



## Des einen Freund – des anderen Feind

Untersuchung zum Verhalten von entomopathogenen Nematoden an Mehlwürmern und Wachsmottenlarven

Fadenwürmer (Nematoden) der Art *Steinernema feltiae* werden heute zur biologischen Schädlingsbekämpfung in der Champignonzucht oder auf Golf- und Fußballplätzen eingesetzt. Sie sind relativ kostengünstig, lagerfähig und können mit herkömmlichen Methoden ausgebracht werden. Zur weiteren Optimierung ihres Einsatzes wird in dieser Arbeit untersucht, wie die Nematoden auf Mehlwürmer und Wachsmottenlarven reagieren.

### 1 Einleitung

Der Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln führt zu einer immer größer werdenden Belastung des Naturhaushalts. Wesentliche Nebenwirkungen beim Einsatz chemischer Pflanzenschutzmittel bestehen darin, dass sowohl Boden, Wasser und Luft, als auch der Mensch kontaminiert werden. Inzwischen hat man sogar Resistenzen bei den so genannten Zielorganismen festgestellt, so dass ein uneingeschränkter Einsatz dauerhaft nicht möglich ist. Die biologische Schädlingsbekämpfung kann daher eine Lösung für die Schließung einer Bekämpfungslücke sein.

Derzeit werden zum Beispiel Nematoden der Art *Steinernema feltiae* zur biologischen Schädlingsbekämpfung in der Champignonzucht oder Heterorhabditis bacteriophora auf Golf- und Fußballplätzen eingesetzt. Der Vorteil liegt darin, dass die Nematoden relativ kostengünstig in künstlichen Nährmedien vermehrt werden können. Weitere Vorteile sind die Lagerfähigkeit der Dauerlarven und die Ausbringung mit praxisüblicher Spritztechnik.

Gegenstand dieser Arbeit war es, das Bewegungsverhalten entomopathogener Nematoden der Art *Steinernema feltiae* zu untersuchen. Bei

den Versuchen wurde darauf eingegangen, wie unterschiedliche Bedingungen Nematoden in ihrer Nahrungswahl beeinflussen. Hierbei sollte vor allem geprüft werden, wie entomopathogene Nematoden in ihrem Bewegungsverhalten beeinflusst werden, wenn lebende und tote Mehlwürmer angeboten werden. Des Weiteren wurde die Reaktion von *Steinernema feltiae* auf Wachsmottenlarven untersucht, wenn diese mit hohen Konzentrationen von Hämolymphe in Kontakt gekommen waren.

### 2 Lebensweise von Nematoden

Nematoden sind eine sehr anpassungsfähige Tierklasse. Daher besiedeln sie fast jeden Lebensraum auf der Erde. Nematoden sind in der Tiefsee, aber auch im Hochgebirge anzutreffen. Vorwiegend sind sie aber in feuchten Lebensräumen, wie zum Beispiel im nassen Boden, im feuchten Pflanzengewebe oder in Körperflüssigkeiten und Geweben von Tieren zu finden ([4], [2]).

In der Biosphäre sind unter den Nematoden derzeit ca. 15 000 Arten bekannt. Vermutlich leben aber über 500 000 Arten auf der Erde [2]. Zum größten Teil handelt es sich um harmlose Bodenbewohner. Einige Nematodenarten können erhebliche Pflanzenschäden anrichten. Andere können sich im Tier oder im Menschen als Parasiten ansiedeln [4]. Im Rahmen dieser Ar-

#### Autorin

Vivien Miriam Rohwedder, \*1987  
Preetz

Friedrich-Schiller-Gymnasium,  
Preetz

Eingang der Arbeit:  
Juli 2007

Zur Veröffentlichung angenommen:  
August 2007



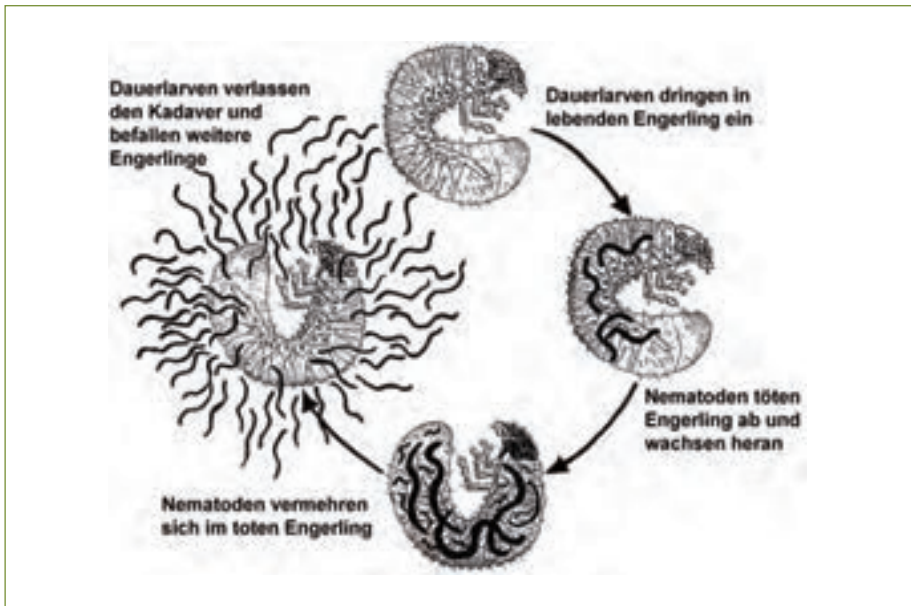


Abb. 1: Lebenszyklus von entomopathogenen Nematoden in Engerlingen. Bild: e-nema GmbH [4]

beit stehen die entomopathogenen Nematoden der Familie Steinernematidae im Mittelpunkt der Untersuchungen.

Die Nematoden der Art *Steinernema feltiae* sind eine symbiotische Beziehung zu Bakterien der Gattung *Xenorhabdus* eingegangen. „Die Bakterien gehören zu den Enterobacteriaceae, sind also nah verwandt mit *Escherichia coli*, unserem Darmbakterium. Sie sind jedoch für den Menschen ungefährlich. Außerdem sterben sie bei Temperaturen über 35 °C ab. Dank dieser Symbiose sind die Nematoden in der Lage, die befallenen Insekten rasch abzutöten.“ [4, S.2]. Der Lebenszyklus der entomopathogenen Nematoden besteht aus vier unterschiedlichen Stadien (siehe Abb. 1):

Die im Boden lebenden, ca. 1 mm langen und im Durchmesser ca. 0,2 mm großen Dauerlarven der Nematoden (siehe Abb. 2) haben ein Zellpaket ihrer Begleitbakterien im Darm. Im vorderen Darmbereich werden die Zellen des symbiotischen Bakteriums aufbewahrt [1].

Die Nematoden dringen auf unterschiedliche Arten in den Wirt ein. *Heterorhabditis* Arten besitzen einen Haken, der ihnen das direkte

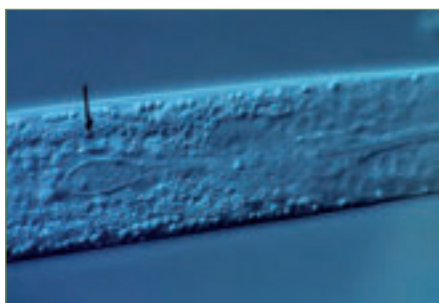


Abb. 2: Dauerlarve der Nematodenart *Steinernema feltiae* mit den eingeschlossenen Bakterien. Bild: e-nema GmbH [4]

Eindringen durch die Haut des Wirtsinsekts ermöglicht (siehe Abb. 3). Zum Teil gelangen sie aber auch über den Umweg durch den Darmkanal oder durch das Tracheensystem [12] bzw. durch die Mundöffnung der Insekten in den Organismus ([10], [6], [9]).

