

BIPESCO



BERICHT

Nachhaltige Bekämpfung von Maikäferengerlingen in exponierten Steilhangflächen



Hermann Strasser¹, Sigrid Neuhauser¹ und Martin Kirchmair²

2009

**Im Auftrag von: Bund-Bundesländerkooperation
(BMLFWU und Tiroler Landesregierung)
Forschungsprojekt Nr. 100373
BMLFUW-LE.1.3.2/0057-II/1/2008**

1 BIPESCO Team Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, Leopold-Franzens Universität; Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck, Austria, <http://bipesco.uibk.ac.at/>

2 MYKON OG, Reimmichlstr. 9, A-6060 Hall in Tirol, Austria, <http://www.mykon.at/>

Impressum:

Herausgeber: BIPESCO Team Innsbruck, Institut für Mikrobiologie,
Leopold-Franzens Universität; Innsbruck

Projektleiter: Mag. Dr. Hermann Strasser

Für den Inhalt verantwortlich: Mag. Dr. Hermann Strasser

Gestaltung und Lektorat: Hermann Strasser und Martin Kirchmair
© **Institut für Mikrobiologie, Leopold-Franzens
Universität; Technikerstraße 25, A-6020
Innsbruck, Austria, 2009**

**Das Forschungsprojekt 100373 wurde aus Mitteln des Bundesministeriums für
Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft und der Tiroler
Landesregierung finanziert.**

Schlagworte: Dauergrünland, Steilhang, Maikäferkontrolle, *Beauveria brongniartii*,
Wirkstoffformulierung, Applikation, Wirkung

Key words: permanent grassland, slope area, cockchafer control, *Beauveria
brongniartii*, formulation, application, efficacy

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	Seite 4
Einleitung und Zielsetzung	Seite 5
Material und Methoden	Seite 5
<i>Beauveria</i> Formulierungen	Seite 5
Auswahl der Behandlungsflächen	Seite 6
Mitteleinsatz und Applikationstechnologie	Seite 7
Beurteilung der Wirksamkeit des Biopräparate	Seite 8
<i>Beauveria</i> – Wirkstoffapplikation zur Kontrolle des Maikäfers	Seite 9
Expositionsmessung von <i>Beauveria</i> Aerosolen	Seite 9
Mikrosatellitenanalyse zum Nachweis von <i>B. brongniartii</i>	Seite 10
Pilz-Monitoring ausgewählter Zeigerorganismen	Seite 11
Bonitur	Seite 12
Klimadaten	Seite 12
Auswertung	Seite 13
Ergebnisse	Seite 13
Maikäferbefall in Aschau / Brandenburg	Seite 13
Beurteilung der <i>Beauveria brongniartii</i> Persistenz	Seite 14
Pilz-Monitoring	Seite 16
Expositionsmessung von <i>Beauveria</i> Aerosolen	Seite 16
Bonitur	Seite 16
Wirkung	Seite 17
Diskussion	Seite 18
Summary	Seite 21
Literatur und Danksagung	Seite 22
Anhang I (Dialog)	Seite 23

1. Zusammenfassung

Mit Beginn Frühjahr 2008 wurde ein zweijähriger Feldversuch in Aschau/Brandenberg Tirol begonnen, um biologische Bekämpfungsstrategien gegen den Maikäferengerling (*Melolontha melolontha* L.) zu testen. Als Prüfsubstanzen wurden Pilzbiomasse und Sporen von *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. (Isolat BIPESCO 2) verwendet. Als Kontrollsubstanz wurde das registrierte Produkt Melocont[®]-Pilzgerste (Reg. Nr. 2582) appliziert. Es wurden keine chemischen Pflanzenschutzmittel ausgebracht. Neben der Austestung der neuen Wirkstoffprototypen konnte der erfolgreiche Einsatz einer Kreiselwalze im Steilhanggelände zur Sanierung der stark geschädigten Grünlandflächen demonstriert werden. Als zukunftsweisend kann auch die Anwendung von Pilzmyzel und Sporenwasser betrachtet werden, welche mittels eines Lanzeninjektors in den Boden problemlos appliziert werden können.

Die Maikäfer-Befallsstärke war ursprünglich mit mehr als 60 Engerlingen pro Quadratmeter in den unbehandelten Flächen als ausreichend einzustufen, wurde aber durch den Einsatz von technischen Applikationshilfen wie Kreiselwalze, Kreiselegge bzw. Schlitzsämaschine drastisch reduziert. Dies führte dazu, dass sich *B. brongniartii* nur bedingt gut, nach einer einmaligen Ausbringung, in den Behandlungsflächen etablieren konnte.

Bedingt durch den niederschlagsreichen Frühsommer 2008, aber auch durch den großflächigen Einsatz des Insektenpathogenen Pilzes *B. brongniartii* sowie der mechanischen Kontrollwirkung der Applikationsmaschinen, konnten keine Kahlfraßflächen in der Region festgestellt werden. Die hohen Niederschlagsmengen führten zu einer raschen und guten Wurzelerneuerung der Futterpflanzen. Schäden konnte nur vereinzelt in den unbehandelten und nicht sanierten Flächen beobachtet werden.

Expositionsmessungen von *Beauveria* Aerosolen zeigten, dass unter Einhaltung üblicher Sicherheitsauflagen, keine Emissionsbelastungen für Personal und Umwelt bei der Feldspritzen- und Schlitzsämaschinenapplikation besteht. Alle verwendeten Prüfsubstanzen führten auch zu keiner negativen Beeinträchtigung der Grünlandwiese (d. h. Grünlandvegetation mit erhöhtem Kleeanteil bzw. Knautgras, Wiesenschwingel und Wiesenrispe). Die Projektstudie ist repräsentativ für kontinentales Klima in Mitteleuropa.

2. Einleitung und Zielsetzung

Schon seit 1919 ist durch Fritz Zweigelt (1928) der Maikäferbefall im Oberlauf der Brandenberger Ache im Tiroler Unterland gut dokumentiert. Zweigelt konnte schon damals, am 25. Mai 1919, schwache Wiesenmaikäferflüge in Aschau und Brandenburg feststellen. Das Schadensausmaß, bedingt durch den Käfer- und Engerlingsfraß, war gering, trotzdem wurde schon auf das Vorhandensein einer ortsansässigen Maikäferpopulation in der Region hingewiesen. Der immer noch gültige vierjährige Entwicklungszyklus des Wiesenmaikäfers war hingegen noch nicht bekannt. Nach zwanzig Maikäfergenerationen, seit Sommer 1997, werden nunmehr vermehrt Maikäfer-Engerlingsfraßschäden in den Steilhängflächen von Dauergrünlandwiesen in der Region beobachtet. Die Schäden haben seit damals so stark zugenommen, sodass die lokale Bevölkerung sich veranlasst sah, sich umgehend und rasch um eine nachhaltige Maikäferbekämpfung umzusehen.

In der Stellungnahme des Landwirtschaftskammerdirektors von Tirol, vom 18. Juni 2008, ist festgehalten, dass für den Einsatz im Steilhanggelände jegliche praktikable Möglichkeit fehlt, den schon ansonst gut charakterisierten Pilzwirkstoff Melocont[®]-Pilzgerste einzusetzen. Umgehend wurde mit der Arbeitsgruppe BIPESCO Team Innsbruck, Universität Innsbruck, Kontakt aufgenommen, um neue Wirkstoffformulierungen von *Beauveria brongniartii* auf Applikationsfähigkeit in Steilhangflächen zu prüfen. Eine Demonstrationsstudie wurde im Zuge des DAFNE – Programms für den Zeitraum 2008/2009 bewilligt, um im Gebiet Aschau / Brandenburg zwei neue Melocont – Formulierungen sowie neue Injektions- und Sprühapplikationstechniken für die nachhaltige Bekämpfung von Maikäfer-Engerlingen in exponierten Steilhangflächen auszutesten. Auch wurde der Einsatz einer Kreiselwalze („Spatengerät“) geprüft, um das schon am Markt befindliche Produkt Melocont[®]-Pilzgerste in den Boden einzuarbeiten.

