

***Entomophaga grylli* (Entomophthorales, Entomophagaceae)
(Fresenius 1856), ein pathogener Pilz auf Heuschrecken
(Orthoptera, Acrididae) – ein Überblick**

Jürg Zettel

Abstract

Entomophaga grylli is a pathogen affecting Acrididae in all continents. Several pathotypes are known, all with a pronounced host specialisation. Infection only happens via penetration of the cuticle. Hosts die within a few days; a few hours before death they climb into the vegetation ("summit disease"), from where the fungal spores are easily distributed. Infected host organisms have the possibility to fight the fungus by elevating their body temperature above the thermal optimum of the pathogen. This can be achieved by thermoregulatory behaviour (sun basking), but not all acridids are able to show such a behaviour. In that way mortality can be reduced or at least delayed and even a reproduction may still be possible. *E. grylli* cannot be used for biological control of pest grasshoppers at a big scale, because it is still impossible to produce spores in mass cultures in vitro. But the Deuteromycetes *Beauveria bassiana* (in temperate regions) and *Metarhizium anisopliae* var *acridum* (in temperate as well as tropical regions) are successfully used against grasshoppers and locusts.

Zusammenfassung

Entomophaga grylli kommt als Pathogen bei Acrididae in allen Kontinenten vor. Es existieren mehrere Pathotypen mit jeweils spezifischem Wirtsspektrum. Die Infektion erfolgt nur via Cuticula, nie oral. Befallene Heuschrecken sterben innerhalb weniger Tage. Unmittelbar vor dem Tod erklettern sie erhöhte Stellen in der Vegetation und klammern sich dort an ("Gipfelkrankheit"). Von dort aus können die Pilzsporen besser verbreitet werden. Befallene Heuschrecken haben die Möglichkeit, das Pathogen zu bekämpfen, indem sie durch thermoregulatorisches Verhalten (Sonnenbaden) ihre Körpertemperatur über den Thermotoleranzbereich des Pilzes erhöhen. Damit kann der Tod hinausgezögert werden und meistens noch eine reduzierte Reproduktion stattfinden. Nicht alle Arten sind jedoch in der Lage, ein solches Verhalten zu zeigen. Vorläufig kann *E. grylli* nicht in großem Maßstab zur Heuschreckenbekämpfung in Schadgebieten (Nordamerika, Australien, Afrika) eingesetzt werden, weil die Produktion von infektiösen Konidien in vitro noch nicht möglich ist. Dagegen können die Deuteromycetes *Beauveria bassiana* (nur temperate Regionen) und *Metarhizium anisopliae* var *acridum* (auch Tropen) bereits in grossem Maßstab in der biologischen Heuschreckenbekämpfung eingesetzt werden.

1. Einleitung

Abbildungen von Heuschrecken, die von entomopathogenen Pilzen befallen sind, findet man in allen einschlägigen Büchern und die meisten Orthopterologen haben schon solche, an der "Gipfelkrankheit" verendete Individuen gesehen. Die Kadaver befinden sich meist hoch in der Vegetation, wo sich die Tiere kurz vor ihrem Tod angeklammert haben (Abb. 1-4). In Mitteleuropa handelt es sich beim Befall mit solchen Pilzen um ein unregelmäßiges und eher spärlich beobachtetes Phänomen. Durch eigene Beobachtungen in den Alpen darauf aufmerksam geworden, begann ich mich mit der Interaktion zwischen Heuschrecken und entomopathogenen Pilzen auseinander zu setzen. Es ist spannend, welcher Wettlauf ums Überleben sich zwischen Wirt und Pathogen abspielt. Die Resultate der Literaturrecherchen lege ich hier als Review vor.