Nach Vordringen in das Insektenblut (Hämolymphe) werden die Bakterien abgegeben. Bakterien und Nematoden produzieren Toxine und siedeln sich in der Hämolymphe an, so dass die Insekten ca. 2 Tage später sterben. Dabei vermehren sich die Bakterien weiter im Wirt und bilden somit eine ideale Nahrungsgrundlage für die Nematoden, die sich von dem vorverdauten Insektengewebe und den Bakterien ernähren. Wenn der Wirt komplett verwertet ist, bilden sich wieder Dauerlarven, die den Kadaver auf der Suche nach neuen Brutstätten verlassen [4].

### 3 Versuchsorganismen und verwendete Medien

#### 3.1 Versuchsorganismen

##### Nematoden (Nematoda):

Zur Untersuchung des Verhaltens von entomopathogenen Nematoden wurden Exemplare der Art *Steinernema feltiae* verwendet. Diese wurden aus der Stammsammlung des Instituts für Phytopathologie entnommen. Die Nematoden wurden in einem Fermenter bei 25 °C vermehrt und bei 6 °C gelagert. Der Einsatz moderner biotechnischer Geräte erwies sich als effiziente Methode zur Reproduktion von Nematoden. Außerdem wurde *Steinernema feltiae* ausgesucht, weil sie Wachsmottenlarven und Mehl-



Abb. 3: Vorderende der Nematodenart *Heterorhabditis bacteriophora* mit dem Haken. Bild: e-nema GmbH [4]

würmer als Wirtstiere bevorzugen. Bei den Versuchen wurden Dauerlarven (siehe Abb. 4) im Verhältnis 1:10 mit Wasser verdünnt. Die In-



Abb. 4: Dauerlarve der Art *Steinernema feltiae*

jektion in die Insekten erfolgte jeweils mit einer 100 µl großen Spritze. Hierbei wurden ca. 200 Dauerlarven injiziert.

##### Mehlwürmer (*Tenebrio molitor*):

Als Wirtsinsekt wurden Larven des Mehlwurms verwendet (siehe Abb. 5). Die Mehlwürmer können bis zu 30 mm groß werden und sind deshalb gut handhabbar. Die Lagerung erfolgte bei 14 °C. Die Mehlwürmer wurden im Versandhandel erworben, da eine Zucht nur schwer möglich ist.



Abb. 5: Mehlwurm





Abb. 6: Wachsmottenlarve

## Große Wachsmottenlarven (*Galleria mellonella*):

Die große Wachsmottenlarve gilt als Schädling, weil ihre Larven sich von Pollen, Brutrückständen und Wachs von Bienenarten ernähren. Sie ist das am häufigsten verwendete Insekt bei der Arbeit mit entomopathogenen Nematoden. Im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchungen sind die großen Wachsmottenlarven besonders geeignet, da sie relativ groß und einfach zu lagern sind. Außerdem ist die Entnahme von Hämolymphe gut möglich.

Für die Züchtung im Phytopathologischen Institut sind folgende Medien verwendet worden:

22 % Maismehl, 22 % Weizen-Vollkornmehl, 11 % Sojamehl, 11 % Honig, 11 % Glycerol, 5,5 % Hefe und 17,5 % Bienenwachs [13]. Für die Herstellung des Mediums wurde das Bienenwachs bei 80 °C geschmolzen. Dann wurden Honig, Glycerol und Hefe bei 80 °C zu einer homogenen Masse vermischt. Zu dieser Masse

## Glossar

### Biosphäre:

Gesamtheit der Ökosysteme

### Tracheensystem:

Atemröhrensystem

### Fermenter:

Bioreaktor zur Vermehrung von Nematoden

### Hämolymphe:

Blutflüssigkeit wirbelloser Tiere mit offenem Blutgefäßsystem (aus: Duden, Fremdwörterlexikon, 1974, S. 281)

### Hämocyten:

Blutzellen

### Inokulationsort:

Ort der Impfung, in diesem Fall mit *Steinernema feltiae*

### Bifurkation:

Teilung

wurde dann das Maismehl, Weizen-Vollkornmehl und das Sojamehl gegeben. Zusammen mit dem geschmolzenen Bienenwachs ergibt sich eine homogene Masse, die den Wachsmottenlarven als Nahrung dient.

## Hämolymphe:

Die Leibeshöhle der Wachsmottenlarve wird durch die Hämolymphe ausgefüllt. Diese Leibeshöhlenflüssigkeit enthält zum einen Plasma, zum anderen die Hämocyten. Die Hämolymphe macht 5-40 % des gesamten Wasserhaushalts des Tieres aus. Die Menge hängt u. a. von der Art, dem Entwicklungs- und Ernährungsstatus sowie von diversen Außenfaktoren (z. B. Temperatur, Luftfeuchtigkeit) ab. Sie kann farblos, aber auch durch Pigmente gefärbt sein [6].

Zur Gewinnung der Hämolymphe wurden Wachsmottenlarven verwendet, da diese aufgrund der Größe der Tiere gut zu gewinnen ist und der Chitinpanzer nicht stark ausgeprägt ist. Die ca. 3 cm großen Tiere wurden mit Hilfe einer Kanüle angestochen. Dabei entstand ein Hämolymphtropfen, der mit einer Spritze aufgenommen wurde. Die Hämolymphe wurde dann mit dem Treherne-Puffer (siehe Kapitel 3.2) im Verhältnis 1:10 verdünnt.

## 3.2 Verwendete Medien

### Agarose:

Die Agaroseplatten wurden zur besseren Verfolgung der Nematodenbewegung verwendet, da man auf ihnen die Spuren der Nematoden nachweisen kann. Zur Herstellung der Agarose wurden die in Tabelle 1 genannten Stoffe zusammengeführt. Diese Flüssigkeit wurde auf Erlenmeyerkolben gefüllt und in einen Autoklaven gestellt. In diesem Sterilisator wurden die Kolben dann für 35 Minuten auf 120 °C erhitzt, damit Bakterien und andere Mikroorganismen abgetötet werden. Die Flüssigkeit wurde noch heiß in Petrischalen (14 cm Ø) abgefüllt. Diese Platten wurden dann in Plastiktüten verpackt und zum Abkühlen unter die Abzugshaube gestellt.

| Stoff                                 | Menge   |
|---------------------------------------|---------|
| NaCl                                  | 7,5 g   |
| KCl                                   | 0,35 g  |
| CaCl <sub>2</sub> * 2H <sub>2</sub> O | 0,21 g  |
| H <sub>2</sub> O dest.                | 1000 ml |

Tabelle 1: verwendete Stoffe zur Herstellung der Agarose

## Quarzsand:

Quarzsand wird für Versuche mit Nematoden und Insekten als Ersatz für Boden verwendet. Die Feuchtigkeit des Quarzsandes wurde mit Leitungswasser auf 8 Gewichtsprozent angemischt. Nematoden sind für ihre Bewegung auf einen Feuchtigkeitsfilm angewiesen. Der Boden darf nicht zu trocken sein, da sonst die Nematoden nicht wandern können. Zu nass darf es auch nicht sein, da Nematoden nicht schwimmen können und in Wassertropfen gefangen bleiben. Bei dem Sand handelte es sich um handelsüblichen Spielkastensand.