3. Material und Methoden

3.1 *Beauveria* Formulierungen

Zwei neuartige *Beauveria*-Formulierungen, Melocont-SW und Melocont-WG, wurden für die Demonstrationsstudie auf Basis des registrierten Produktionsstammes BIPESCO 2 (Pfl. Reg. Nr. 2582) produziert. Die Produkte sind wie folgt charakterisiert:

1) Melocont-SW (SporenWasser): Die *B. brongniartii* Pilzsporen (BIPESCO 2) wurden von Oberflächenkulturen abgeerntet. Sporendichte: 9×10^9 Sporen pro Gramm Formulierung (Keimungsfähigkeit > 90 %). Dieses Produkt wurde für die Injektionsversuche (Feldspritze und Lanzeninjektor) verwendet.

2) Melocont-Pilzbrühe: *Beauveria* Pilzbiomasse (BIPESCO 2), produziert im Bioreaktor, wurde homogenisiert und als Spritzbrühe direkt gleichmäßig in der Steilhangwiese mit einer Feldspritze verteilt. Mit Hilfe einer Kreiselwalze wurde der Pilz-Wirkstoff in den Boden eingearbeitet (max. Boden-Tiefe: 15 cm). Die Konzentration der Pilzbrühe wurde über die Biomasse der Flüssigkultur definiert; es wurde die gleiche Biomassekonzentration des Wirkstoffes verwendet wie bei

einer Melocont[®]-Pilzgersteapplikation pro Flächeneinheit in den Boden (80 g TG ha^{-1}).

Als Referenz wurde Melocont[®]-Pilzgerste von der Firma Agrifutur s.r.l (Pfl. Reg. Nr. 2582; Chargen Nr. Lot 13/08, 21/03/2008) verwendet.

Alle Produkte wurden bis zur Ausbringung bei 4°C , lichtgeschützt und trocken gelagert. Die Sporenlösungen wurden bis zur Ausbringung trocken bei 4°C gelagert, am Tag der Ausbringung in Neo-wett (0,05% vol/vol; Kwizda) suspendiert und sofort nach dem Abmischen der Spritzbrühe appliziert.

3.2 Auswahl der Behandlungsflächen

Alle Untersuchungen wurden in Aschau, Gemeinde Brandenburg (Tirol), auf einer stark geschädigten Steilhangwiese, eingestuft als geringwertiges- bis mittelwertiges Grünland, Wasserverhältnisse: mäßig trocken, auf einer Seehöhe von 920 m durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Standortwahl war ein starker Maikäferbefall in der gesamten Region Aschau zu beobachten. Der Besitzer Peter Rupprechter, Aschau 5, hatte sich verpflichtet, keine eigenständigen Sanierungsmaßnahmen durchzuführen.



Bild 1 Orthofoto der Maikäferbefallsflächen in Aschau Brandenburg in Tirol. Die weiße Ellipse symbolisiert die Position der Versuchsflächen innerhalb der Grünlandflächen. Der rote Kreis weist die Melocont[®]-Pilzgerste Behandlungsfläche aus dem Jahr 2007 aus. Orthofoto: © Land Tirol; Inhalt verändert.

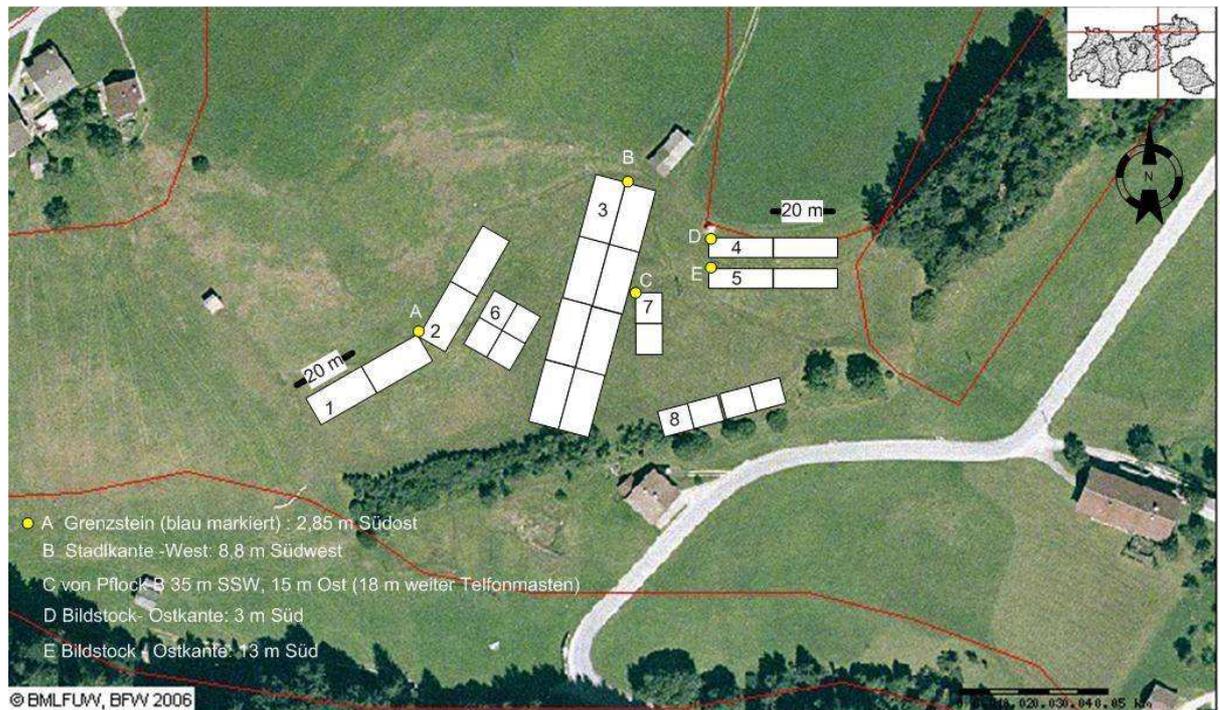


Bild 2 Orthofoto der Versuchspartellen, Aschau, Gemeinde Brandenburg in Tirol. Die weißen Rechtecke symbolisieren die Position der Applikationsflächen innerhalb der Mähwiesen. Behandlungsflächenbeschreibung siehe Tabelle 1. Orthofoto: © BMLFUW; Inhalt verändert.

3.3 Mitteleinsatz und Applikationstechnologie

Es wurden sowohl Melocont[®]-Pilzgerste, Melocont-SW und Melocont-Pilzbrühe appliziert. Die Aufwandmenge der *Beauveria*-Sporenprodukte bzw. Pilzbrühe pro Hektar (ha) wurden dem Referenzprodukt Melocont[®]-Pilzgerste nachempfunden. Als Rechengrundlage diente Melocont[®]-Pilzgerste mit einer Sporendichte von 5×10^5 Sporen pro Korn bzw. $> 2,7$ g Pilzbiomasse pro kg Produkt (TG/FG). Achtundzwanzig Körner entsprechen etwa einem Gramm Produkt. Dies entspricht wiederum einer empfohlen Sporendichte von 2×10^{11} Sporen pro ha, bei einer Applikationsmenge von 30 kg Melocont[®]-Pilzgerste pro ha. Um sich auf der wirkungssicheren Seite zu befinden, wurde eine Sporendichte aller Produkte von 1×10^{13} Sporen pro ha als Maßzahl herangezogen (siehe auch Inglis *et al.* 2001).

Alle Produkte wurden gemäß Herstellungsverfahren im Originalzustand belassen. Nur der Spritzbrühe - Sporenwasser wurde das depolarisierende Benetzungsmittel Neo-wett (Kwizda) beigemischt. Dosierung der Sporensuspension: 0,05% v/v Neo-wett Benetzungsmittel. Zur Vermeidung eines staunassen Bodens samt Wasser-Lachen wurde empirisch die optimale Wassermenge für den Lanzen-Injektor pro Einstich ermittelt. Abdrehproben wurden mit der Schlitzsämaschine Vredo unmittelbar vor Applikation durchgeführt

Tabelle 1 *Beauveria*-Formulierungen zur Steilhangflächenbehandlung in Maikäfergeschädigten Bergwiesen. Acht Versuchsflächen wurden eingerichtet und mit Hilfe von technischem Gerät in den Boden eingearbeitet.

