

Markierung von Erzwespen (*Pnigalio agraulis*) für Untersuchungen zu deren Ausbreitungs- und Parasitierungsverhalten

Marking of *Pnigalio agraulis* (Hymenoptera: Eulophidae) for field studies on dispersal and parasitism

Julia Janke, Dr. Martina Bandte, Dr. Giselber Grabenweger, Dr. Barbara Jäckel, Prof. Dr. Hartmut Balder und Prof. Dr. Carmen Büttner

Zusammenfassung

Die Erzwespe *Pnigalio agraulis* (Wlk.) ist einer der wichtigsten natürlichen Gegenspieler der Kastanienminiermotte (*Cameraria obridella* DESCHKA & DIMIĆ (Lepidoptera: Gracillariidae). Es wird eine Methode zur Markierung dieser Insekten vorgestellt, mit der das Bewegungs- und Ausbreitungsverhalten der Parasitoide im Freiland ermittelt werden kann. Bei diesen Untersuchungen – MRR- („Mark-Release-Recapture“) Studien – werden die Insekten zunächst markiert, freigelassen und anschließend wieder eingefangen. Die Markierung erfolgt serologisch und basiert auf einem wirbeltierspezifischen Immunglobulin (IgG). Diese Markierung kann später mit Hilfe eines double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) nachgewiesen werden.

Summary

The parasitoid wasp *Pnigalio agraulis* (Wlk.) is one of the main natural enemies of the horse chestnut leaf miner *Cameraria obridella* DESCHKA & DIMIĆ (Lepidoptera: Gracillariidae). A method is introduced to mark these insects for “Mark-Release-Recapture” studies aimed at investigating the dispersal of this parasitoid in the field. The serological procedure is based on a vertebrate-specific immunoglobulin (IgG) to mark the insects. This marker is later detected by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA).

1 Erzwespen, Parasitoide der Kastanienminiermotte

Die Kastanienminiermotte (*Cameraria obridella*) gehört zu den invasiven Arten, die sich seit der ersten Beschreibung 1986 (DESCHKA & DIMIĆ 1986) in weiten Teilen Europas sehr schnell und stark ausgebreitet hat (HEITLAND et al. 1999). Inzwischen wird die Kastanienminiermotte als bedeutendster Schädling der weißblühenden Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum*) eingestuft (TOMICZEK & KREHAN 1998). Sie tritt mit ho-

hen Populationsdichten auf und verursacht an den befallenden Bäumen einen vorzeitigen Blattfall bis hin zum totalen Blattverlust (AUGUSTIN et al. 2004). Eine erfolgreiche Bekämpfung erfordert gerade auch im urbanen Bereich gezielte und nachhaltige Strategien. Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Prüfung, in wieweit der Einsatz von Erzwespen zu einem erfolgreichen Bekämpfungskonzept beitragen kann.

4 Wissenschaftliche Kurzberichte

Bislang sind über 20 Arten von Parasitoiden identifiziert worden, die auf *C. obridella* vorkommen (GRABENWEGER 2003). Viele von ihnen sind in unseren Breiten seit langem heimisch (GIRARDOZ et al. 2006). *Pnigalio agraulis* wurde bisher an 42 verschiedenen Blattminierern nachgewiesen, hauptsächlich an Lepidopteren und Dipteren (NOYES 2002). Die Weibchen dieses Ektoparasiten lähmen die Wirtslarve durch die Injektion von Gift vor der Eiablage. Die Larve kann sich nach erfolgter Parasitierung nicht mehr weiterentwickeln und stirbt innerhalb kurzer Zeit ab.

Um die Ausbreitung eines Schädling erfolgreich zu unterbinden und damit eine bestandesregulierende Wirkung zu erzielen, sind Parasitierungsraten von mindestens 36 % erforderlich (HAWKINS et al. 1993). Die in Mitteleuropa ermittelten Parasitierungsraten der Kastanienminiermotte liegen mit 0 bis 10 % (HEITLAND et al. 1999) deutlich darunter. Als Ursache wird die mangelnde Synchronisation zwischen der Phänologie von *C. obridella* und der ihrer Parasitoide diskutiert (GRABENWEGER 2004). So schlüpfen die meisten Parasitoide der Kastanienminiermotte wie auch *Pnigalio agraulis* im Frühjahr mindestens fünf Wochen vor dem Auftreten der ersten parasitierungsfähigen Larvenstadien der Miniermotte. Die sehr polyphagen Erzwespen könnten somit eine Generation auf einem alternativen, früher auftretenden Wirt durchlaufen.