## Treherne-Puffer bzw. Insektenringer:

Diese Pufferlösung wird in den Versuchen für die Untersuchung mit Hämolymphe verwendet. Sie verhindert die Gerinnung der Hämolymphe, denn die Zellen platzen und verkleben dann nach einiger Zeit. In Tabelle 2 ist die Zusammensetzung aufgelistet.

| Stoff                                 | Menge     |
|---------------------------------------|-----------|
| NaCl                                  | 7,07 g/l  |
| CaCl <sub>2</sub>                     | 0,35 g    |
| CaCl <sub>2</sub> * 2H <sub>2</sub> O | 0,21 g    |
| KCl                                   | 1,86 g/l  |
| MgCl <sub>2</sub>                     | 0,19 g/l  |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 0,26 g/l  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 0,03 g/l  |
| Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan      | 2,18 g/l  |
| Phenolrot                             | 10 mg/l   |
| HCl                                   | 15 mg/l   |
| Phenylthioharnstoff                   | 0,24 mg/l |

Tabelle 2: Zusammensetzung des Treherne-Puffers

## 4 Methoden und Versuchsreihen

### 4.1 Versuchsreihe: Wanderung der Nematoden zu Wirtsinsekten

Zur Untersuchung des Wanderverhaltens von Nematoden wurde eine Versuchsanordnung mit einem so genannten Y-Olfaktometer gewählt. Dafür wurden im Baumarkt übliche Kunststoffrohre für Abwasserleitungen verwendet, die y-förmig zusammengesteckt wurden (siehe Abb. 7). Die Gesamtlänge eines Y-Meters beträgt 20 cm. Der untere Teil des Y hat einen Durchmesser von 6 cm, während die beiden oberen Äste

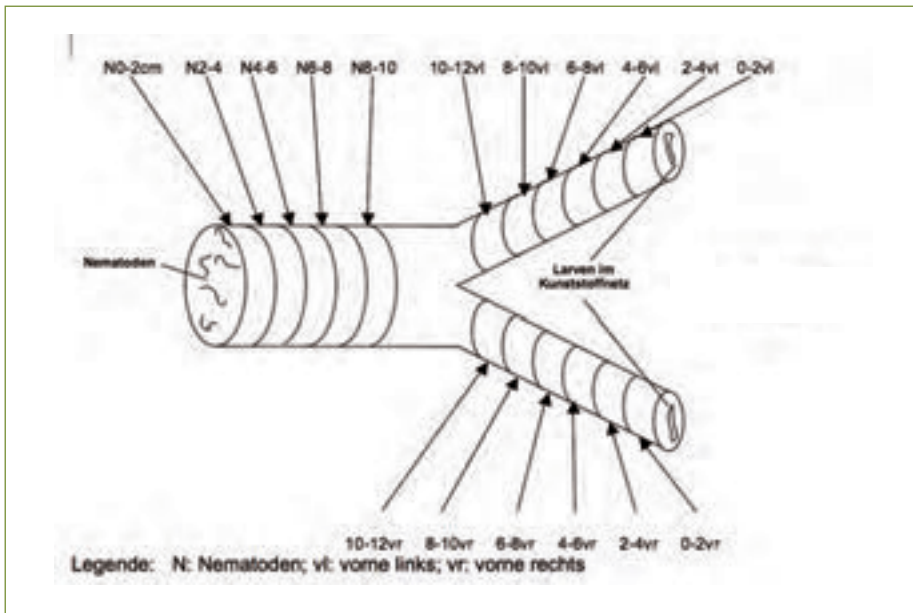


Abb. 7: Skizze eines Y-Meters

einen Durchmesser von 4 cm haben. Das gesamte Y-Meter wird mit Quarzsand gefüllt, so dass sich die Nematoden, die in den unteren Ast mit einer Spritze injiziert werden, frei bewegen können. Bei jedem Versuch wird eine Suspension von 100µl *Steinernema feltiae* (ca. 200 Nematoden) verwendet. An den beiden Öffnungen der oberen Äste sind dünne Kunststoffnetze gespannt worden, die verhindern sollen, dass der Quarzsand rausfällt. Hinter dem Kunststoffnetz wurde die Larve eines Mehlwurms (vgl. Kap. 3.1), eingewickelt in ein weiteres Kunststoffnetz, platziert. Das Netz wurde mit handelsüblichen Bürotackern zusammengehalten. Die Bewegungsfreiheit des Mehlwurms ist dabei nicht zu sehr eingeschränkt. Außerdem wurden alle Äste mit einem Deckel verschlossen, damit kein Licht hereinfällt. Das Y-Meter wurde bei 20 °C (Zimmertemperatur) für 24 Stunden aufbewahrt.

Zur Auswertung des Versuchs wurden im Abstand von 2 cm Bodenproben des Quarzsandes entnommen. Für die Entnahme ist eine 10 ml Spritzenhülle verwendet worden, deren „Flügel“ abgesägt worden waren. Die ml Angaben auf der Spritze dienten als Maß für die Tiefe der Probenentnahme. Die Proben des Sandes eines Abschnitts wurden dann mit dem 10-fachen Volumen Leitungswasser versetzt und kräftig geschüttelt und so die Nematoden vom Sand getrennt. Danach wurde eine Probe von 100 µl entnommen und mit Hilfe einer Zählplatte deren Anzahl *Steinernema feltiae* in 100 µl unter dem Mikroskop bestimmt.

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden jeweils viermal durchgeführt und die jeweiligen Mittelwerte gebildet.

### Reaktion auf lebende und tote Mehlwürmer

Zu Beginn des Versuches wurde jeweils in den linken Ast des Y-Meters ein lebender Mehlwurm in ein verschlossenes Kunststoffnetz gelegt. Im rechten Ast wurde ein toter Mehlwurm im Kunststoffnetz befestigt. Am unteren Ast des mit Quarzsand gefüllten Y-Meters wurde dann eine Suspension von 100µl *Steinernema feltiae* injiziert. Nach 24 Stunden wurde die Wanderungsbewegung der Nematoden analysiert.

### Reaktion auf lebende Mehlwürmer

Bei dieser Versuchsanordnung wurde im rechten Ast ein lebendiger Mehlwurm abgelegt. Im linken Ast ist dagegen kein Mehlwurm hinterlegt worden.

### Reaktion auf tote Mehlwürmer

Bei diesem Versuch wurde im rechten Ast des Y-Meters ein toter Mehlwurm abgelegt. Der linke Ast war leer.

### Reaktion ohne Mehlwürmer

Im letzten Versuch dieser Versuchsreihe wurden in beiden Ästen keine Mehlwürmer hinterlegt.

### 4.2 Versuchsreihe: Reaktion auf Hämolymphe

In der zweiten Versuchsreihe wurde die Reaktion der Dauerlarven auf Hämolymphe untersucht. Da die Hämolymphe mit Treherne-Puffer versetzt wurde, um die Gerinnung zu verhindern, wurde als Kontrolle ebenfalls Treherne-Puffer im Versuch angeboten, ebenso wie reines Wasser. In einer zweiten Versuchsanordnung wurden stattdessen lebende, unversehrte Wachsmottenlarven sowie angestochene und in Hämolymphe getränkte Wachsmottenlarven untersucht.

Für diese Versuchsreihe wurde unter eine mit Agarose gefüllte Petrischale (Ø 14 cm) eine Schablone gelegt (siehe Abb. 8). Diese ist in vier gleichmäßige Teile geteilt, um identische Messbedingungen zu erhalten. In jedem Viertel ist ein Punkt definiert, in dem Stoffe in einer Größenordnung von je 100 µl eingebracht werden. Die organischen Stoffe sind Wasser, Treherne-Puffer und Hämolymphe mit Treherne-Puffer verdünnt im Verhältnis 1:10. Zwei identische Stoffe werden gegenüberliegend angeordnet. Die gegenüberliegende Anordnung hat den Vorteil, dass die Bewegung der Nematoden besser dargestellt werden kann.

Für jeden Versuch wurden eine Suspension von 100 µl *Steinernema feltiae* in die Mitte der Petrischale eingebracht. Die Petrischalen wurden bis zu einer Stunde bei Zimmertemperatur gelagert. Danach wurden die Petrischalen in einem Wärmerraum mit 24,4 °C gelagert, um nach 24 Stunden die letzte Auswertung vorzunehmen. Die Nematoden in den vier Feldern wurden in der ersten Stunde alle 5 Minuten gezählt und noch einmal nach 24 Stunden.

