

## **Apfelwickler-Granulovirus: Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen**

### **Codling moth granulovirus: Variations in the susceptibility of local codling moth populations**

Eva Fritsch<sup>1</sup>); Karin Undorf-Spahn<sup>1</sup>); Jutta Kienzle<sup>2</sup>); Claus P.W. Zebitz<sup>3</sup>); Jürg Huber<sup>1</sup>)

**Key words:** Plant protection, codling moth granulovirus, fruit production, *Cydia pomonella*.

**Schlagwörter:** Pflanzenschutz, Apfelwickler-Granulovirus, Obstbau, *Cydia pomonella*.

#### **Abstract:**

*This study is part of a BMELV (German Federal Ministry for, Food, Agriculture and Consumer Protection) project on prevention of codling moth damage by long-term population control on large areas. Local codling moth (CM) populations were collected in autumn 2003 from three different orchards in the South of Germany; two of them having been treated with granulovirus of codling moth for many years and one since two years. In autumn 2004, in addition to the three locations from the previous year, specimens from populations in four other orchards with serious CM problems were collected.*

*The susceptibility of the offsprings of the overwintering larvae to CpGV was investigated in the spring of the following year in bioassays on artificial diet and compared to a laboratory strain of the codling moth. The results indicated significant differences in sensitivity to the virus between the local codling moth populations. The LC<sub>50</sub>-values showed that two of the populations sampled in 2003 were more than thousand fold less susceptible than the third population and the laboratory strain. The results from the bioassays from the descendents of the diapausing larvae sampled in 2004 and 2005 confirmed the low susceptibility of two already in 2003 sampled populations and showed an up to thousand fold resistance also for the larvae from the new locations.*

*For the time being, the problem of reduced sensitivity to the virus seems to be limited to a few orchards in Germany, the majority of orchards being not affected.*

#### **Einleitung:**

Das Apfelwickler-Granulovirus (CpGV) wird im Ökologischen Obstbau schon seit über einem Jahrzehnt mit großem Erfolg eingesetzt. In den letzten Jahren wurde es auch im integrierten Anbau in den meisten Regionen Deutschlands zum festen Bestandteil der Apfelwicklerbekämpfung. Im Vordergrund der Strategien steht oft nicht nur die direkte Reduktion des Fruchtschadens, sondern auch die Reduktion der Population für die Folgegeneration.

Die Strategie der langfristigen Reduktion der Apfelwicklerpopulation auf großer zusammenhängender Fläche stand auch im Zentrum eines Forschungs- und Entwicklungsprojektes des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL), das vom Hopfenbauverein Immenstaad in

---

<sup>1</sup>) BBA, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstr. 243, D-64287 Darmstadt

<sup>2</sup>) Apfelblütenweg 28, D-71394 Kernen

<sup>3</sup>) Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, D-70593 Stuttgart

Zusammenarbeit mit der Universität Hohenheim und dem Institut für biologischen Pflanzenschutz der BBA in Darmstadt durchgeführt wird.

Vor vier Jahren wurden erstmals in einer Apfelanlage in Süddeutschland Probleme bei der Bekämpfung des Apfelwicklers mit dem Granulovirus (CpGV) beobachtet. Daraufhin wurden im Herbst 2003 aus dieser Apfelanlage sowie in zwei weiteren Anlagen ohne größere Bekämpfungsprobleme Diapausetiere gesammelt und am Institut für biologischen Pflanzenschutz der BBA in Darmstadt untersucht. Eine dieser Anlagen wurde schon längere Zeit ökologisch bewirtschaftet und eine nach integrierten Richtlinien mit Einsatz von Granulovirus gegen Apfelwickler. In den Biotests im Labor wurde nicht nur für die Population aus der Problemanlage, sondern auch für die Tiere aus der längerfristig ökologisch bewirtschafteten Anlage ohne größere Bekämpfungsprobleme eine deutlich reduzierte Empfindlichkeit gegenüber dem Granulovirus nachgewiesen (FRITSCH et al. 2005). Die Untersuchungen von Diapauselarven des Apfelwicklers wurden daraufhin 2004 und 2005 fortgesetzt und auf zusätzliche Problemanlagen in Deutschland ausgeweitet.