Flächen Nr.	Wirkstoffformulierung	Applikationsmethode und -Rate pro Behandlung
1	Melocont®-Pilzgerste	Manuelle Aussaat und Kreiselwalze 9 kg pro 200m ²
2	<i>Beauveria</i> -Pilzbrühe	Feldspritze und Kreiselwalze 300 Liter auf 200 m ²
3	Melocont®-Pilzgerste	Schlitzsämaschine Vredo 8 kg auf 1600 m ²
4	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	Lanzeninjektor (15 cm) 300 Liter auf 60 m ²
5	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	Lanzeninjektor (15 cm) 80 Liter auf 60 m ²
6	Melocont®-Pilzgerste	Manuelle Aussaat - Kreiselegge 2 kg auf 400 m ²
7	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	Feldspritze, Kreiselegge, 300 Liter auf 200m ²
8	Kontrolle	Unbehandelt, 400 m ²

Legende: Pilzbrühe *Beauveria* Pilzmyzel

3.4 Beurteilung der Wirksamkeit des Biopräparate

Mit Hilfe eines Grünland- und Rillenbohrers wurden Erdproben zur *Beauveria* Pilzdichtebestimmung aus zwei Horizontstufen, 0 cm – 10 cm und 10,5 cm bis 20 cm, gezogen. Die Probennahme erfolgte am 6. Mai 2008, kurz vor der Produktapplikation am 23. Juni 2008, sowie am 2. Oktober 2008, kurz nach dem zweiten Grasschnitt, und am 19. Mai sowie 9. September 2009. Es wurden ca. 60 Einstiche pro ha und Produktvariante genommen. Die Böden wurden über Nacht luftgetrocknet, und unter 2 mm ausgesiebt. Hernach wurden die Bodenproben verjüngt und anschließend als Mischprobe in einer 0,1% Tween 80 Lösung 30 Minuten auf einem Rotationsschüttler bei 150 UpM extrahiert. Die Suspensionslösungen wurden anschließend verdünnt und je 50 µl der entsprechenden Verdünnungstufe auf ausgewählten Selektivnährböden zur Beurteilung der *Beauveria*-Dichte ausplattiert (Strasser *et al.*, 1996). Die Ermittlung der Kolonie-Bildenden-Einheiten (KBE) pro Gramm Boden Trockengewicht erfolgte für *Beauveria brongniartii* nach 9 Tagen Inkubation bei 25°C und einer relativen Luftfeuchte von >65% (Längle *et al.*, 2005, Annex C).

Zur Beurteilung des Maikäferbefalls und zur Abschätzung des Bekämpfungserfolges der Melocont-Produkte wurden mit Hilfe der Spatenprobe der Maikäferbesatz pro m² (alle Entwicklungsstadien) bzw. die Verpilzungsrate der Maikäfer pro m² bestimmt. Es wurden Probegrabungen durchgeführt und das Aushubmaterial auf Anzahl von gesunden und verpilzten Engerlingen (alle drei Larvenstadien), Puppen, Puppenhüllen (Hinweis auf Käferdichte) und Maikäfer

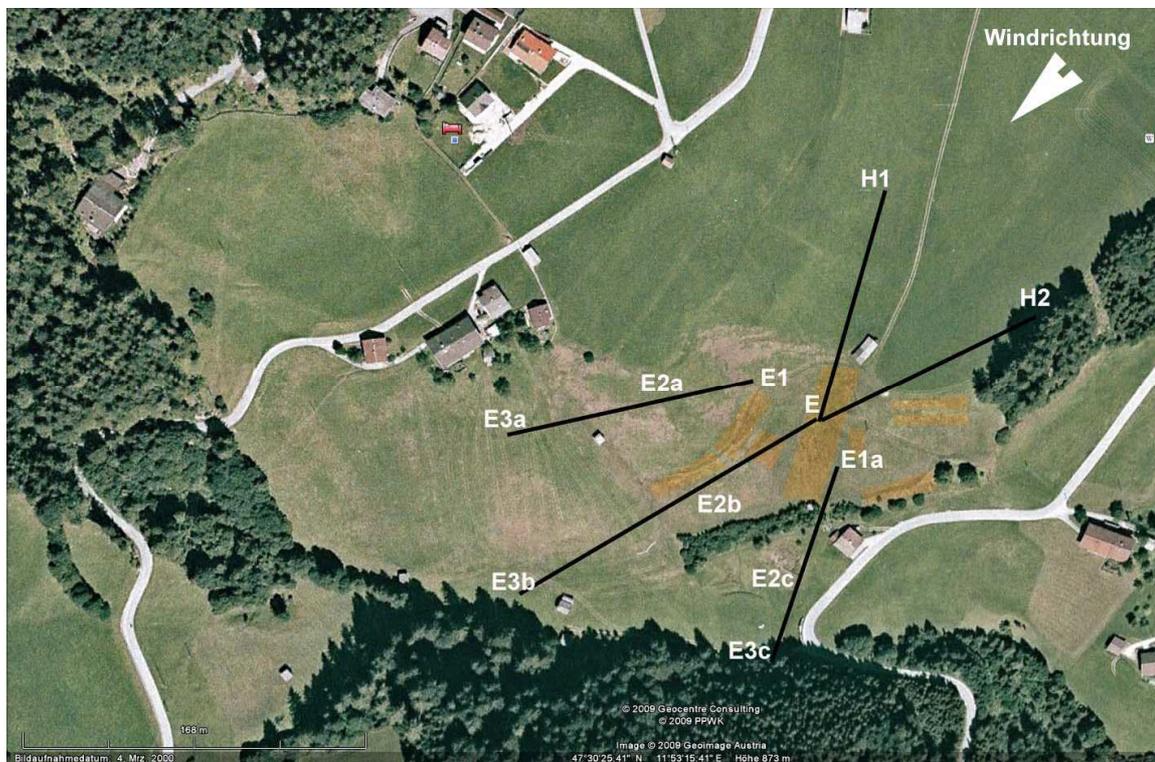
ausgewertet. Die Beurteilung des Maikäferbefalls wurde am 23. Juni 2008, sowie 19. Mai und 9. September 2009 durchgeführt.

3.5 *Beauveria* – Wirkstoffapplikation zur Kontrolle des Maikäfers

Die Melocont-Produkte, welche als Prototypen am Institut für Mikrobiologie (Universität Innsbruck) hergestellt wurden, wurden einmal wie folgt mit Hilfe unterschiedlicher Applikationsmethoden (unterstützt durch Maschinenring Tirol, Rotholz), in eine Bodenschichttiefe von ca. 10 cm eingearbeitet (Tab.1). Die Behandlungen wurden am 23. Juni 2008, 14 Tage nach der ersten Mahd, durchgeführt.

3.6 Expositionsmessung von *Beauveria* Aerosolen

Die Messung von *Beauveria*-Aerosolen, während der Sprühapplikation von Melocont-SW mit der Feldspritze und während des Einschlitzens von Melocont[®]-Pilzgerste mit dem Schlitzsägerät Vredo, war Gegenstand dieser Untersuchung. Es galt die Exposition des Anwenders zu überprüfen, und mögliche Risiken bezüglich einer oberirdischen Anwendung der *Beauveria*-Formulierungen festzustellen. Die Abdriftmessungen wurden gemäß VDI -Richtlinie 4251: Planung von anlagenbezogenen Immisionsmessungen „Fahnenmessungen“ durchgeführt. Die Bioaerosole wurden mittels Sedimentationsplatten (S2G Nährböden, Merck), welche im Versuchsgelände systematisch verteilt wurden (Bild 3 a) und mittels Airsampler (MBASS30, Umweltanalytik Holbach GmbH) bestimmt (Bild 3 b). Dazu wurden die Nährböden bei 25°C und 60% r.F. sieben und 14 Tage inkubiert und die *Beauveria*-Konzentrationen in KBE pro m⁻³ Luft ausgewertet.