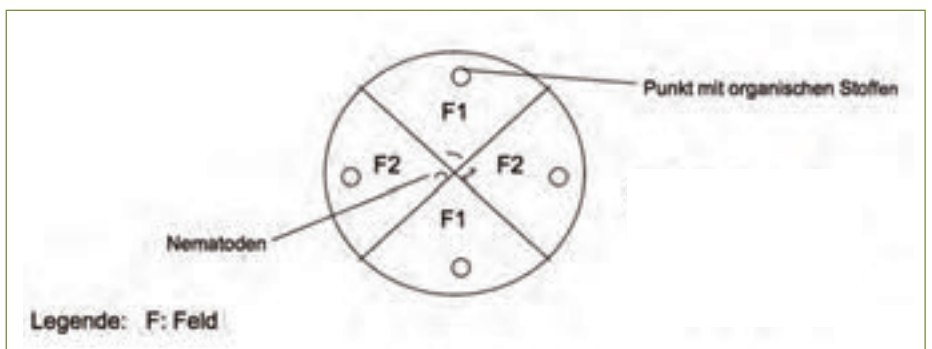


Abb. 8: Skizze einer vierteiligen Schablone mit darüber gestellter Petrischale mit Agarose.

In den durchgeführten Versuchsreihen wurde das Bewegungsverhalten der entomopathogenen Nematoden der Art *Steinernema feltiae* hinsichtlich unterschiedlicher organischer Stoffe untersucht: Zunächst wurde die Bewegung der Nematoden hin zu Wasser und Hämolymphe mit Treherne-Puffer analysiert. Anschließend wurde das Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* insbesondere im Hinblick auf unterschiedliche Konzentrationen von Hämolymphe an Wachsmottenlarven untersucht.

## Reaktion auf Wasser und Hämolymphe mit Treherne-Puffer

In den Feldern F1 der mit Agarose gefüllten Petrischale befand sich Hämolymphe von Wachsmottenlarven und Treherne-Puffer im Verhältnis 1:10. In den Feldern F2 befand sich Wasser. Dann wurde eine Suspension von 100 µl *Steinernema feltiae* in die Mitte der Petrischale injiziert. Die Auszählung erfolgte wie oben beschrieben.

## Reaktion auf Treherne-Puffer und Hämolymphe mit Treherne-Puffer

In dieser Versuchsreihe mit organischen Stoffen wurden in die Felder F1 100 µl Treherne-Puffer eingebracht, in die Felder F2 100 µl Hämolymphe mit Treherne-Puffer. Wiederum wurde eine Suspension von 100 µl *Steinernema feltiae* in die Mitte der Petrischale injiziert. Die Auszählung erfolgte wie oben beschrieben.

Um die Bedeutung der unterschiedlichen Konzentrationen von Hämolymphe auf die Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* weiter zu untersuchen, wurden in dieser Versuchsanordnung unterschiedliche Konzentrationen von Hämolymphe verwendet. Dabei wurden unbehandelte lebende Wachsmottenlarven sowie mit einer Lanzette angestochene Wachsmottenlarven und in Hämolymphe „gebädete“ Wachsmottenlarven verwendet.

## Reaktion auf „unbehandelte“ lebende Wachsmottenlarven und „verletzte“ Wachsmottenlarven:

Zur Untersuchung des Bewegungsverhaltens von *Steinernema feltiae* wurde das Verhalten auf unterschiedliche Konzentrationen von Hämolymphe untersucht. In die Felder F1 wurde eine „unbehandelte“ lebende Wachsmottenlarve fixiert. In die Felder F2 wurde eine Wachsmottenlarve fixiert, deren Chitinpanzer mit Hilfe einer Lanzette verletzt worden ist. Das hat zur Folge, dass ein Hämolymphtropfen aus der Leibeshöhle austritt. Auch hier wurde eine Suspension von 100 µl *Steinernema feltiae* in die Mitte

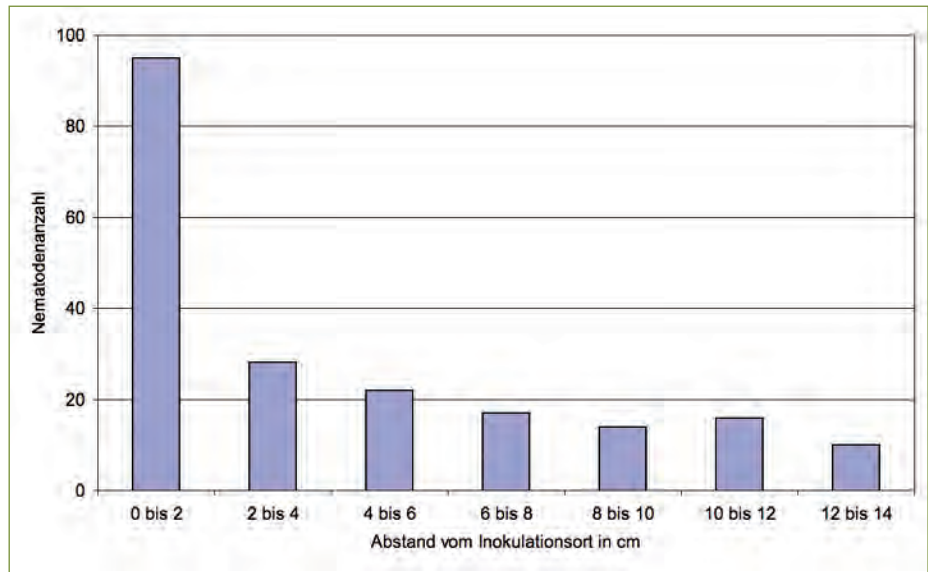


Abbildung 9: Verteilung von Dauerlarven der Art *Steinernema feltiae* nach 24 Stunden; am Inokulationsort (Fußpunkt des Y-Meters) wurden etwa 200 Nematoden appliziert

der Petrischale injiziert. In den oben genannten Zeiträumen wurde dann die Anzahl der Nematoden in den jeweiligen Feldern bestimmt.

## Reaktion auf „unbehandelte“ lebende Wachsmottenlarven und in Hämolymphe „gebädete“ Wachsmottenlarven:

In der letzten Versuchsanordnung wurden die Versuchsbedingungen beibehalten. Jedoch wurden in die Felder F1 jeweils eine unbehandelte lebende Wachsmottenlarve platziert. In die Felder F2 werden in Hämolymphe „gebädete“ Wachsmottenlarven gelegt, die aber unverletzt sind. In die Mitte der Petrischale wird wieder eine Suspension von 100 µl *Steinernema feltiae* eingebracht. Nach den jeweiligen Zeitspannen wurden die Nematoden in den Feldern ausgezählt.

## 5 Ergebnisse

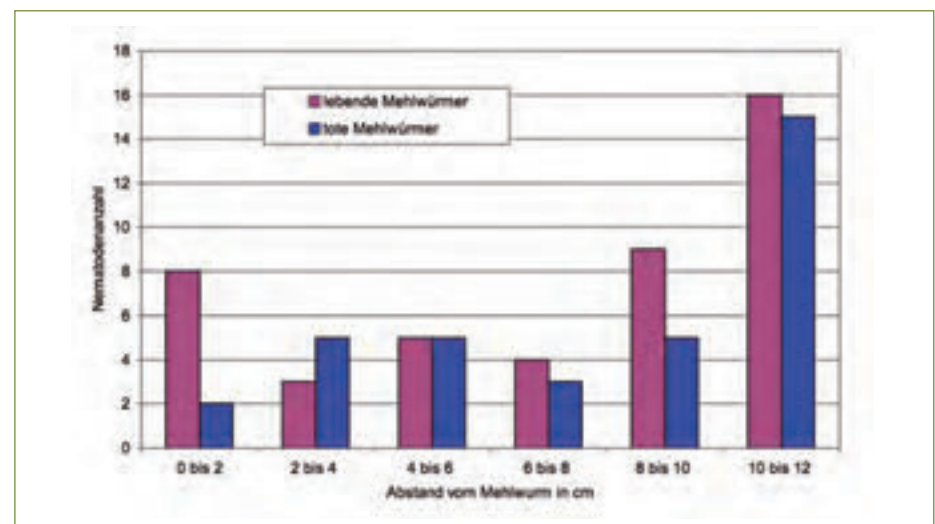


Abbildung 10: Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* bei einem Angebot von lebenden und toten Mehlwürmern (Inokulationsort: Fußpunkt des Y-Meters)