#### **Material und Methoden:**

Die im Freiland gesammelten Diapauselarven wurden in Bellaplastschalen mit Wellpappstücken in Hohenheim in einem frostfreien Raum überwintert, im Frühjahr nach Darmstadt gebracht und dort unter Freilandbedingungen bis zum Schlüpfen der Falter gehalten. Zur Eiablage wurden von jeder Freilandpopulation die geschlüpften Falter in mit Baumwollgaze bespannte Zuchtkäfige umgesetzt. Zur Eiablage wurden Parafilm®-Streifen in die Zylinder eingehängt. Die Eier wurden alle 48h abgenommen und bei unterschiedlichen Temperaturen inkubiert, um für die Biotests Erstarven in ausreichender Zahl zur Verfügung zu haben.

Für die vergleichenden Untersuchungen kamen Tiere aus der Laborzucht des Apfelwicklers (AW), die seit mehr als 30 Jahren am Institut der BBA in Darmstadt etabliert ist, zum Einsatz. Die Apfelwickler-Zucht erfolgte im Wesentlichen nach der von (BATHON 1981) beschriebenen Methode.

Das in den Biotests eingesetzte Granulovirus des Apfelwicklers stammt von dem Wildtyp CpGV, Isolat M ("Mexican strain") (TANADA 1964) ab. Auf diesem Isolat beruhen die heute verwendeten CpGV-Handelspräparate.

Zur Bestimmung der Empfindlichkeit der Tiere aus den verschiedenen Apfelwicklerpopulationen diente ein von (HUBER 1981) standardisiertes Biotestsystem. Hierfür wurden frisch geschlüpften Eilarven der verschiedenen Stämme von *Cydia pomonella* über viruskontaminiertes Futter infiziert, um die Wirkung der Viren anhand der Larvenmortalität zu bestimmen. Die mit Erstarven bestückten Biotest-Raster wurden bei 26°C unter Lan tagbedingungen (16/8 Stunden H/D) inkubiert und nach 14 Tagen die Virusmortalität registriert.

Als klassische Methode zur statistischen Auswertung der Biotests diente die Probit-Analyse (MLP 3.08, NAG, Lawes Agricultural Trust, Rothamsted Experimental Station, 1987). Anhand der resultierenden Probit-Regressionsgeraden, wurde die Viruskonzentration berechnet, die eine Mortalität von 50% hervorruft. Dieser Wert, der als mittlere letale Konzentration (LC<sub>50</sub>) bezeichnet wird, stellt ein relatives Maß für die biologische Aktivität der Viren dar.

#### **Ergebnisse und Diskussion:**

Die LC<sub>50</sub>-Werte aus den Biotests zeigten signifikante Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Freilandstämme gegenüber dem Apfelwickler-

Granulovirus. Zwei Populationen (eine aus einer IP-Anlage ohne Bekämpfungsprobleme und eine aus einer unbehandelten Streuobstwiese) erwiesen sich in etwa gleich empfindlich wie der AW-Laborstamm. Vier weitere Stämme, die aus Problemanlagen stammten, wiesen eine etwa 1.000-fach geringere Empfindlichkeit gegenüber dem Granulovirus (Abb. 1) auf. Obwohl in der Anlage „BW FN 03“ im Jahr 2003 die Kontrolle mit CpGV zufriedenstellend war, wiesen jedoch auch die aus dieser Anlage gesammelten Tiere eine Minderempfindlichkeit auf. Im Jahr 2005 kam es aber auch in dieser Anlage zu Bekämpfungsproblemen.

Die LC<sub>50</sub> des AW-Stammes „BW HA 04“ unterschied sich nicht signifikant von der des Laborstammes. Im Biotest fiel jedoch auf, dass selbst bei hohen Viruskonzentrationen die Mortalität der Versuchstiere nicht über 85% anstieg. Auch der flache Verlauf der Dosis-Wirkungsgeraden deutet daraufhin, dass es sich bei diesem Freilandstamm um eine Mischpopulation von unterschiedlich empfindlichen Tieren handelt. Hier hat offensichtlich bereits ein Adaptionprozess an das Granulovirus begonnen, der sich in einer Minderempfindlichkeit bei einigen Individuen deutlich zeigt.