Entomopathogene Pilze spielen eine bedeutende Rolle in der biologischen Schädlingsbekämpfung, und Feldheuschrecken zählen zu den gefürchtetsten Schädlingen in landwirtschaftlichen Kulturen und Weideland. Zum einen ist dies in Nordamerika der Fall, wo die jährlichen Ernteverluste auf 400 Millionen Dollar geschätzt wurden (RAMOS 1993), zum anderen in Afrika und Australien.

Über 750 entomopathogene Pilze sind bekannt, jedoch sind diejenigen aus den Ordnungen Entomophthorales (z.B. *Entomophaga spp*) und Deuteromycetes (z.B. *Beauveria spp*, *Metarhizium spp*) weitaus am häufigsten (HAJEK 1997). Die Wirtsspezifität kann sehr unterschiedlich ausgeprägt sein. Es können mehrere verwandte Insektenarten oder eine ganze Familie von derselben Pilzart infiziert werden, aber lokal kann die Wirkung sehr spezifisch und nur eine einzige Wirtsart betroffen sein. Im Folgenden sind Angaben zu verschiedenen Phänomenen, zu verschiedenen beteiligten Pilzen und Wirtsarten zusammengestellt.

Abbildung 1-4 (nächste Seite):

- 1: *Miramella alpina*. Ein noch nicht sichtbar infiziertes ♂ bestieg ein infiziertes ♀ bevor dieses in die Vegetation hoch kletterte, sich festkrallte und mittlerweile verendete. Foto: B. Keist (21.7.2006, Wattwil SG)
- 2: *Calliptamus italicus*: mehrere verendete ♀♀ an derselben Pflanzenspitze. Foto: A. Steiner (9.8.2005 Raron, VS)
- 3: *C. italicus*: Kadaver wird von Ameisen (*Formica selysi*) befressen und dadurch beschädigt. In solchen Kadavern werden Konidiosporen gebildet. Foto: J. Zettel (2.8.2005, Pfynwald VS)
- 4: *C. italicus*: verwertbare Teile des Kadavers von Aasfressern gefressen, wodurch Sporen aus dem Infektionskreislauf entfernt wurden. Foto: J. Zettel (2.8.2005, Pfynwald VS)



Beauveria-Arten sind vor allem bekannt als Antagonisten von Käfern (HAJEK 1997) und werden entsprechend in der biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt. *Metarhizium* mit tropischem Ursprung wird verwendet gegen Lepidoptera und Acrididae in xerothermen Lebensräumen. Mehrere *Entomophaga*-Arten dienen in der Schädlingsbekämpfung als Antagonisten gegen Lepidoptera und Diptera. *E. grylli* zählt zu den wichtigsten Pathogenen von Feldheuschrecken und kommt in Afrika, Asien, Australien, Europa, Nord- und Südamerika vor. Es sind verschiedene genetische Linien (oder Unterarten?) beschrieben, mit unterschiedlichem Infektionspotential gegen Heuschreckenarten oder -gruppen. Der *E. grylli*-Komplex besteht aus mehreren Pathotypen: u.a. Pathotyp 1 aus Nordamerika (= *E. macleodi*), Pathotyp 2 aus Nordamerika (= *E. calopteni*), Pathotyp 3 aus Australien (= *E. praxibuli*) und Pathotyp 4 aus Japan (= *E. asiatica*). *E. grylli* i.e.S. hat vor allem eine europäische Verbreitung (CARRUTHERS et al. 1997).

Ein Massenbefall kann sich nur entwickeln, wenn Wirtsorganismen in einer ausreichenden Populationsdichte vorhanden sind; dies ist in erster Linie in Nordamerika, Afrika und Australien der Fall, aber DRAGANOVA & LECHEVA (2004) berichten von *Calliptamus italicus* in Bulgarien, wo die Art zunehmend zu Massenerscheinungen neigt: bei den von *E. grylli* befallenen Individuen handelte es sich ausschließlich um *C. italicus*. Speziell ist, dass es sich fast nur um letzte Larvenstadien handelte, was in Europa eher eine Ausnahme darstellt. Über die Wirkung von *E. grylli* auf Ensifera ist nichts bekannt. GUNDE-CIMERMAN et al. (1998) erwähnen *E. grylli* aus Kadavern der Höhlenschrecke *Troglophilus neglectus* in Slowenien. Die Todesursache kann aber nicht rekonstruiert werden und es wurden auch *Beauveria bassiana* und *Metarhizium anisopliae* in den Tieren nachgewiesen.