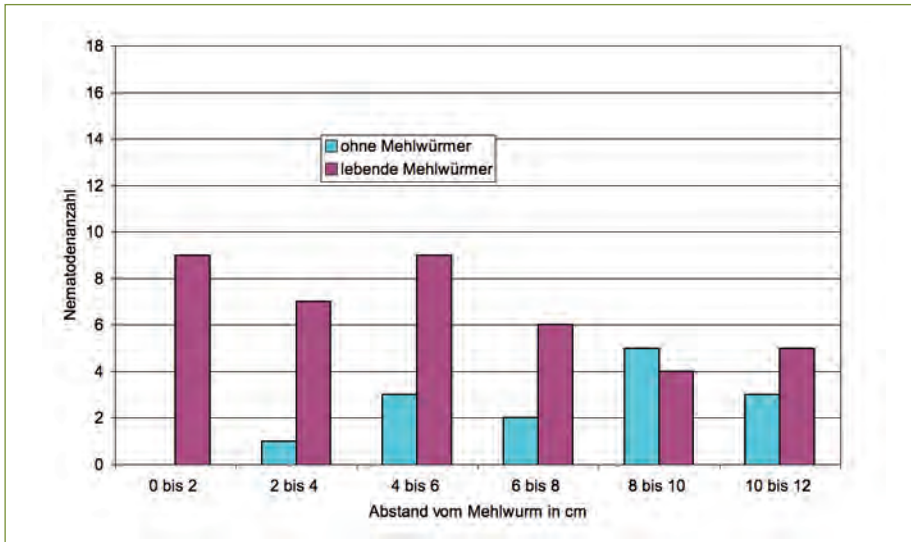


Abb. 11: Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* bei der Alternative im Y-Meter: lebende oder keine Mehlwürmer (Inokulationsort: Fußpunkt des Y-Meters)

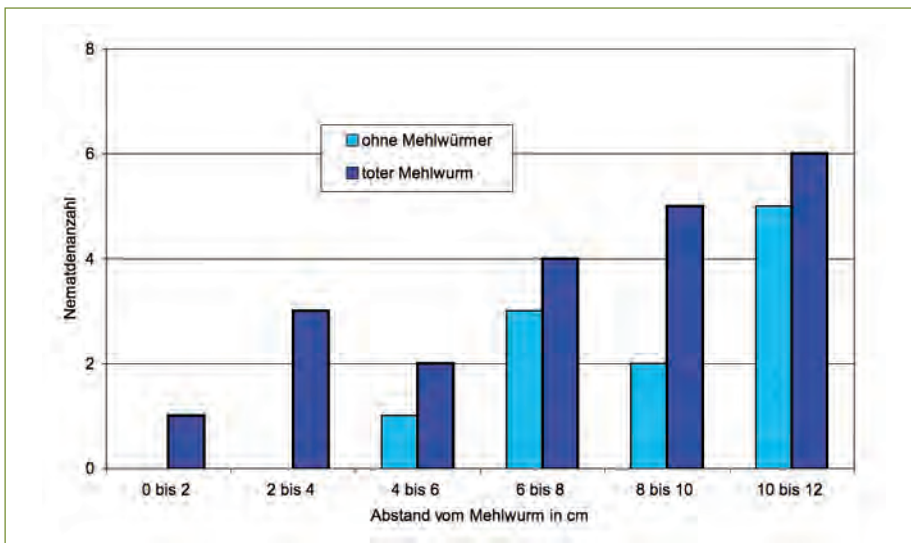


Abb. 12: Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* bei der Alternative im Y-Meter: toter oder kein Mehlwurm (Inokulationsort: Fußpunkt des Y-Meters)

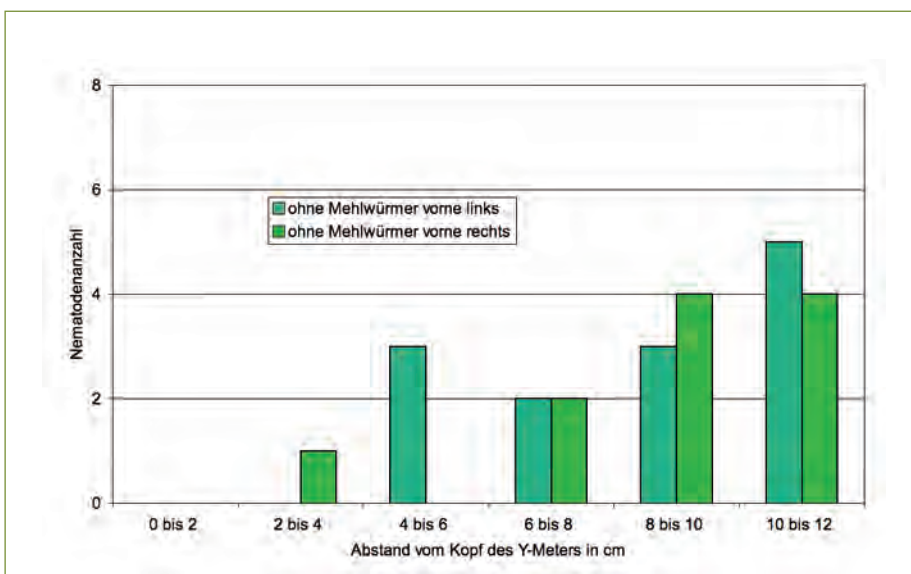


Abb. 13: Wanderungsverhalten von *Steinernema feltiae* bei nicht vorhandenen Mehlwürmern (Inokulationsort: Fußpunkt des Y-Meters)

bei den Nematoden verursachen.

## 5.1 Verhalten auf Bewegung

Ausgehend von einer Suspension mit 100  $\mu$ l *Steinernema feltiae* (dies entspricht ca. 200 Nematoden) am unteren Ast des Y-Meters ist festzustellen, dass nach 24 Stunden sich etwa die Hälfte vom Ausgangsort wegbewegt hat und die andere Hälfte (95 Nematoden) am Inokulationsort verblieben ist. Mit zunehmender Entfernung vom Inokulationsort nimmt die Zahl der Nematoden ab, in 12-14 cm Entfernung vom Ausgangsort sind jedoch immerhin noch 10 Nematoden nachweisbar (siehe Abb. 9).

Werden lebende und tote Mehlwürmer im Y-Meter angeboten, so ist festzustellen, dass *Steinernema feltiae* innerhalb von 24 Stunden verstärkt zu den lebenden Mehlwürmern hinwandern, siehe Abbildung 10.

Wird ein lebender Mehlwurm in den einen Ast des Y-Meters gelegt, in den anderen dagegen keiner, so stellt man fest, dass die Wanderungsbewegung der Nematoden nach 24 Stunden verstärkt zur lebenden Larve führt (9 Nematoden). Im dem anderen Ast des Y-Meters, in dem sich keine Larve aufhält, sind nur sehr wenige Nematoden zu finden (siehe Abb. 11).

Hat *Steinernema feltiae* im Y-Meter die Auswahl zwischen einem toten und keinem Mehlwurm, so ist festzustellen, dass ein toter Mehlwurm nur eine sehr geringe Anziehung ausübt. Die Auszählung der Nematoden erfolgte auch hier nach 24 Stunden (siehe Abb. 12).