Um diese Hypothese verifizieren zu können, müssen detaillierte Kenntnisse zur Biologie, Populationsdynamik und zum Verhalten der Parasitoide im Freiland vorliegen. Die Studien zum Bewegungs- und Ausbreitungsverhalten in ihrer natürlichen Umgebung sind dabei von besonderer Bedeutung. Erst dann kann die Effizienz der Erzwespen als natürliche Gegenspieler bei einem Einsatz im Rahmen des biologischen Pflanzenschutzes bewertet werden und entsprechende Strategien abgeleitet werden.

2 Verfahren zur Markierung von Insekten

Das Ausbreitungsverhalten von Insekten wird in der Regel mittels MRR-Studien („mark-release-recapture“) untersucht. Hierzu werden die zu untersuchen-

den Insekten markiert, im Freiland freigelassen und nach einer festgelegten Zeitspanne wieder eingefangen. Der Zeitpunkt wann und der Ort wo die Tiere eingefangen werden geben dabei Rückschluss auf das Ausbreitungsverhalten der Tiere.

Es steht eine Vielzahl an Methoden zur Verfügung, um Insekten zu markieren. Gebräuchliche Methoden sind beispielsweise das Anbringen von Farbmarkierungen, die Züchtung äußerlich erkennbarer genetischer Mutationen sowie die Verwendung von chemischen Elementen oder radioaktiven Markern (HAGLER & JACKSON 2001). Die Wahl der geeigneten Methode ist dabei vor allem von der Art, der Größe und dem Entwicklungsstadium des zu markierenden Insektes abhängig. Die Markierung darf dabei weder das natürliche Verhalten der Tiere behindern, noch ihr Wachstum, ihre Fortpflanzungsfähigkeit oder ihre Lebensdauer beeinflussen. Darüber hinaus sollte die Markierung leicht anzubringen und über einen langen Zeitraum hinweg eindeutig nachweisbar sein.

Basierend auf der von HAGLER et al. (1992) für Weichwanzen, Marienkäfer (HAGLER 1997) und Apheliniden (HAGLER et al. 2002) entwickelten Markierungsmethode wird ein Verfahren vorgestellt, dass sich für Studien zur Ermittlung des Ausbreitungs- und Parasitierungsverhaltens der Erzwespe *Pnigalio agraulis* eignet.

3 Optimiertes Verfahren zur Markierung von Erzwespen

Bei dem erarbeiteten Verfahren werden die Erzwespen zunächst mit wirbeltierspezifischen Immunglobulinen markiert. Diese Markierung kann dann mit Hilfe eines DAS-ELISA (double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay) nachgewiesen werden und ermöglicht am Einzelindividuum eine Unterscheidung zwischen markierten und unmarkierten Tieren.

Die Markierung der Erzwespen (*Pnigalio agraulis*) erfolgt mit Goat-Anti-Rabbit Immungammaglobulin (IgG) (I5006, Sigma) durch Besprühung der Käfiginnenwänden mit 1 mg IgG/40 Tiere. Der serologische Nachweis der behandelten *Pnigalio agraulis*

Markierung von Erzwespen für Untersuchungen zu Ausbreitungs-/Parasitierungsverhalten