2. Zur Biologie von *Entomophaga grylli*

In ihrer Entwicklung gleichen sich die entomopathogenen Pilze sehr: eine Infektion erfolgt immer durch Sporen, und die Vermehrung des Pilzes findet im Innern des Wirtes in Form von zellwandlosen Protoplasten statt. Vor der Produktion von Sporen muss der Pilz aber seine Lebensform wechseln und wiederum Hyphen (= Pilzfäden mit Zellwänden) bilden. Im Folgenden sind die Verhältnisse für *E. grylli* beschrieben; ihr Entwicklungskreislauf ist schematisch in Abb. 5 dargestellt.

2.1. Sporen als Verbreitungsmechanismus

Generell können Dauersporen gebildet werden, um ungünstige Lebensbedingungen zu überdauern, sowie infektiöse sog. Konidiosporen (meist kurz als Konidien bezeichnet). Welche Art von Sporen gebildet wird, hängt von der Pilzart, vom Alter des Wirts und den abiotischen Bedingungen ab: in jungen Wirten werden primär Konidien gebildet, in älteren Dauersporen und Konidien. Auch *E. grylli* produziert zwei verschiedene Sporentypen. TILLOTSON & MARGOLIES (1990) erwähnen, dass unter Sauerstoffzutritt Konidien entstehen, während sich in intakten Kadavern Dauersporen bilden. Die Verbreitung der Sporen erfolgt einerseits durch aktives Wegschleudern, unterstützt durch Wind, andererseits auch durch eine Übertragung zwischen Individuen bei der Paarung oder durch Prädatoren, Aasfresser oder andere Arthropoden, die so als Vektoren fungieren.