(a) Sedimentationsplatte (b) Airsampler MBASS30
 (c) Messorte zur Expositionskontrolle: H: Messpunkte Hintergrund, E: Messpunkte Emmission

Bild 3 Untersuchung der *Beauveria*-Aerosol Exposition, während der Applikation von *Beauveria* Formulierungen in Aschau, Brandenburg in Tirol im Juni 2008.

3.7 Mikrosatellitenanalyse zum Nachweis von *B. brongniartii*

Die Persistenz und vertikale Verteilung des Pilzwirkstoffes *B. brongniartii* BIPESCO 2 wurde mit Hilfe von sechs Stammspezifischen genetischen Markern untersucht (Enkerli *et al.*, 2001). Zu diesem Zweck wurden rückisolierte *Beauveria* spp. Isolate auf S2G-Nährböden (Merck) vereinzelt und hernach die DNS aus dem Pilzmyzel gemäß Standardprotokoll Neuhauser (2009) extrahiert (Annex xy). Die Auswertung erfolgte auf Basis einer DNS Analyse von sechs Mikrosatelliten-Loci.

3.8 Pilz-Monitoring ausgewählter Zeigerorganismen

Unter Berücksichtigung der Applikation des insektentötenden Pilzes *B. brongniartii*, welcher gezielt im Boden der Steilhangflächen am Standort Aschau angereichert wurde, wurden auch die Biodiversität und Abundanz von Zeigerpilzen untersucht. Alle ausgewählten Bodenpilze repräsentieren eine spezifische Gruppe von Bodenpilzen, welche weltweit häufig aus landwirtschaftlich genutzten Böden isoliert werden können (Tab.2). Diese Zeigerorganismen wurden für die Studie herangezogen, um Antworten bezüglich Einfluss der Maikäferbekämpfungsmaßnahme auf Ertrag und Pflanzengesundheit der Grünlandwiesen zu erhalten.

Es wurden zwei Bodenproben pro Jahr (u. a. Mai, Oktober, Juni und September) mit Hilfe eines Rillenbohrers gezogen (0 cm bis 10 cm). Die Bodensuspensionen ($n_1=3$) wurden auf S2G Nährmedium (Merck), versetzt mit Dichloran $0,02\text{g l}^{-1}$, $0,1\text{g l}^{-1}$ Streptomycin und $0,05\text{g l}^{-1}$ Tetracyclin, ausplattiert ($n_2=4$) und nach neun Tagen ausgewertet.

Tabelle 2 Drei Gruppen von ausgewählten Zeigerorganismen zur mykologischen Bewertung landwirtschaftlich genutzter Flächen (Domsch & Gams, 1980).

Gruppe	Ausgewählte Pilz – Indikatororganismen
Entomopathogene Pilze	<i>Beauveria</i> spp., <i>Metarhizium</i> spp., <i>Paecilomyces</i> spp.
Mucorales (Zygomyceten)	<i>Absidia</i> spp., <i>Cunninghamella</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp.. (Zeigerorganismen für hohe organische Fraktionen im Boden; u.a. Mistdüngung, N- Zeiger MOs)
Sonstige Pilze:	Hauptsächlich Saprobier: v. a. <i>Acremonium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Mortierella</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.

Die Pilze wurden in drei Gruppen eingeteilt:

1) Entomopathogene Pilze

Als Entomopathogene wurden Pilze der Gattungen *Metarhizium*, *Beauveria* und *Paecilomyces* eingestuft. Dominierende Arten waren *B. brongniartii*. (Melocont-Wirkstoff), *B. bassiana*, *M. anisopliae* sowie die rosasporigen *Paecilomyces*-Arten *P. farinosus* und *P. fumosoroseus*.

2) Mucorales

Die meisten Arten der Mucorales sind rasch wachsende Pilze die vorwiegend leicht verfügbare Nährstoffe nutzen. Als Stickstoffquellen werden Ammoniumsalze, Aminosäuren sowie Proteine und weniger Nitrate, Nitrite oder Harnstoff verwertet. Als Kohlenstoffquelle werden vorwiegend verschiedene Zucker verbraucht. Einige Arten können auch Fette als C-Quelle nutzen. Viele Arten gelten als coprophil (Dungbewohnend) oder sind typische Bodenpilze. Mucorales wurden in dieser Untersuchung als Zeigerorganismen für hohe organische Fraktionen (z.B. durch Mistdüngung) angesprochen.

Dominierende Arten waren *Mucor hiemalis* und *Cunninghamella elegans*. Beide Arten sind häufige Bodenpilze in einer Vielzahl unterschiedlicher Böden in einem weiten pH-Bereich. Vorwiegend können diese Pilze aus den oberen

Bodenschichten aber auch bis in eine Tiefe von einem Meter isoliert werden. Durch das schnelle Wachstum können frische Substrate sehr schnell besiedelt werden.

3) Sonstige Pilze

In dieser Gruppe wurden typische Bodenpilze zusammengefasst, die keine besonderen Ansprüche an das Substrat stellen. Dominierende Arten waren *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium chrysogenum*, *Mortierella alpina* (alles Saprobier).

.

3.9 Bonitur

- Verträglichkeitsbonituren erfolgten sowohl am 3. Oktober 2008 (3 Monate nach Applikation der Wirkstoffe), am 19. Mai 2009, als auch im Spätsommer - am 9. September 2009 - nach einer visuellen Beurteilung (u.a. Schätzung der Phytotoxizität in Prozent). Die mit *Beauveria*-Wirkstoff applizierten Behandlungsflächen wurden, mit Ausnahme der Lanzeninjektions-Flächen 4 und 5 sowie Kontrollfläche 8, mit einer Qualitätssaatgut-Mischung, Dauerwiese 035 und Dauerwiese 036 von der Firma Samen Schwarzenberger, saniert. Zur Hangstabilisierung der Behandlungsflächen 4 und 5 wurde Grünschnitthafer – Saatgut von der Firma Samen Schwarzenberger ausgesät.

- Wirksamkeitsbonituren wurden sowohl durch die Beurteilung der Pilzwirkstoffes im Boden (20 Einstiche pro Parzelle und Behandlung; jeweils von der Horizontschicht 0 cm - 10 cm und 10,5 cm – 20 cm) sowie nach randomisierten Grabungen (meist 3 Probennahmelöcher pro Parzelle und Behandlung) mit einer Erhebung der Larvenverpilzungen erhoben.

Die Proben wurden unmittelbar nach Probennahme zur Untersuchung in das Institut für Mikrobiologie (Leopold-Franzens-Universität Innsbruck) transportiert bzw. an die Firma Mykon OG geliefert.

3.10 Klimadaten

Die Wetterdaten wurden über den gesamten Versuchszeitraum von April 2008 bis September 2009 vom Hydrographischen Dienst des Landes Tirol, ca. 1 km vom Versuchsgelände entfernt, in Brandenberg erhoben. Datenbasis: Tagesmitteltemperaturen (°C), Tagesniederschlagssummen (mm) und Gesamtschneehöhe (mm). Die Windgeschwindigkeit während der Applikation der Wirkstoffe, am 23. Juni 2008, wurde vor Ort am Versuchsgelände ermittelt.

3.11 Auswertung

Die Auswertungen für die Pilzdichten im Boden und den Maikäferbefall wurde mit dem Statistik-Programm SPSS Version 17.0 für Windows XP (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und OriginPro 8G (OriginLab Coporation Massachusetts, USA) durchgeführt. Als statistische Kennwerte wurden der Median samt oberes und unteres Quartil der einzelnen Variablen errechnet und dargestellt.