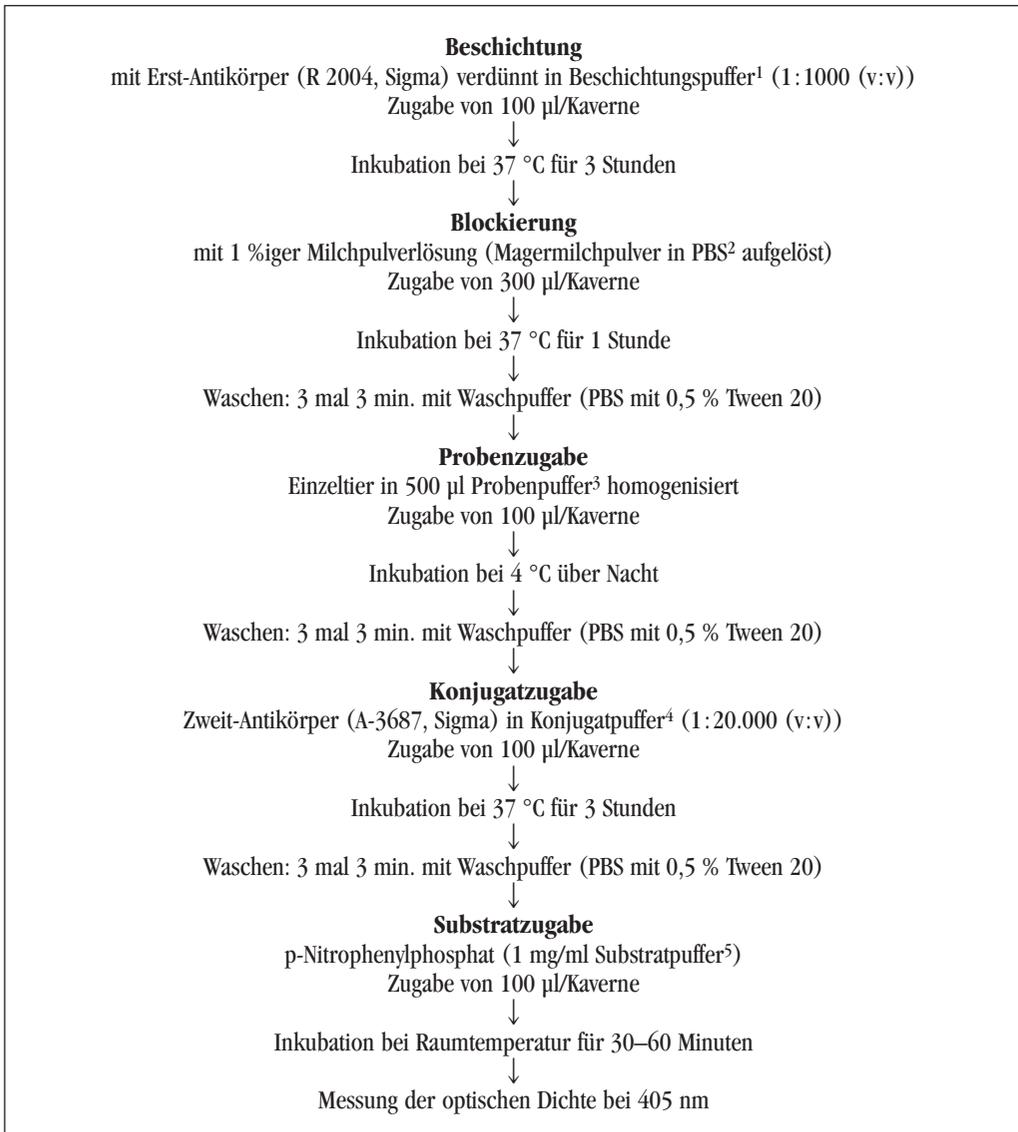


Abbildung 1: Arbeitsschritte zum Nachweis markierter Erzwespen (*Pnigalio agraulis*) im Verfahren eines DAS-ELISA (double antibody sandwich enzyme-linked-immunosorbent assay)

¹ Beschichtungspuffer (13 mM Na₂CO₃, 35 mM NaHCO₃, pH 9,6)

² PBS (136,9 mM NaCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2,6 mM KCl und 1,5 mM KH₂PO₄, pH 7,4)

³ Probenpuffer (PBS mit 2 % Polyvinylpyrrolidon (w:v) und 0,05 % Tween 20 (v:v), pH 7,4)

⁴ Konjugatpuffer (PBS mit 2 % Rinderserumalbumin Fraktion V (w:v) und 0,05 % Tween 20 (v:v), pH 7,4)

⁵ Substratpuffer (97 ml Diethanolamin (99 %) in 1000 ml aqua dest., pH 9,8)

4 Wissenschaftliche Kurzberichte

erfolgte mit einem DAS-ELISA in fünf Arbeitsschritten: Beschichtung, Blockierung, Proben-, Konjugat- und Substratzugabe (Abbildung 1). Die Auswertung erfolgt durch Messung der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 405 nm mit Hilfe eines Mikrotiterplattenphotometers.

Die Vorgehensweise ermöglicht am Einzelindividuum eine sichere Differenzierung zwischen markierten und unmarkierten Tiere. Dabei ist der Nachweis unabhängig vom Geschlecht der Tiere sowie deren Alter zum Zeitpunkt der Behandlung. Die Markierung ist über den gesamten Lebenszeitraum der Erzwespen nachzuweisen; eine höhere Mortalität bzw. eine Verkürzung der Lebensdauer trat nicht auf.

4 Ausblick

Mit der hier vorgestellten Methodik lassen sich mit markierten *Pnigalio agraulis* Untersuchungen zu deren Bewegungs- und Ausbreitungsverhalten im Freiland durchführen. Diese bieten eine solide Grundlage für die Bewertung von Möglichkeiten des Einsatzes dieser Spezies zur Biologischen Bekämpfung der Kastanienminiermotte (*C. obridella*). So könnte eine auf einer mangelnden Synchronisation der Erzwespe *Pnigalio agraulis* und der Kastanienminiermotte basierende geringe Effizienz der Parasitierung mit einer Freilassung von Parasitoiden entgegengewirkt werden. Zu prüfen bleibt, ob eine Massenfreilassung der Erzwespen auch zu entsprechend hohen Parasitierungsraten führt.

Für ein effektives Management biologischer Pflanzenschutzmaßnahmen sind darüber hinaus Kenntnisse zum optimalen Ausbringungszeitpunkt, der erforderlichen Populationsdichte, der Wahl der Ausbringungsorte sowie den zeitlichen Abständen zwischen den Freilassungen unerlässlich. Solche Daten müssen ebenfalls in Freilandversuchen mit entsprechend markierten Einzelindividuen ermittelt werden.