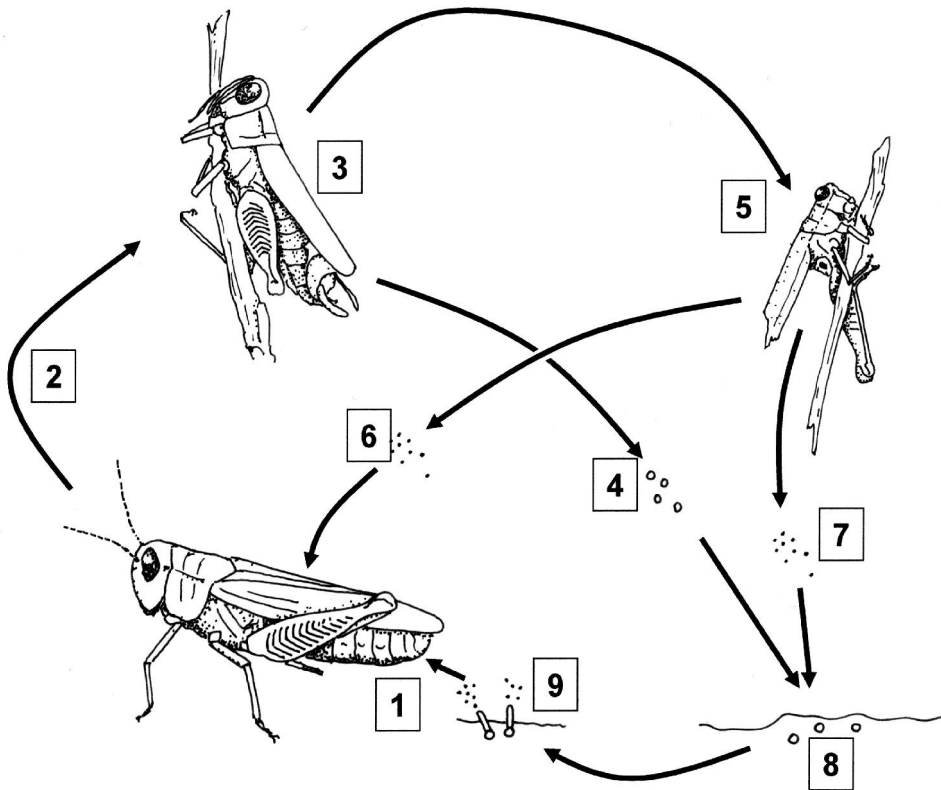


Abbildung 5:

Schematischer Entwicklungskreislauf von *Entomophaga grylli*:

- 1: Heuschrecke infiziert sich mit Konidien
- 2: nach wenigen Tagen klettert sie an eine erhöhte Position
- 3: Tod in den frühen Abendstunden
- 4: je nach Pathotyp werden im Innern Dauersporen gebildet, welche später auf/in den Boden gelangen
- 5: der Kadaver wird schnell durch Aasfresser beschädigt; unter Sauerstoffzutritt werden Konidien gebildet
- 6: weg geschleuderte Konidien können gesunde Heuschrecken treffen und infizieren
- 7: weg geschleuderte Konidien fallen zu Boden und können infektiöse Sekundärkonidien bilden
- 8: Dauersporen überdauern den Winter
- 9: austreibende Dauersporen produzieren Konidien, welche weg geschleudert werden

a) Im Innern des Kadavers können Dauersporen (diploide Zygosporien oder Azygosporien) ausgebildet werden, um ungünstige Wachstumsbedingungen, z.B. den Winter, zu überbrücken. Fällt ein Kadaver zu Boden, so werden sie in den Boden ausgewaschen, wo sie mehrere Jahre überdauern können. Mehrere Pilzarten benötigen eine obligatorische Dormanz, die durch Kälte und anschließende Feuchtigkeit terminiert werden kann. Zur Keimung der Dauersporen, zu der Sauerstoff notwendig ist (STOY et al. 1988), kommt es somit erst im nächsten Jahr. Auf diese Weise können die Pathogene überdauern und ein Potential für eine biologische Schädlingskontrolle darstellen.

b) Auf der Oberfläche eines Kadavers werden asexuelle Sporen, sog. Konidien, gebildet, die für eine nächste Infektion verantwortlich sind. Sie werden aktiv durch Druck weggeschleudert. Konidien keimen innerhalb weniger Stunden nach dem Abwurf. Landen sie nicht auf einem geeigneten Wirt, so können sie zwar auskeimen und sog. Sekundärkonidien bilden, aber ihre Mortalität außerhalb eines Wirtes ist sehr hoch. Weil ihre Konidien so kurzlebig sind, können die Entomophthorales nur als Dauersporen überwintern, im Gegensatz zu den Deuteromycetes, bei denen auch die Konidien überwintertüchtig sind (CARRUTHERS et al. 1988).

Dank einer nur fakultativ parasitischen Lebensweise können einige Arten im Boden wie "normale" Pilze bis zu einer nächsten Infektion saprophytisch überleben: sind die Entwicklungsbedingungen beim Tod des Wirtes ungünstig (zu trocken) für die Produktion von Konidien, so können die Pilze, z.B. bei der in Australien beheimateten Art *E. aulicae*, als Myzel bis zur nächsten Feuchteperiode überleben (TYRELL 1988).