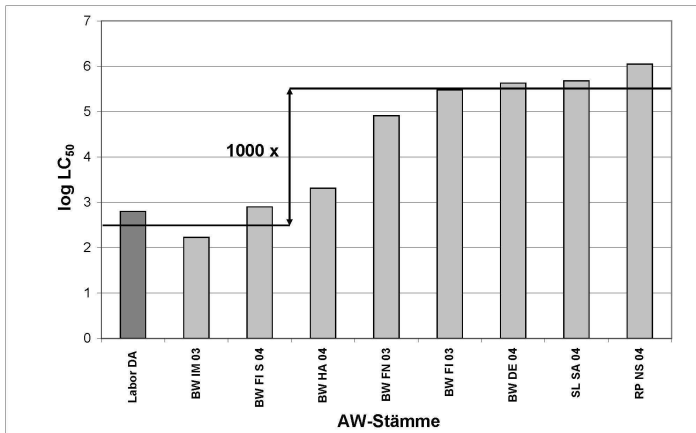


Abb. 1: Empfindlichkeit der AW-Stämme aus verschiedenen Anlagen gesammelt in den Jahren 2003 und 2004.

In den Anlagen, die über drei Jahre beobachtet wurden, konnten keine signifikanten Veränderungen in der Empfindlichkeit der Apfelwicklerlarven seit Beginn des Projektes festgestellt werden (Abb. 2). Im Laufe des Untersuchungszeitraumes blieb die erstmals nachgewiesene Empfindlichkeit (BW-IM) bzw. Resistenz (BW-FI und BW-FN) dieser AW-Stämme unverändert. Ein ähnliches Ergebnis wurde bei der Weiterzucht eines unempfindlichen Stammes (BW FI 03) im Labor über zwei Jahre ohne Selektionsdruck durch das CpGV erzielt. Dieser minderempfindliche AW-Stamm wies auch in der 10. Generation eine stabile Resistenz auf.

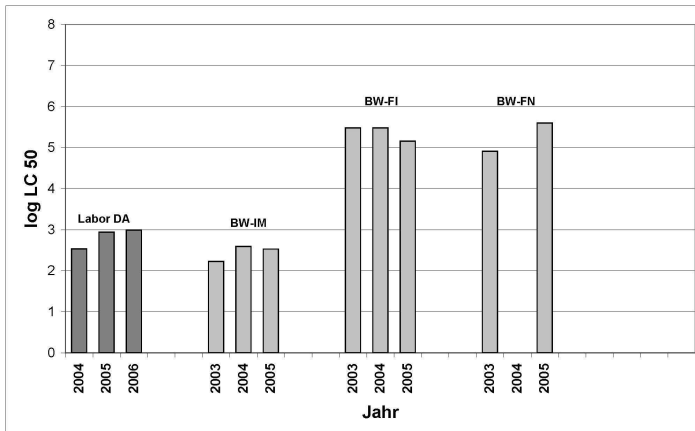


Abb. 2: Vergleich der Empfindlichkeit einzelner AW-Stämme über drei Jahre.

Die im Jahr 2006 weitergeführten Untersuchungen wurden auf 13 Anlagen mit Bekämpfungsproblemen in mehreren Bundesländern in Deutschland ausgedehnt. Die hierzu bereits vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass in nahezu allen untersuchten Apfelanlagen Resistenzen vorliegen. Die Mehrzahl der ökologisch bewirtschafteten Anlagen in Deutschland weist jedoch nach wie vor keine Bekämpfungsprobleme auf. Für die Zukunft muss jedoch auf jeden Fall eine effiziente Strategie zum Resistenzmanagement erarbeitet werden.

Inwieweit resistente Apfelwicklerpopulationen durch den Einsatz des CpGVs neu entstanden sind, oder ob diese schon immer im Freiland vorkamen, muss noch erforscht werden.

#### Literatur:

Bathon, H., 1981: Zur Zucht des Apfelwicklers, *Laspeyresia pomonella* (L.) (Lep., Tortricidae), auf einem künstlichen Nährmedium. Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Ent. **2**, 136-140.

Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zebitz, C.P.W.; Huber, J., 2005: Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., **57**(2), 29-34.

Huber, J., 1981: Apfelwickler-Granulosevirus: Produktion und Biotests. Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Ent. **2**, 141-145.

Tanada, Y., 1964: A granulosis virus of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (Olethreutidae, Lepidoptera). J. Insect Pathol. **6**, 378-380.