In der letzten Versuchsanordnung, der auch als Blindversuch bezeichnet werden kann, wurden keine Mehlwürmer ausgesetzt. Dies führte dazu, dass *Steinernema feltiae* sich innerhalb von 24 Stunden nur sehr wenig fortbewegte (siehe Abb.13).

## 5.2 Reaktion auf Stoffe

Es wurde untersucht, wie Nematoden hinsichtlich ihrer Bewegungsaktivität auf unterschiedliche organische Stoffe reagieren. Dabei wurden die Nematoden mit einer Pipette injiziert. Es konnte deshalb vorkommen, dass bei 0 Minuten unterschiedliche Mengen von *Steinernema feltiae* anzutreffen sind.

In einem ersten Versuch wurde den Nematoden Wasser und Hämolymphe mit Treherne-Puffer angeboten. Als ein Ergebnis dieser Versuchsanordnung ist festzustellen, dass *Steinernema*

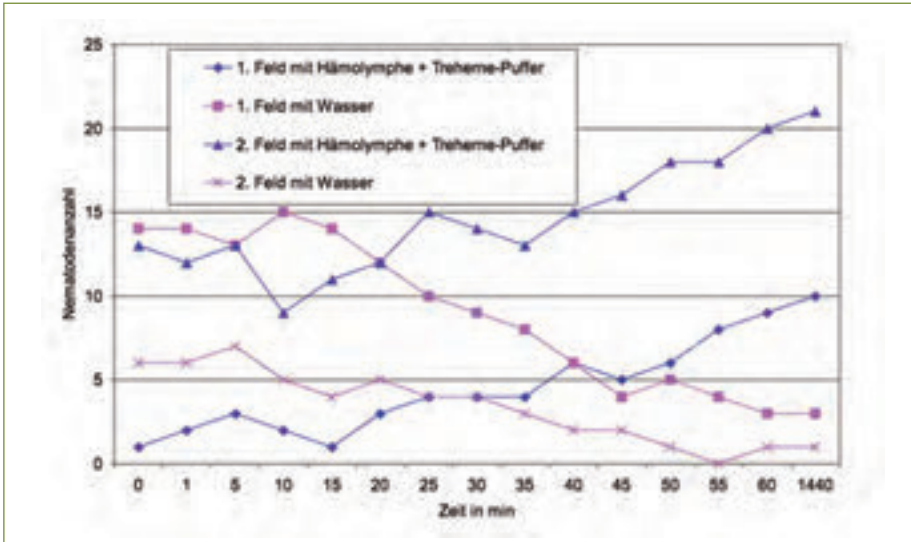


Abb. 14: Anzahl Nematoden in Feldern mit Hämolymphe und Treherne-Puffer im Vergleich zu Wasser zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Applikation von *Steinernema feltiae* in gleichem Abstand zu allen Attraktionsquellen

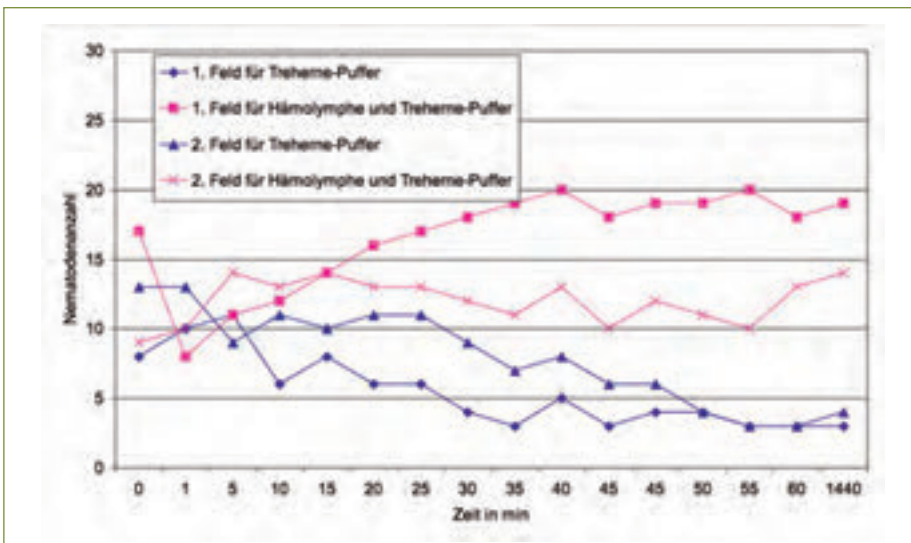


Abb. 15: Anzahl Nematoden in Feldern mit Hämolymphe und Treherne-Puffer im Vergleich zu Treherne-Puffer zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Applikation von *Steinernema feltiae* in gleichem Abstand zu allen Attraktionsquellen

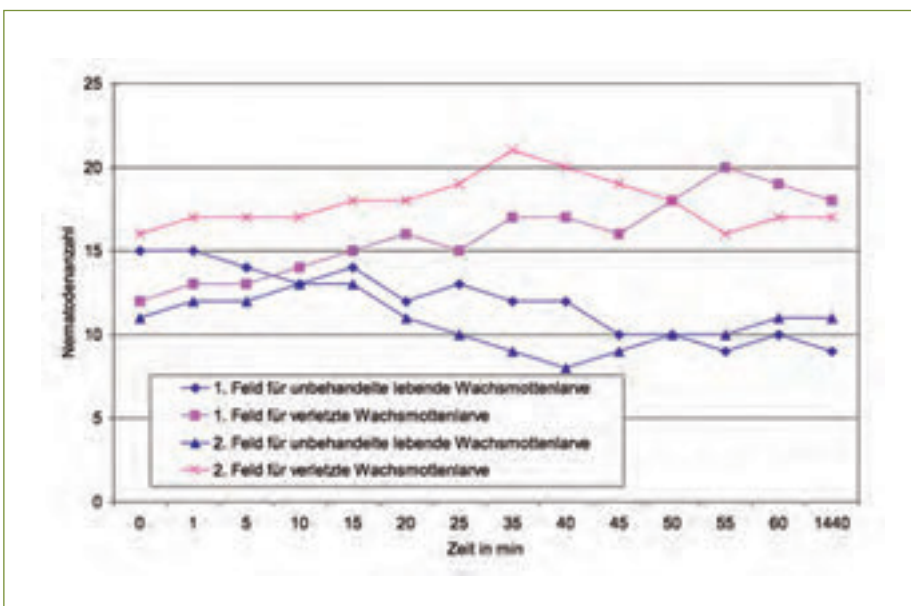


Abb. 16: Geringe Hämolympf-Konzentration als Bewegungsverstärker bei *Steinernema feltiae*

*feltiae* nach 24 Stunden eine starke Bewegungsaktivität zu Hämolymphe von Wachsmottenlarven in Verbindung mit Treherne-Puffer aufweist. Wasser dagegen scheint nur eine geringe Attraktivität zu besitzen (siehe Abb. 14).

Bei einer weiteren Versuchsreihe wurde das Wasser durch Treherne-Puffer ersetzt. Es ist festzustellen, dass die Bewegungsaktivität der Nematoden verstärkt zu Hämolymphe mit Treherne-Puffer geht. Reiner Treherne-Puffer bewirkt hingegen nur eine schwach ausgeprägte Wanderaktivität bei den Nematoden (siehe Abb. 15).

### 5.3 Reaktion auf unterschiedliche Konzentrationen von Hämolymphe

Ausgehend von der Erkenntnis der oben genannten Versuchsreihe, dass Hämolymphe mit Treherne-Puffer eine Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* auslöst, wurde in der zweiten Versuchsreihe eine stärkere Konzentration der Hämolymphe von Wachsmottenlarven gewählt.

Den Nematoden wurden „unbehandelte“ lebende Wachsmottenlarven und „verletzte“ Wachsmottenlarven angeboten. Es ist festzustellen, dass die Nematoden verstärkt zu den „verletzten“ Wachsmottenlarven hinwandern (siehe Abb. 16). Auslöser dieser Wanderbewegung kann dabei der ausgetretene Hämolymphtropfen aus der Leibeshöhle sein.