2.2. Infektionsmechanismen und benötigte Umweltbedingungen

Oral aufgenommene Konidien führen zu keiner Infektion. Diese erfolgt allein durch die Cuticula, wo die Konidien durch Sekrete kleben bleiben. Z.T. sind diese Substanzen derart spezifisch, dass die Konidien nur an speziellen Zielgruppen haften (z.B. *B. anisopliae* nur an einigen Scarabaeidae). Das Durchdringen der Cuticula erfolgt mit Hilfe von Enzymen und durch mechanischen Druck. Im Innern des Wirtes verliert der Pilz seine Zellwand und wird protoplastisch. Erst unmittelbar nach dem Tod des Wirtes bildet der Protoplast wiederum eine Zellwand und je nach Bedingungen entstehen Konidien für die subitane Weiterentwicklung oder Dauersporen (s. oben).

Einfluss der Feuchtigkeit: Generell wird ausreichende Feuchtigkeit als der wichtigste Umweltfaktor bei Pilzkrankheiten angesehen; Sporenproduktion, Sporenkeimung und Eindringen in den Wirt können nur erfolgen, wenn ausreichende Feuchtigkeit herrscht (z.B. BENZ 1987), insbesondere nach Regen. KRUEGER & RAMOSKA (1985) berichten, dass *E. grylli* (Pathotyp 2) Konidien auf der Körperoberfläche von *Melanoplus differentialis* wohl bei 100% rH keimten, nicht aber unter 90% rH. Wohl aus diesem Grund keimen Konidien nachts schneller als am Tag (z.B. HAJEK et al. 1990a). Aber auch Tau und Wasser aus dem Körper des Wirtes können für die Keimung genutzt werden. Regen kann die Sporen aus der Vegetation wegwaschen und so die Infektionsrate reduzieren, aber nach THOMPSON et al. (2006) ist dies z.B. für Konidien von *Beauveria bassiana* gerade günstig, weil sie so vor UV-Strahlung geschützt sind. CARRUTHERS et al. (1988) erwähnen, dass bereits die Beschattung durch Vegetation ausreicht, um die Überlebenszeit ausserhalb eines Wirtes zu verlängern.

Einfluss der Temperatur: Neben der Feuchtigkeit ist die Temperatur ausschlaggebend für den Erfolg des Pilzes. Bei zu tiefen Temperaturen kann er nicht wachsen und sporulieren, bei zu hohen ebenfalls nicht. Oberhalb 40 °C sterben die meisten Pilzzellen ab (MCCOY et al. 1988).

TILLOTSON et al. (1990) experimentierten mit Mitteltemperaturen im Habitat von *M. differentialis* in Kansas (Juli: 26,5 °C, Oktober: 14 °C) und injizierten den Heu-

schrecken *E. grylli* Pathotyp 2. Unter höherer Temperatur war die Mortalitätsrate höher und die Tiere überlebten weniger lang; d.h. Sommertemperaturen sind für den Pilz geeigneter als Herbsttemperaturen. Die optimale Temperatur für das Wachstum von Protoplasten (in vitro, bzw. im Innern des Wirts) ist 30 °C (DUNPHY & CHADWICK 1984).

Andere pathogene Pilze zeigen ähnliche Toleranzen: ARTHURS & THOMAS (2001) untersuchten die Sporulation von *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in *Schistocerca gregaria*, in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit. Optimale Sporulation erfolgte bei einer Feuchtigkeit von über 95% und in einem Temperaturbereich zwischen 20 und 30 °C. Als thermotoleranter Organismus zeigte *Metarhizium* eine geografische Variation seiner Toleranz: in höheren Breiten (nördlich und südlich) war er empfindlicher gegenüber hohen Temperaturen (40-45 °C) (RANGEL et al. 2005).

3. Wirkung des Pilzes auf Heuschrecken

In der Regel findet man Tiere, welche als Imagines, selten im letzten Larvenstadium gestorben sind. Bei einem Befall durch einen pathogenen Pilz sterben die betroffenen Individuen normalerweise innerhalb von 4-7 Tagen. Werden dabei Konidien gebildet, so können Heuschreckengradationen in kurzer Zeit unter Kontrolle gebracht werden, falls die notwendigen Bedingungen günstig sind. Sind sie ungünstig, so können die Hyphen für längere Zeit austrocknen und mit der Sporulation erst beginnen, wenn sich die klimatischen Bedingungen wieder günstig entwickeln.