Mit Hilfe der Kanonischen Korrespondenzanalyse (CCA; Canoco for Windows, Version 4.5, Plant Research International, Wageningen, NL) wurde der Einfluss der Behandlungen auf die Abundanz ausgewählter Zeigerorganismen (ausschließlich Pilze) im Dauergrünland (Bergwiese) überprüft. Dieses Programm wurde konzipiert, um anhand von Abundanzenerhebungen in verschiedenen Beprobungsgebieten, graduelle Zusammenhänge zwischen einzelnen Arten und den Beprobungsgebieten aufzuzeigen. Dabei werden Kombinationen von Umweltparametern berechnet und daraus die Ordinationsachsen aufgespannt.

4. Ergebnisse

4.1 Maikäferbefall in Aschau / Brandenburg

Auf Grund des vierjährigen Lebenszyklus des Maikäfers im Raum Aschau/ Brandenburg, konnte sowohl im Frühjahr 2005 als auch heuer, im Frühjahr 2009, ein intensiver Maikäferschwärmflug beobachtet werden. Eine erste Befallserhebung in Aschau im Sommer 2007 zeigte, dass von einer durchschnittlichen Maikäferbefalldichte von 80 Engerlingen pro m² am Standort Grundparzelle Nr. 5, ausgegangen werden musste. Vereinzelt konnten Engerlingsdichten von über 160 L2/L3-Larven festgestellt werden.

Zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation konnten in einzelnen Versuchspartellen im Durchschnitt 13 Engerlinge pro Quadratmeter (MIN-Wert: 4 m⁻²; MAX-Wert: 36 m⁻² L3-Larven) nachgewiesen werden. Durch den gezielten Maschineneinsatz (Kreiselwalze, Kreiselegge, Schlitzsämaschine) wurde der Engerlingsbesatz zusätzlich reduziert, da die Messer der Schlitzsämaschine, als auch die Spaten und Zinken der Kreiselwalze die Engerlinge töteten. Zahlreiche Engerlinge wurden auch an die Erdoberfläche befördert und dabei nachhaltig verletzt bzw. getötet. Diese Beobachtung ist insofern von großer Bedeutung, da das Fehlen einer großen Anzahl von Engerlingen im Boden auch einen entscheidenden Einfluss auf die Persistenz und somit auf die Wirksamkeit des Pilzwirkstoffes ausübt.

Die Masse der Maikäfer, welche im Flugjahr 2009 schwärmten, stammten aus den unbehandelten und nicht sanierten Flächen der Region Aschau. Probegrabungen im Mai 2009 zeigten, dass in den behandelten Versuchspartellen eine durchschnittliche Maikäferdichte von 3,2 Käfern pro Quadratmeter nachgewiesen werden konnte. In der unbehandelten und nicht sanierten Kontrollfläche hingegen konnte ein 9-fach höherer Käferbesatz festgestellt werden (Mittelwert: 28 Käfer m⁻²; MIN-Wert: 20 m⁻²; MAX-Wert: 40 Käfer m⁻²). Dieser Käferbesatz entspricht einer nahezu vier bis achtfachen Überschreitung des Schwellenwertes für das Grünland.

Die zweite Beprobung im September 2009 zeigte, dass in allen Behandlungsflächen, mit Ausnahme der Versuchsflächen 2, 3 und 5, eine nahezu

zweifache Überschreitung der tolerierbaren Schädlingdichte für Grünland festgestellt werden konnte (Tab. 3).

Tabelle 3 Durchschnittliche Maikäferbefallszahlen in den mit Melocont-Wirkstoffen behandelten Versuchsflächen (Fl. Nr. 1 bis 7) und der nicht behandelten Kontrollfläche (Fl. Nr. 8) in der Region Aschau, Gemeinde Brandenburg am Ende der Projektstudie, September 2009. Alarmzahl im Grünland: für Engerlinge > 30 m⁻²; für adulte Maikäfer: > 5 m⁻²).

Behandlungsflächen		Befallsdichte <i>M. melolontha</i> pro m ⁻²			Applikationsrelevante Maikäferreduktion
Nr.	Formulierungs-Typ	Mittelwert	MIN	MAX	
1	Melocont [®] -Pilzgerste	60	11	76	Ja
2	<i>Beauveria</i> -Pilzbrühe	18	4	20	Ja
3	Melocont [®] -Pilzgerste	12	0	48	Ja
4	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	52	6	80	Nein
5	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	16	3	20	Nein
6	Melocont [®] -Pilzgerste	96	20	112	Ja
7	<i>Beauveria</i> Sporenwasser	n.b.	n.b.	n.b.	Ja
8	Kontrolle	64	13	76	Nein

Entwicklungsstadium des Maikäfers: L1 Larvenstadium, Kopfkapseldurchmesser 2,7 mm. N.b. Nicht bestimmt.

4.2 Beurteilung der *Beauveria brongniartii* Persistenz

Nach einer erfolgreichen Melocont[®]-Pilzgerste Applikation, bei einer durchschnittlichen Aufwandmenge von 50 kg Melocont[®]-Pilzgerste pro ha, sollten mehr als 1.000 KBE *Beauveria brongniartii* g⁻¹ TG in einer Bodenschichttiefe von 0 cm bis 10 cm nachgewiesen werden können. Dieser geforderte *Beauveria*-Wert konnte mit Ausnahme in der Behandlungsfläche 1 (Melocont[®]-Pilzgerste-Applikation mit anschließender Kreiselwalzenbehandlung), Behandlungsfläche 3 (Melocont[®]-Pilzgerste, appliziert mit der Schlitzsämaschine Vredo) und der Kontrollfläche 8, bei allen übrigen Versuchspartellen, sowohl im Bodenhorizont 0 cm bis 10 cm als auch bei 10,5 cm bis 20 cm nachgewiesen werden (Abb. 1). Die Lanzeninjektor-Methode, bei einer Gabe von 1 x 10¹³ Sporen pro ha, konnte die gewünschte *Beauveria*-Dichte von mehr als 5.000 KBE pro Gramm Boden Trockengewicht (g⁻¹ TG) nach einer einmaligen Applikation sichergestellt werden. Ein ähnlich gutes Ergebnis wurde mit der Kreiseleggen-Applikation von Melocont[®]-Pilzgerste erzielt (4.200 KBE g⁻¹ TG).

Molekularbiologische „Fingerprintanalysen“ zeigten, dass zweifelsfrei der *Beauveria*-Produktionsstamm BIPESCO 2 im Boden angereichert wurde. Diese Bestätigung ist von Bedeutung, da bei der Erstbeprobung des Versuchsstandortes autochthone *Beauveria* spp. Arten in geringer Dichte nachgewiesen werden konnten (< 1.800 KBE g⁻¹ TG).

Im Frühjahr 2009 konnte in den Behandlungsflächen 3 und 5, sowie in der Kontrollfläche 8 in der obersten Bodenhorizontstufe eine deutliche Zunahme der