Nun wurden den Nematoden unbehandelte lebende Wachsmottenlarven und in Hämolymphe „gebadete“ Wachsmottenlarven angeboten. Hier wurde deutlich, dass die Stärke der Konzentration von Hämolymphe ausschlaggebend für die Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* ist. Wenn die äußere Körperhülle der Wachsmottenlarven in Hämolymphe „gebadet“ wird, dann verursacht dies eine hohe Reaktion hinsichtlich der Bewegung bei den Nematoden (siehe Abb. 17).

## 6 Diskussion

Derzeit werden entomopathogene Nematoden der Art *Steinernema feltiae* zur biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt. Gegenstand dieser Arbeit war die Untersuchung der Reaktion der Nematoden auf Wirtsinsekten und ihre Hämolymphe und die anschließende Bewegung von *Steinernema feltiae* in Richtung auf die Reizquelle. Diese Untersuchungen wurden unter Laborbedingungen durchgeführt. Das bedeutet, dass äußere Faktoren wie Temperatur

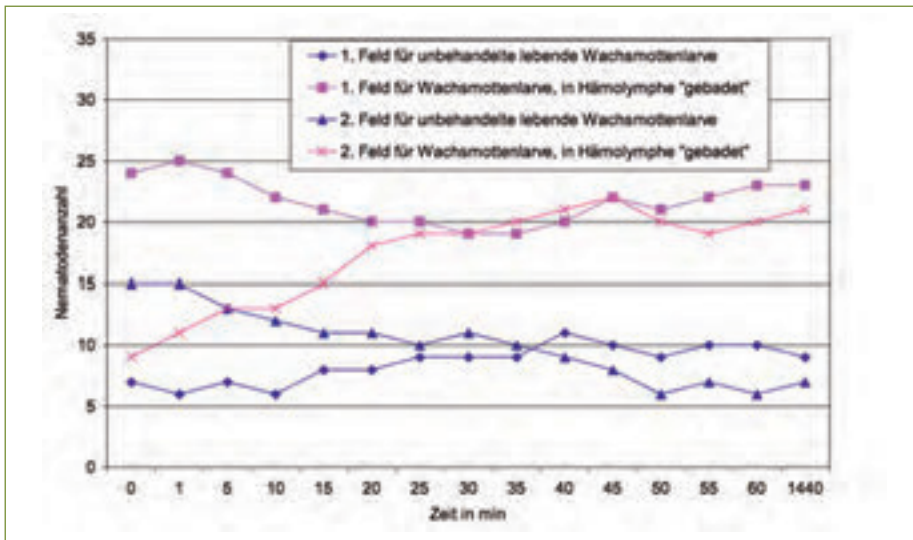


Abbildung 17: Hohe Hämolymphe-Konzentration als Bewegungsverstärker bei *Steinernema feltiae*

und Bodenbeschaffenheit vernachlässigt wurden.

Bei den Versuchen war es sehr schwer, immer gleiche Bedingungen bei den einzelnen Versuchsreihen zu gewährleisten. Außerdem erwies es sich als problematisch, eine punktgenaue Injektion der Nematoden durchzuführen. Bei der Auszählung der Nematoden entstanden auch Schwierigkeiten, da die Y-Meter waagrecht gelagert wurden und so die Nematoden zum großen Teil durch die Schwerkraft auf den Boden sanken. Die Proben wurden aber aus der Mitte des Rohrs entnommen. Dies ist der Grund, warum bei manchen Versuchen nur so wenige Nematoden erfasst wurden.

Bei den Petrischalen war es sehr schwer, die Agarose gleichmäßig auszubringen. Außerdem durfte die Agarose nicht zu flüssig sein, da sonst die Nematoden ertranken.

Kommen wir nun zu den Ergebnissen dieser Arbeit. In der ersten Versuchsreihe ist das Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* hinsichtlich lebender und toter Mehlwürmer untersucht worden. Dabei ist festzustellen, dass nach 24 Stunden eine Wanderungsbewegung weg vom Inokulationsort stattgefunden hat. Am Inokulationsort sind 95 Nematoden nachzuweisen, während am letzten Messpunkt (12-14 cm) vor der Bifurkation (Teilung) des Y-Meters noch 10 Nematoden aufzufinden sind.

In [8] wird berichtet, dass dieses Bewegungs- phänomen bei *Steinernema feltiae* von verschiedenen Wissenschaftlern festgestellt worden ist (vgl. [7], [5], [11]).

Campell und Gaugler [3] teilen die Nematodenarten *Steinernema feltiae* und *Heterorhabditis bacteriophora* in die Gruppe der Ansitz-

jäger („ambush-forages“) und in die Gruppe der Pirschjäger („cruise-forages“) ein. Die sogenannten „Ansitzjäger“ verharren am Inokulationsort, während die Pirschjäger sich ihre Beute suchen. Die Ergebnisse meiner Arbeit bestätigen aber nicht diese These, sondern die von Peters [8], der sich dafür ausspricht, dass *Steinernema feltiae* sowohl zu den Ansitz- als auch zu den Pirschjägern gehört.

Bei der Untersuchung des Bewegungsverhaltens von *Steinernema feltiae* auf lebende und tote Mehlwürmer ist festzustellen, dass die Wanderungsbewegung verstärkt zu den lebenden Mehlwürmern hin verläuft. Das bedeutet, dass *Steinernema feltiae* lebende Mehlwürmer bevorzugt.

Die Attraktivität von lebenden Mehlwürmern auf *Steinernema feltiae* wird unterstrichen, da diese verstärkt zu lebenden Mehlwürmern wandern. Wenn kein Mehlwurm vorhanden ist, wird an diesem Zielort *Steinernema feltiae* nicht angetroffen. Sind an dem einen Ende des Y-Meters keine Mehlwürmer vorhanden, so wandern die Nematoden dort auch nicht hin. Selbst tote Mehlwürmer haben einen höheren Reiz. Wenn man die Gesamtanzahl der Nematoden in den einzelnen Ästen miteinander vergleicht, findet man in dem Ast ohne Mehlwurm 11 Nematoden, während in dem Ast mit dem toten Mehlwurm 21 Nematoden anzutreffen sind. Bei nicht vorhandenem Nahrungsangebot findet nur eine geringe Bewegungsaktivität statt. Zusammenfassend kann an dieser Stelle festgestellt werden, dass die Wanderaktivität von *Steinernema feltiae* höher ist bei einem Angebot von lebenden Mehlwürmern.

Die Ursache für dieses Bewegungsverhalten kann möglicherweise vielschichtig sein. Zum einen könnte die Bewegung von lebenden Mehl-

würmern als solches einen Schlüsselreiz auf die Nematoden ausüben. Zum anderen könnte aber auch diskutiert werden, dass das Blut selbst, also die Hämolymphe, einen Reiz darstellt. Nahe liegend war es daher, die besondere Attraktivität von organischen Stoffen auf das Bewegungsverhalten von *Steinernema feltiae* zu untersuchen.

In der zweiten Versuchsreihe wurde daher die Reaktion von *Steinernema feltiae* auf unterschiedliche Stoffe hin untersucht. Die Leibeshöhle von Wachsmottenlarven besteht aus bis zu 40 % Hämolymphe, die wiederum aus Plasma und Hämocyten besteht.

Festzustellen ist, dass die Hämolymphe in Verbindung mit dem Treherne-Puffer eine höhere Bewegungsattraktivität für die Nematoden besitzt als Wasser. Um auszuschließen, dass *Steinernema feltiae* vom Treherne-Puffer möglicherweise stärker angezogen wird, wurde in einer zweiten Versuchsanordnung reiner Treherne-Puffer verwendet. Auch hier bestätigt sich das erste Untersuchungsergebnis, nämlich dass Hämolymphe eine hohe Bewegungsaktivität bei *Steinernema feltiae* verursacht.