Literatur

- AUGUSTIN, S.; GUICHARD, S.; SVATOS, A.; GILBERT, M., 2004: Monitoring the Regional Spread of the Invasive Leafminer *Cameraria obridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) by Damage Assessment and Pheromone Trapping. *Environ. Entomol.* 33 (6), 1584–1592.
- DESCHKA, G.; DIMIC, N., 1986: *Cameraria obridella* sp. n. (Lep., Lithocolletidae) aus Mazedonien, Jugoslawien. *Acta Entomol. Jugosl.* 22 (1–2), 11–23.
- GIRARDOZ, S., KENIS, M.; QUICKE, D. L. J., 2006: Recruitment of native parasitoids by an exotic leaf miner, *Cameraria obridella*: host-parasitoid synchronization and influence of the environment. *Agricultural and Forest Entomology* 8, 49–56.
- GRABENWEGER, G., 2003: Parasitism of different larval stages of *Cameraria obridella*. *Biocontrol* 48, 671–684.
- GRABENWEGER, G., 2004: Poor control of the horse-chestnut leaf-miner, *Cameraria obridella* (Lepidoptera: Gracillariidae), by native European parasitoids: a synchronisation problem. *European Journal of Entomology* 101, 189–192.
- HAGLER, J. R.; COHEN, A. C.; BRADLEY-DUNLOP, D.; ENRIQUEZ, F. J., 1992: New approach to mark insects for feeding and dispersal studies. *Environ. Entomol.* 21, 20–25.
- HAGLER, J. R., 1997: Field Retention of a Novel Mark-Release-Capture Method. *Environ. Entomol.* 26 (5), 1079–1086.
- HAGLER, J. R.; JACKSON, C. G., 2001: Methods For Marking Insects: Current Techniques and Future Prospects. *Annual Review of Entomology* 46, 511–543.
- HAGLER, J. R.; JACKSON, C. G.; HENNEBERRY, T. J.; GOULD, J. R., 2002: Parasitoid Mark-Release-Recapture Techniques – II. Development and Application of a Protein Marking Technique for *Eretmocerus* spp., Parasitoids of *Bemisia argentifolii*. *Biocontrol Science and Technology* 12, 661–675.
- HAWKINS, B. A.; THOMAS, M. B.; HOCHBERG, M. E., 1993: Refuge theory and biological control. *Science* 262, 1429–1432.
- HEITLAND, W.; KOPELKE, J.-P.; FREISE, J. E.; METZGER, J., 1999: Ein Kleinschmetterling erobert Europa – die Rosskastanien-Miniermotte *Cameraria obridella*. *Natur und Museum* 129(6), 186–195.
- NOYES, J. S., 2002: Interactive catalogue of world Chalcidoidea. CD-ROM published by Taxapad, Vancouver.
- TOMICZEK, C.; KREHAN, H.; 1998: The horsechestnut leafmining moth (*Cameraria obridella*): a new pest in central Europe. *J. Arbovic.* 24, 144–148.

Markierung von Erzwespen für Untersuchungen zu Ausbreitungs-/Parasitierungsverhalten

Autoren

Frau Julia Janke fertigte Ihre Graduierungsarbeit zum Bachelor of Agricultural Science in dem von *Frau Prof. Carmen Büttner* geleiteten Fachgebiet Phytomedizin an; *Frau Dr. Martina Bandte* ist dort wissenschaftliche Mitarbeiterin.

Frau Dr. Barbara Jäckel vom Pflanzenschutzamt Berlin leitet in Kooperation mit *Herrn Prof. Dr. Hartmut Balder* von der Technischen Fachhochschule Berlin das Forschungsprojekt „BerlinCam“, mit dem umweltverträgliche und praxisorientierte Maßnahmen zur Bekämpfung der Roßkastanienminiermotte, *Cammeraria ohridella* in Berlin erarbeitet werden sollen. *Herr Dr. Giselher Grabenweger* ist wissenschaftlicher Mitarbeiter in diesem Forschungsprojekt.

*Julia Janke,
Dr. Martina Bandte und
Prof. Dr. Carmen Büttner
Humboldt-Universität
zu Berlin
Fachgebiet Phytomedizin
Lentzeallee 55/57
14195 Berlin
phytomedizin@agrar.hu-
berlin.de*



*Dr. Giselher Grabenweger
und
Prof. Dr. Hartmut Balder
Technische Fachhochschule
Berlin,
Fachbereich V Gartenbau,
Luxemburger Straße 10
D-13353 Berlin*



*Dr. Barbara Jäckel
Pflanzenschutzamt Berlin,
Möbriner Allee 137
12347 Berlin*