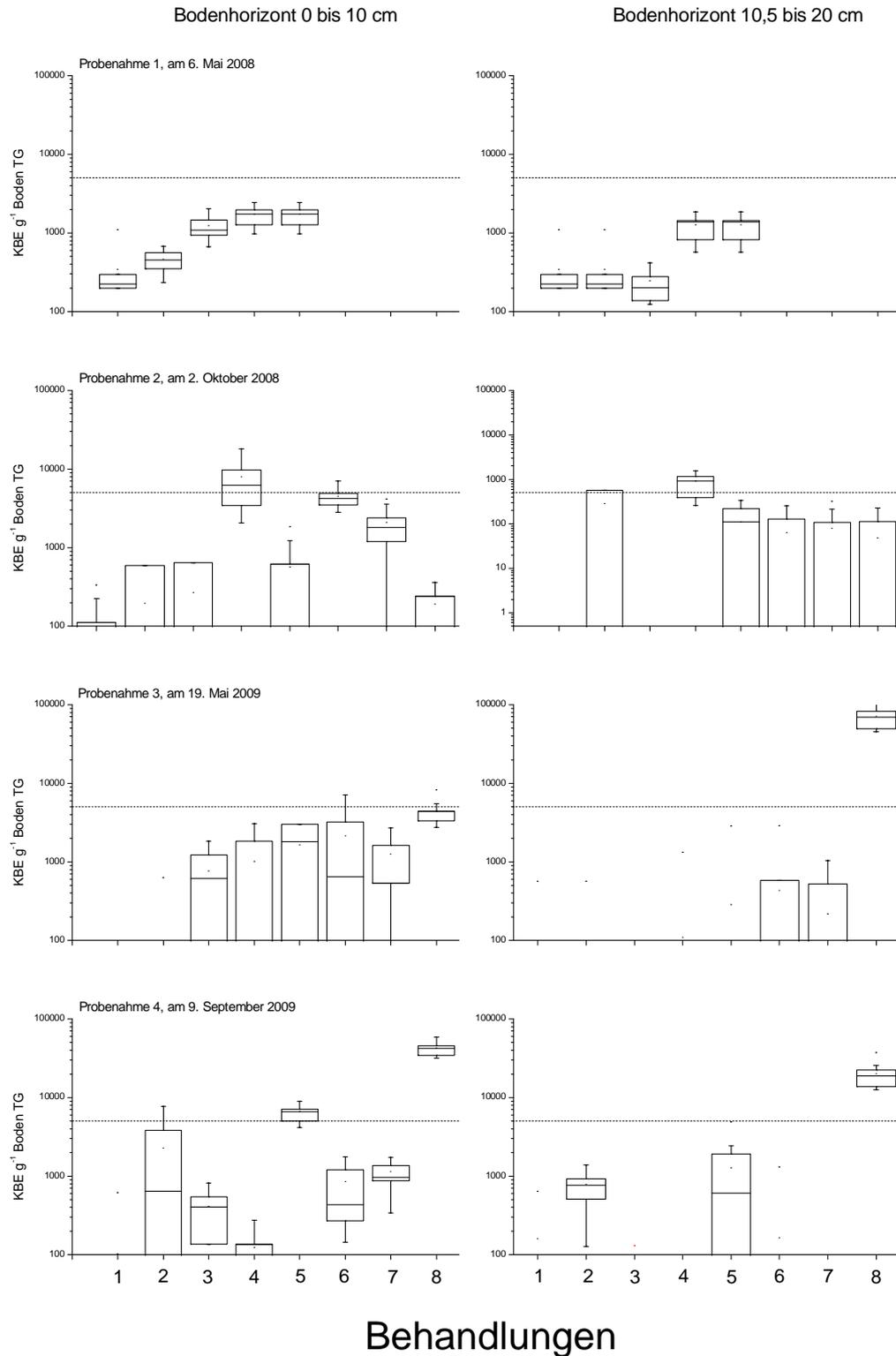


Abbildung 1 Beurteilung der *Beauveria brongniartii* Pilzdichte mittels Selektivnährbodens (n=12) am Standort Aschau. Es wurden drei *Beauveria* Formulierungen mit Hilfe einer Kreiselwalze (Behandlung: 1, 2), einer Schlitzsämaschine (Behandlung 3), eines Lanzeninjektors (Behandlung 4, 5) bzw. einer Kreiselegge (Behandlung 6, 7) in den Boden eingearbeitet und die Persistenz geprüft. Die Kontrollfläche 8 wurde nicht behandelt. Die strichlierte

Linie definiert jene minimale *B. brongniartii* Pilzdichte im Boden, die eine nachhaltige Bekämpfung von *Meleolontha melolontha* im Grünland gewährleistet (5.000 KBE pro Gramm Boden Trockengewicht); vorausgesetzt, dass ein hoher Maikäfer-Befallsdruck in der Zone besteht (> 20 Larven pro m²).

Beauveria-Dichte festgestellt werden. Bei fünf der Behandlungsflächen konnten immer noch *Beauveria*-Dichten höher als 1.000 KBE g⁻¹ TG nachgewiesen werden. Nur im Falle der Behandlungsflächen 1 und 2, aber auch in den tieferen Bodenschichten konnte keine ausreichende *Beauveria*-Dichte bestimmt werden (Median: < 100 KBE g⁻¹ TG; oberes Quartil: < 600 KBE g⁻¹ TG).

Die Beprobung im September 2009 zeigte, dass sich sowohl in der Behandlungsfläche 2 und 5 als auch in der Kontrollfläche 8 ausreichend der Wirkstoff *B. brongniartii* zumindest im Bodenhorizont 0 cm bis 10 cm angereichert hatte. Alle übrigen Behandlungsflächen wiesen eine zu geringe Pilzdichte auf, um auch nur ansatzweise eine Wirkung durch das Entomopathogen zu rechtfertigen.

4.3 Pilz-Monitoring

In allen Behandlungsflächen, wo Melocont-Wirkstoffe zur Bekämpfung von *M. melolontha* appliziert wurden, konnte auch eine signifikante Zunahme der entomopathogenen Pilze im Boden nachgewiesen werden. Ansonst konnte am Standort Aschau stets eine gleichbleibende Abundanz für die Gruppe der klassischen Saprobier, der Zygomyceten und der sogenannten „Sonstigen Pilze“ festgestellt werden.

4.4 Expositionsmessung von *Beauveria* Aerosolen

Trotz schwacher Thermik aus Nordöstlicher Richtung, Windgeschwindigkeiten < 2,5 m s⁻¹, konnte nur in unmittelbarer Nähe der Applikationsorte vereinzelt eine räumliche Ausbreitung des *Beauveria*-Wirkstoffes mit Hilfe des Airsamplers während der Applikation mit der Felspritze und der Schlitzsämaschine nachgewiesen werden. Diese geringe Emissionsbelastung entsprach einer standortüblichen Hintergrundbelastung und ist somit vernachlässigbar. Auch der Sedimentationsplatten-Test führte zum gleichen Ergebnis. Von 22 Platten konnte nur auf einer S2G-Platte, welche sich im sogenannten geometrischen Emissions-Mittelpunkt (E, Bild 3c) befand, zwei *Beauveria*-Kolonien nachgewiesen werden.

4.5 Bonitur

Das stark geschädigte Versuchsfeld wurde im Herbst 2007 in den Steilhangflächen mit Winterroggen als Deckfrucht gesichert (Bild 4 a). Es wurden keine zusätzlichen Dünge- und Pflanzenschutzmaßnahmen gesetzt. Nach Applikation des Pilzwirkstoffes *Beauveria* am 5. Juni 2008 wurden die Behandlungsflächen, mit Ausnahme der Lanzeninjektions-Flächen 4 und 5 sowie Kontrollfläche 8, mit Qualitätssaatgut der Firma Samen Schwarzenberger saniert (d. h. Grünlandsaatgut mit erhöhtem Klee grasanteil bzw. Knaut gras, Wiesenschwingel und Wiesenrispe; Bild 4 b). Der Ernteertrag in der Pflanzsaison 2009 wurde von den Landwirtschaftsberatern der BLK Kufstein nahezu mit

ehundert Prozent angegeben. Die Futterqualität wurde als ausgezeichnet eingestuft.



(a) Ausgangssituation Mai 2008 (b) nach Grünland-Sanierung Mai 2009

Bild 4 Behandlungsfläche 1 und 2 in Aschau, Brandenburg in Tirol, vor und nach der Sanierung mit Qualitätssaatgut (Dauerwiese 0035 und 036, Samen Schwarzenberger).

Die nur mit Grünschnittthafer und Roggen befestigten Steilhangflächen konnten ebenfalls einen erhöhten Ernteertrag aufweisen. Zur Verbesserung des lückigen und pflanzenbaulich geschwächten Grünlandbestandes ist eine umbruchlose Grünlandsanierung unbedingt erforderlich und für das Frühjahr 2010 geplant (Bild 5).



Lückiger und pflanzenbaulich geschwächter Grünlandbestand

Bild 5 Behandlungsfläche 4 und 5 in Aschau, Brandenburg in Tirol im September 2009, nach der Behandlung mit Melocont-SW (Lanzeninjektion).