Das Wachstum von *E. grylli* erfolgt im Wirt vorerst als zellwandlose Protoplasten, extrazellulär oder in Verbindung mit dem Fettkörper. Erst unmittelbar nach dem Tod des Wirtes werden Muskulatur und andere lebenswichtige Gewebe befallen (FUNK et al. 1993). Für der Tod werden zwei Faktoren verantwortlich gemacht: Weil der Pilz sämtliche verfügbaren Nährstoffe für sein Wachstum verbraucht hat, verhungert der Wirt (FUNK et al. 1993), und gleichzeitig werden zellolytische Faktoren frei gesetzt, welche die Zellen des Wirtes zerstören (MILNE et al. 1994).

Der Pilz beeinflusst das Verhalten seiner Wirte in mehrfacher Weise zu seinen Gunsten. Vorerst zeigt der Wirt noch keine Symptome, aber unmittelbar vor dem Tod begeben sich durch Entomophthorales befallene Insekten (Heuschrecken, Blattläuse, Ameisen, Thripse und Fliegen) an erhöhte Stellen (EVANS 1989). Einerseits können von dort aus die Sporen besser verbreitet werden, andererseits kann dadurch die Prädation von Kadavern und ihrem Sporenvorrat verringert werden. Ein gegenteiliges, aber sinngemäß entsprechendes Verhalten wird durch *E. maimaiga* bei den Raupen des Schwammspinners (*Lymantria dispar*, Lymantriidae) induziert, welche sich zum Sterben an den Stammfuß der bewohnten Laubbäume begeben; dadurch kommt es dort zu einer Konzentration von Dauersporen, wo sich im nächsten Frühling die nächste Wirtsgeneration besser anstecken kann (WILDING 1981).

Hohe Heuschreckendichten lösen allgemein intensivere Ortswechsel aus, wodurch die Verbreitung eines Pathogens gefördert werden könnte. Aber bei infizierten Acrididen wurde gerade ein reduziertes Migrationsverhalten beobachtet,

das als Verhaltens-Manipulation interpretiert werden kann, um vorerst lokal eine möglichst hohe Infektionsrate zu erreichen. Der Wirkungsmechanismus wird z.B. in einer veränderten Physiologie vermutet: SEYOUUM et al. (2002) registrierten in der Hämolymphe von *S. gregaria* innerhalb von drei Tagen nach der Infektion einen reduzierten Gehalt an Lipiden und Kohlehydraten, welche als Energielieferanten für die Flugaktivität dienen. Es wird vermutet, dass auch die biologische Uhr der Wirte durch den Pilz manipuliert wird: sie sterben am frühen Abend, also kurz vor dem Einsetzen von günstigen Umweltbedingungen für die Sporulation (erhöhte Feuchtigkeit). B. Keist (pers. Mitt.) beobachtete an *Miramella alpina*, dass infizierte Individuen nach 18 Uhr hochkletterten, während dieses Verhalten am Mittag noch nicht festzustellen war. Dasselbe zeitliche Phänomen beobachteten KRASNOFF et al. (1995) auch bei der Fliege *Musca domestica*.

Wenn die Kadaver nicht durch die Einwirkung von Regen in wenigen Tagen aus der Vegetation abgespült werden, können sie über mehrere Wochen vorhanden und infektiös bleiben. Unter heterogenen Wetterbedingungen kann es während 26 Tagen bis zu 13 mal zu einer Sporulation kommen (Übersicht über die Entwicklung bei CARRUTHERS et al. 1997).

