea beetles (*Phyllotreta* spp.) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Int. J. Hort. Sci.* 12: 57-62

TÓTH, M., SIVCEV, I., UJVÁRY, I., TOMASEK, I., IMREI, Z., HORVÁTH, P., SZARUKÁN, I. (2003) Development of trapping tools for detection and monitoring of *Diabrotica v. virgifera* in Europe. *Acta Phytopath. Entomol. Hung.* 38: 307-322.

YOUNGMAN, R. R., KUCHAR, T. P., et MIDGARDEN, D. G. (1996). Effect of trap size on efficiency of yellow sticky traps for sampling western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) adults in corn. *J. Entomol. Sci.* 31: 277-285.

ZOTTELE, M., MAYERHOFER, J., EMBLETON, H., WECHSELBERGER, K., ENKERLI, J., et STRASSER, H. (2021). Biological *Diabrotica* management and monitoring of *Metarhizium* diversity in Austrian maize fields following mass application of the entomopathogen *Metarhizium brunneum*. *Appl. Sci.* 11: 9445

Paris Lodron-Universität Salzburg
Fachbereich Biowissenschaften
Hellbrunnerstraße 34, 5020 Salzburg
www.uni-salzburg.at/biowissenschaften

Endbericht zum Forschungsprojekt: Entwicklung eines auf Blütendüften des Steirischen Ölkürbis basierenden Bekämpfungssystems gegen den Westlichen Maiswurzelbohrer.