4.6 Wirkung

Die Wirkung der Melocont-Pilzwirkstoffe (*Beauveria brongniartii*, Wirkstoff zur Kontrolle des Maikäfers *Melolontha* spp.), konnte wegen des sehr inhomogenen und zu geringen Befalls am Standort Aschau *in situ* nicht nachgewiesen werden. Wegen des Fehlens einer ausreichenden Schädlingsdichte (siehe 4.1), konnte auch erwartungsgemäß der Pilz *B. brongniartii* nicht in ausreichender Konzentration im Boden angereichert werden.

5. Diskussion

Die biologische Maikäferbekämpfung auf Steil- und Steilstflächen kann in naher Zukunft als ein gelöstes Problem betrachtet werden, da mehrere technische Applikationshilfen aber auch neuartige *Beauveria* – Wirkstoffformulierungen den Anwendern zur Verfügung stehen.

Die erfolgreiche Anwendung der Schlitzsämaschine und der Kreiselegge mit Zinkrotoren zur Ausbringung von Melocont®-Pilzgerste konnte schon in zahlreichen Feldstudien nachgewiesen werden. Erstmals wurde die Anwendung von Sporen- und Pilzmyzel-Formulierungen geprüft, welche problemlos mit der Kreiselegge aber auch besonders mit der Kreiselwalze in den Boden eingearbeitet werden konnte.

Die Verwendung der **Kreiselwalze**, welche mit einer Seilwinde gelenkt und gezogen wird, hat sich zur Sanierung von Steilflächen als sehr nützlich erwiesen. Durch die Zinken der Kreiselwalze werden Maikäferengerlinge erfolgreich mechanisch bekämpft und durch die Spatenwirkung des Gerätes, die abgestorbenen Grasbüschel, welche sonst händisch entfernt werden müssten, in den Boden eingearbeitet. Auch war beabsichtigt, das Pilzgranulat Melocont®-Pilzgerste in den Boden aktiv einzuarbeiten. Die Ergebnisse der *Beauveria*-Dichte im Boden von Behandlungsfläche 1 unterstützen jedoch in keinster Weise diese Annahme. Es wird vermutet, dass zu wenig Wirkstoff, d. h. verpilzte Körner, in den Boden aktiv eingearbeitet wurde. All jene Pilzgerste Körner, welche nur auf der Bodenoberfläche zu liegen kamen, wurden mit großer Sicherheit vom Sonnenlicht geschädigt und waren deshalb unwirksam. Auch konnte sich *Beauveria* nicht zu Lasten des Maikäfer-Wirtes im Boden entwickeln, da durch den Maschineneinsatz der Maikäferengerlingsbestand sehr stark in der Behandlungsfläche reduziert wurde. Die starke Maikäferreduktion konnte durch die Erhebung der adulten Maikäfer-Befallszahlen in den Behandlungsflächen im Frühjahr 2009 bestätigt werden. So wurden in der Behandlungsfläche 1 im Durchschnitt nur 1,3 Maikäfer pro Quadratmeter gefunden. Im Gegensatz dazu, wurden 16 Maikäfer pro Quadratmeter in der Kontrollfläche gezählt. Um den Eintrag des Wirkstoffes in den Boden zu verbessern, sollte zukünftig die Ausbringmenge der Melocont-Wirkstoffe erhöht werden.

Wie schon mehrfach durch Experten gefordert, kann die Anwendung von **Beauveria-Flüssigformulierungen** besonders für Steilhangapplikationen empfohlen werden. Sowohl der Lanzeninjektor-Einsatz als auch die Feldspritzenapplikation mit nachfolgender Kreiseleggen- bzw. Kreiselwalzen-Bearbeitung, führte zu einer guten und sicheren Anreicherung der Pilzwirkstoffe im Boden. Die erfolgreiche Anwendung von *Beauveria* - Sporenmaterial (Melocont-Sporenwasser) wurde seit längerem vermutet und konnte schon von uns in ersten Feldversuchen, durchgeführt in Apfelkulturen bei San Michele (Italien) 2005, bestätigt werden. Neu ist, dass auch Pilzmyzel zum selben Erfolg führen kann. Bis heute galten in Fachkreisen nur die Sporen von *B. brongniartii* als infektiös. Nun gilt es intensiv die neue Option einer Pilzmyzel-Formulierung zu testen, um tatsächlich auch ein handelsfähiges *Beauveria*-Pilzmyzel Produkt dem Markt anbieten zu können.

Die Wirksamkeitsstudie der Melocont-Wirkstoffformulierungen kann nur in einem größeren Zusammenhang interpretiert werden. Grund dafür ist, dass die notwendigen Anforderungen bezüglich der Projektstandort-Wahl nur zum Teil erfüllt werden konnten.

Grundsätzlich sollten folgende Kriterien für eine erfolgreiche Anwendung des insekzentötenden Pilzes *B. brongniartii* im Boden erfüllt sein: Neben einer hohen Maikäfer-Engerlingsdichte im Boden, muss auch der Pilzwirkstoff *B. brongniartii* ausreichend im Boden etabliert sein. Dies wenn möglich in einer Bodenschichttiefe von 3 cm bis 20 cm, da sich hier hauptsächlich der Maikäferengerling, in der aktiven Vegetationsperiode, zum Wurzelfraß aufhält. Um den gewünschten Eintrag in den Boden sicher zu stellen, bedarf es wiederum einer geeigneten Ausbringmethode, welche durch Schlitzsämaschinen, Kreisel- und Rotoreggen, aber auch durch den Einsatz vom Pflug und diversen Bodenbearbeitungsgeräten gewährleistet werden kann. Es ist erwähnenswert, dass eine Kombination von mechanischer und biologischer Kontrolle stets zu einer verbesserten Wirksamkeit führt. So unterstützt eine intensive Bodenbearbeitung die Kontrollwirksamkeit des biologischen Pflanzenschutzmittels, da durch die mechanische Abtötung des Schädling, die Fraßschäden schon mit der Anwendung des Pilzwirkstoffes stark reduziert werden können. Der tatsächliche biologische Bekämpfungserfolg darf nicht schon nach einem Jahr bzw. zwei Jahren nach der Anwendung des biologischen Wirkstoffes erhoben werden. Was fälschlicherweise immer wieder von den Anwendern versucht wird. Zur Erinnerung, die meisten Insektenwirksamen Pilzpräparate sind nicht zum unmittelbaren Objektschutz geeignet. Pilzwirkstoffe dürfen nur als langfristig wirksame Bekämpfungsmittel eingesetzt werden, da sie sich erst nach einer gewissen Verweilzeit im Boden nachhaltig regulierend auf die Schädlingspopulationen auswirken. Dies gilt besonders für *B. brongniartii*, wo der Zusammenbruch der Maikäferpopulation erst in der zweiten Generation des Maikäfers, also nach vier Jahren, festgestellt werden kann (Strasser 2009). Sollte mit einer Behandlung nicht die gewünschte *Beauveria*-Dichte von 5.000 KBE pro Gramm Boden TG erreicht werden können, so ist eine zweite Applikation des Pilzwirkstoffes im Folgejahr unbedingt notwendig. Es sollte immer darauf geachtet werden, dass ausreichend infektionsfähiges Pilzmaterial im Boden vorhanden ist.

Die Wahl des **Projektbeginns** wurde wegen der Dringlichkeit einer wirksamen Maikäferbekämpfung mit April 2008 festgesetzt und die **Projektlaufzeit** auf zwei Saisonen begrenzt. Somit ist eine Ansprache der Wirkungseffizienz der geprüften Wirkstoffformulierungen nur bedingt möglich, da eine geforderte Langzeitbeobachtung von mindestens vier Jahren nicht möglich war. Weiters kommt erschwerend hinzu, dass zum Zeitpunkt der Wirkstoffprüfung im Juni 2008, der Maikäferengerling sich im dritten Entwicklungsstadium befunden hat. Erfahrungsgemäß stellt mit Juli / Anfang August der Engerling die Fraßtätigkeit ein und wandert zur Verpuppung, in entgegen gesetzter Richtung des Wirkstoff-Gradienten, in tiefere Bodenschichten ab. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit eines erfolgreichen Kontaktes mit dem Pilzantagonisten *Beauveria* verringert, welche erwünscht wäre, um das infektionsfähige Pilzmaterial im Boden zu vermehren.