Ausgehend von der Frage, warum *Steinernema feltiae* die Hämolymphe von Wachsmottenlarven anziehend findet, kann die These diskutiert werden, inwieweit es sich bei *Steinernema feltiae* um eine Form eines hämatophagen Parasiten handelt, dessen Hauptnahrungsmittel Hämolymphe ist. Die Dauerlarven von *Steinernema feltiae* sind immer auf der Suche nach neuen Wirtstieren und ernähren sich von deren Hämolymphe.

Um die Bedeutung von Hämolymphe bei der Wirtssuche von *Steinernema feltiae* zu unterstreichen, wurden die Wirkungen verschiedener Konzentrationen von Hämolymphe auf die Wanderungsbewegung von Nematoden verglichen (vgl. Kap. 5.3). Bei der Untersuchung von „unbehandelten“ lebenden Wachsmottenlarven und „verletzten“ Wachsmottenlarven ist festzustellen, dass *Steinernema feltiae* sich verstärkt zu den „verletzten“ Larven bewegt. Dies liegt wahrscheinlich daran, dass durch die Verletzung ein Hämolymphtropfen aus der Leibeshöhle austritt. Nichtsdestotrotz besitzen aber auch die „unbehandelten“ lebenden Wachsmottenlarven eine gewisse Anziehung.

Zur Bestätigung der Hypothese, dass Hämolymphe anziehend auf *Steinernema feltiae* wirkt, wurden in der letzten Versuchsanordnung in Hämolymphe „gebadete“ lebende Wachsmottenlarven mit „unbehandelten“ lebenden Larven verglichen.



Hier konnte die Annahme bestätigt werden, dass die hohen Konzentrationen von Hämolymphe eine höhere Auswirkung auf die Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* haben.

Diese Ergebnisse sprechen für die oben genannte These, dass es sich bei *Steinernema feltiae* um eine Form eines hämatophagen Parasiten handelt, dessen Nahrungsmittel Bakterien, aber auch Hämolymphe ist. Diese Annahme müsste aber in weiteren Versuchen verifiziert werden, da Hauptbestandteil dieser Arbeit lediglich die Untersuchung des Verhaltens von entomopathogenen Nematoden am Beispiel von *Steinernema feltiae* ist.

Ausgehend von der Erkenntnis, dass Hämolymphe eine Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* verursacht, könnte Hämolymphe zur Prozessoptimierung im Rahmen der biologischen Schädlingsbekämpfung beitragen. Beispielsweise könnte flüssige oder pulverige Hämolymphe zusammen mit den Nematoden ausgebracht werden und dabei die Aktivität von *Steinernema feltiae* steigern.

## 7 Zusammenfassung

Es wurde das Bewegungsverhalten von entomopathogenen Nematoden – am Beispiel *Steinernema feltiae* – untersucht, wenn ihnen als mögliche Reizquellen Mehlwürmer und Wachsmottenlarven angeboten wurden.

In einer ersten Versuchsreihe wurde das Bewegungsverhalten unter isolierten Bedingungen mit Hilfe eines Y-Meters untersucht. Werden keine Reizquellen angeboten, verbleibt etwa die Hälfte am Inokulationsort, die andere Hälfte verlässt diesen. Werden lebende und tote Mehlwürmer angeboten, so haben die lebenden Mehlwürmer eine höhere Attraktivität für die Nematoden.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Reaktion von *Steinernema feltiae* auf Wasser, Treherne-Puffer und Hämolymphe mit Treherne-Puffer untersucht. Hierbei wurde festgestellt, dass mit Treherne-Puffer verdünnte Hämolymphe die Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* erhöht.

In einer weiteren Versuchsanordnung wurden „unbehandelte“ lebende Wachsmottenlarven sowie „verletzte“ und in Hämolymphe „gebadet“ Wachsmottenlarven verwendet. Dabei konnte eine hohe Bewegungsaktivität von *Steinernema feltiae* zu Wachsmottenlarven nachgewiesen werden, wenn diese mit hohen Konzentrationen von Hämolymphe in Kontakt

gekommen waren.

Ausgehend von dieser Erkenntnis wurde die These aufgestellt, dass es sich bei der Nematodenart *Steinernema feltiae* um eine Form eines hämatophagen Parasiten handelt. Dies könnte man sich im Rahmen des biologischen Pflanzenschutzes zu Nutze machen, indem man die Nematoden zusammen mit Hämolymphe ausbringt und so die Bewegungsaktivität steigert.

## Dank

Diese Arbeit ist in der Abteilung Biotechnologie, Biologischer Pflanzenschutz des Instituts für Phytopathologie, Raisdorf und in Zusammenarbeit mit dem Unternehmen E-nema, Raisdorf entstanden. Vor allem Dr. Arne Peters möchte ich herzlich danken, dass er mir die Nematoden und die Materialien zur Verfügung stellte und mich unterstützte. Für die herzliche Atmosphäre durch die Studenten und Mitarbeiter möchte ich mich auch sehr bedanken. Schließlich möchte ich meinen Freunden und der Familie für die tägliche Unterstützung und Motivation danken, ohne die diese Arbeit nicht entstanden wäre.

## Literatur

- [1] Bird, A. F.; Akhurst, R. J.: The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. – Int. J. Parasitol. 13, 1983, S. 599-606
- [2] Campbell, Neil A.; Reece, Jane B.: Biologie, Spektrum Lehrbuch, Hrsg.: Jürgen Markl, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 6. Auflage 2003, S. 450ff., 490f., 751ff., 787ff
- [3] Campbell, L. R.; Gaugler, R.: Mechanisms for exsheathment of entomopathogenic nematodes. – Int. J. Parasitol. 21, 1991, S. 219-224
- [4] E-nema: Insektenpathogene Nematoden – Nützlinge für die Schädlingsbekämpfung, <http://www.e-nema.de/downloads/nematoden.pdf>, Raisdorf 2006
- [5] Georgis, R.; Poinar, G. O., Jr.: Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoplectana carpocapsae* – J. Nematol., 15, 1983 a, S. 308-311
- [6] Gewecke, M. (Hrsg.): Physiologie der Insekten, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 1995, S. 445
- [6] Kondo, E.; Ishibashi, N.: Histological and SEM observations on the invasion and succeeding growth of entomogenous nematode, *Steinernema feltiae*, (str. DD-136), in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. – Appl. Ent. Zool., 23, 1988, S. 88-96
- [7] Moyle, P. L.; Kaya, H. K.: Dispersal and infectivity of the entomogenous nematode, *Neoplectana carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae), in sand. – J. Nematol., 13, 1981, S. 295-300
- [8] Peters, Arne: Interaktionen zwischen den Pathogenitätsmechanismen entomopathogener Nematoden und den Abwehrmechanismen von Schnakenlarven sowie Möglichkeiten zur Virulenzsteigerung der Nematoden durch Selektion. – Uni Kiel 1994, S. 71ff
- [9] Peters, Arne; Ehlers, Ralf-Udo: Encapsulation of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in *Tipula oleracea*. – Journal of Invertebrate Pathology, 69, 1997, S. 218-222
- [10] Pye, A. E.; Burman, M.: *Neoplectana carpocapsae*: Infection and reproduction in large pine weevil larvae, *Hylobius abietis*. – Exp. Parasitol., 46, 1978, S. 1-11
- [11] Schroeder, W. J.; Beavers, J. B.: Movement of the entomogenous nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae in soil. – J. Nematol., 19, 1987, S. 257-259
- [12] Triggiani, O.; Poinar, G. O. Jr.: Infection of adult Lepidoptera by *Neoplectana carpocapsae* (Nematoda). – J. Invertebr. Pathol., 27, 1976, 413-414
- [13] Wiesner, Laborbuch des Phytopathologischen Instituts der Christian-Albrechts-Universität in Raisdorf, 1993