Die **Wahl des Versuchsstandortes** muss für die Wirkstoffprüfung, trotz der idealen Standortverhältnisse, ebenfalls als suboptimal bezeichnet werden. Im

Regelfall sollte für die Wahl eines Projektstandortes die Maikäferbefallsdichte bestimmend sein. Auch das Fehlen von autochthonen Antagonisten sollte als Entscheidungshilfe herangezogen werden.

Sie Standortwahl wurde uns durch die „Gefahr in Verzug Situation“, welche in der Region Aschau bestand, vorgegeben. Noch bevor das eigentliche Forschungskonzept fertig entwickelt werden konnte, haben nämlich die meisten Bauern in der Region mit der Sanierung der Grünlandflächen begonnen. Alle möglichen Steiflächen, welche mit Hilfe eines Mähtraks befahrbar waren, wurden mit dem Wirkstoff Melocont[®]-Pilzgerste behandelt. Die Applikation erfolgte mit Hilfe eines Schlitzsämaschinen-Prototyps, bzw. in späterer Folge, wurde eine Kreiselegge mit Zinkrotoren für die Generalsanierung der Grünlandwiesen verwendet. Jene Flächen, welche nicht befahrbar waren, wurden im Mai 2008, mit Hilfe der Kreiselwalze bearbeitet und saniert. So kam es schlagartig zu einer starken Reduktion der Maikäferbefallzahlen unmittelbar in der Region und es konnte nur mehr der ausgewählte Standort, welcher noch nicht behandelt wurde, für die Versuchszwecke verwendet werden.

6. Summary

In 2008 a two year field trial on the biological control of the European cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) was started. Two new formulations (conidial suspension, macerated fungal mycelium) of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. (isolate BIPESCO 2) were tested. The registered product Melocont[®]-Pilzgerste (Reg. Nr. 2582) was applied as a control. No agrochemicals were used at the trial sites. To inject the new formulations to the soil, a lance was tested as an easily applicable and promising strategy. In addition to testing the new formulations and their application, a rotary roller was successfully used to improve heavily damaged pastures on steep hills. The trial site was originally infested with more than 60 grubs per square meter. The use of a rotary roller, a rotary harrow, and a slit seeder significantly reduced the numbers of grubs, reducing the infestation density to such low levels that consequently the fungal BCA *Beauveria brongniartii* could not establish in one single application. The combination of a wide application of the entomopathogen *Beauveria brongniartii*, the mechanical control by agricultural machines and the heavy rainfall during early summer resulted in no observed damage caused by root feeding grubs. The high spring rainfall in 2008 caused a rapid re-growth of roots, and patches of damage were observed in both treated and untreated areas. During the application process, the emission of *Beauveria* spores was measured. It was demonstrated that there is no exposure risk to applicators and bystanders, and no negative impacts were observed on grassland vegetation (e.g. meadows with clover, cocksfoot grass, meadow fescue, and Kentucky bluegrass). This study is representative for the continental climate of Central Europe.

7. Literatur und Danksagung

Domsch, K. H., Gams W. 1980. Compendium of Soil Fungi. Reprint 1993. IHW-Verlag, Eching, Germany. 860 pp.

Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M. & Strasser, H. 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Fungal Biocontrol Agents: Progress, Problems & Potential (Butt, T.M., Jackson, C., Magan, N., Eds.). CABI Wallingford, pp. 27-69.

Laengle, T., Raffalt, J., Pernfuss, B. & Strasser, H. 2005. Appendices: Risk Assessment of Fungal Biocontrol Agent Standards. C: Biotests and field efficacy trials of fungal BCAs against scarabaeid larvae. *Sydowia* 57 (1), 84-93.

Strasser H., Forer A. & Schinner F. 1996. The optimization of nutrient media toward the identification and achievement of virulence of *Beauveria brongniartii*. In: Jackson, T., Glare, T. (eds.). Microbial control of soil dwelling pests. AgResearch, Lincoln, 125-130.

VDI Richtlinie 4251, Blatt 1 Februar 2007. Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Planung von anlagenbezogenen Messungen, Fahnenmessungen, Beuth Verlag.

Zweigelt, F. 1928. Der Maikäfer: Studien zur Biologie und zum Vorkommen im südlichen Mitteleuropa. Parey, Berlin, p. 125.

Das Forschungsprojekt Nr. 100373 wurde in Zusammenarbeit mit der Landwirtschaftskammer Tirol, Fachbereich Pflanzen, Forst und Bio, durchgeführt. Wir danken der Familie Peter Rupprechter aus Aschau, für die Bereitstellung des Versuchsgeländes und Stellvertretend für die Tiroler Landesregierung, Ing. Martin Neuner, Amt der Tiroler Landesregierung, Hydrographischer Dienst Tirol, für das zur Verfügung stellen der Wetterdaten in der Versuchsregion Brandenburg, als auch Dr. Andreas Tschöll, Abteilung Agrarwirtschaft, für die hervorragende Begleitung und Zusammenarbeit.

Anhang I

Dialog : Technisches Gerät zur Melocont-Wirkstoffapplikation Projektstandort Aschau / Brandenburg in Tirol.

Bild 1

Erfolgreiche Engerlingskontrolle mit Kreiselwalze und Melocont-Formulierungen im Steilhang. Die Kreiselwalze wird mit Hilfe einer Seilwinde gelenkt und gezogen. Applikationstiefe: ca. 15 cm.



Bild 2

Kreiselwalze – Nahaufnahme (Maschinenring Tirol, Leitstelle Rotholz).



Bild 3

Einarbeitung des Wirkstoffes Melocont-Pilzgerste mit Kreiselwalze. Die Kreiselwalze wird im Steilhang mittels einer Seilwinde gelenkt. Applikationstiefe: ca. 15 cm.



Bild 4

Melolontha melolontha befallene Steilhangwiese. Das stark geschädigte Versuchsfeld wurde im Herbst 2007 in den Steilhangflächen mit Winterroggen als Deckfrucht gesichert. Vor dem Feldspritzeneinsatz wurde der Roggen abgemäht.

**Bild 5**

Ausbringung von Melocont-SporenWasser mit Hilfe eines Vollsprayers (Feldspritze mit 12 m Armlänge). Die Pilzsporen werden nur auf die Grünlandoberfläche gesprüht und hernach mit Hilfe der Kreiselwalze bzw. Kreiselegge in den Boden eingearbeitet.

**Bild 6**

Ausbringung von Melocont-SporenWasser mit Hilfe einer Feldspritze.



Bild 7

Ausbringung von Melocont-Pilzmyzel mit Hilfe eines Vollsprayers (Feldspritze mit 12 m Armlänge). Die Pilzbiomasse wird nur auf die Grünlandoberfläche gesprüht und hernach mit Hilfe der Kreiselwalze bzw. Kreiselegge in den Boden eingearbeitet.

**Bild 8**

Kreiselegge mit Zinkrotoren zum Einfräsen des Pilzwirkstoffes Melocont (*Beauveria brongniartii*) zur Bekämpfung der Maikäfer-Larven (*Melolontha melolontha*).

**Bild 9**

Einarbeitung der Melocont-Wirkstoffformulierungen mit der Kreiselegge. Empfohlene Maßnahme zur umbruchlosen Pilzgerste-Applikation im Dauergrünland. Applikationstiefe: ca. 10 cm.



Bild 10

Melocont-SporenWasser Applikation mit
Lanzeninjektor.
Applikationstiefe: ca. 10 cm.

**Bild 11**

Ausbringung von Melocont®-Pilzgerste mit
Hilfe einer Schlitzsämaschine (Vredo).
Applikationstiefe: ca. 5 cm.

**Bild 12**

Händische Aussaat von Melocont®-Pilzgerste.
Der Wirkstoff wird mit Hilfe einer Kreiselegge
bzw. Kreiselwalze in den Boden
eingearbeitet.
Applikationstiefe: 10 cm bis 15 cm.