In allen bisher durchgeführten Experimenten wirkten die verwendeten Pilze sehr spezifisch und Nichtzielorganismen blieben verschont. Interessant ist in diesem Zusammenhang folgende Feststellung von ARTHURS et al. (2001): im Sahel wurde beobachtet, dass mit *M. anisopliae* var *acridum* infizierte Kadaver von *Acrotylus blondeli* und *Pyrgomorpha cognata* über Wochen vorhanden blieben und nur durch Regen zum Verschwinden gebracht wurden, während nicht infizierte sofort durch Aasfresser beseitigt wurden (v.a. durch Ameisen und Käfer (Tenebrionidae)). Auch andere Studien haben gezeigt, dass mit entomopathogenen Pilzen infizierte Insekten kaum von aasfressenden Arthropoden gefressen werden. Da eine orale Aufnahme selbst bei empfindlichen Organismen zu keiner Infektion führt, könnte es sein, dass das Pathogen sekundäre Metabolite produziert um ein Gefressenwerden zu verhindern, damit die Sporen für eine externe Infektion weiterhin zur Verfügung stehen.

4. Reaktion der Heuschrecken auf eine Pilzinfektion

Die erhofften Erfolge in der Heuschreckenbekämpfung mit pathogenen Pilzen stellten sich vorerst nur mit unterschiedlichem Erfolg ein. Hauptgrund ist, dass Heuschrecken aktiv ein Thermoregulationsverhalten zeigen können, welches ihnen ermöglicht, die Körpertemperatur in einen Bereich zu bringen, in welchem das Pilzwachstum eingeschränkt oder gar unterbunden wird. Der Erfolg der biologischen Bekämpfung von Acrididen ist deshalb stark abhängig von der Umgebungstemperatur und der Thermotoleranz des Pilzes, aber auch vom Verhalten der betroffenen Heuschrecken. Nicht alle untersuchten Acrididen sind in der Lage, bei Infektion mit einer veränderten Thermoregulation ("behavioural fever") zu reagieren; dem mesophilen *Chorthippus parallelus* z.B. fehlt dieses Verhalten (SPRINGATE & THOMAS 2005).

GARDNER & THOMAS (2002) und THOMAS & BLANFORD (2003) liefern umfassende Übersichten zu den Interaktionen, die sich zwischen Insekt und Pathogen

abspielen, ebenso zur Rolle der Temperatur. Generell folgt eine temperaturabhängige physiologische Leistungskurve einer schrägen asymmetrischen Verteilung, wobei die Kurve nach einem mehr oder weniger linearen bis schwach exponentiellen Anstieg nach dem Optimum steil abfällt. Das Optimum entspricht der maximalen betrachteten physiologischen Leistung (im vorliegenden Fall z.B. Virulenz des Pilzes bzw. Metabolismus der Heuschrecke). Arthropoden haben in der Regel eine breitere thermische Toleranz als Mikroorganismen. Das bedeutet konkret, dass die Heuschrecke in der Lage sein kann, durch thermoregulatorisches Verhalten (Sonnenbaden) ihre Körpertemperatur (und dadurch ihre physiologische Abwehr) zu erhöhen und dadurch aus dem Optimum des Pathogens hinaus zu verschieben (Abb. 6). Durch die reduzierte Virulenz des Pilzes im nicht mehr optimalen Temperaturbereich kann die kurzfristige Mortalitätsrate der befallenen Heuschrecken stark reduziert werden. Umgekehrt können bei tieferen Temperaturen das Pathogen eine höhere Virulenz und gleichzeitig der Wirt eine schlechtere Abwehr zeigen, was die Mortalitätsrate der Heuschrecken erhöht. Bei kühlem Wetter ist die Wirkung der Pilze deshalb effizienter als bei sonnigem Wetter, wenn die Heuschrecken aktiv thermoregulieren können (INGLIS et al. 1997a, JOHNSON & GOETTEL 1993). Aus dem gleichen Grund profitiert der Pilz jede Nacht. Fallen die Temperaturen aber unter 15 °C, so wird auch das Wachstum des Pilzes verlangsamt (KLASS et al. 2007).

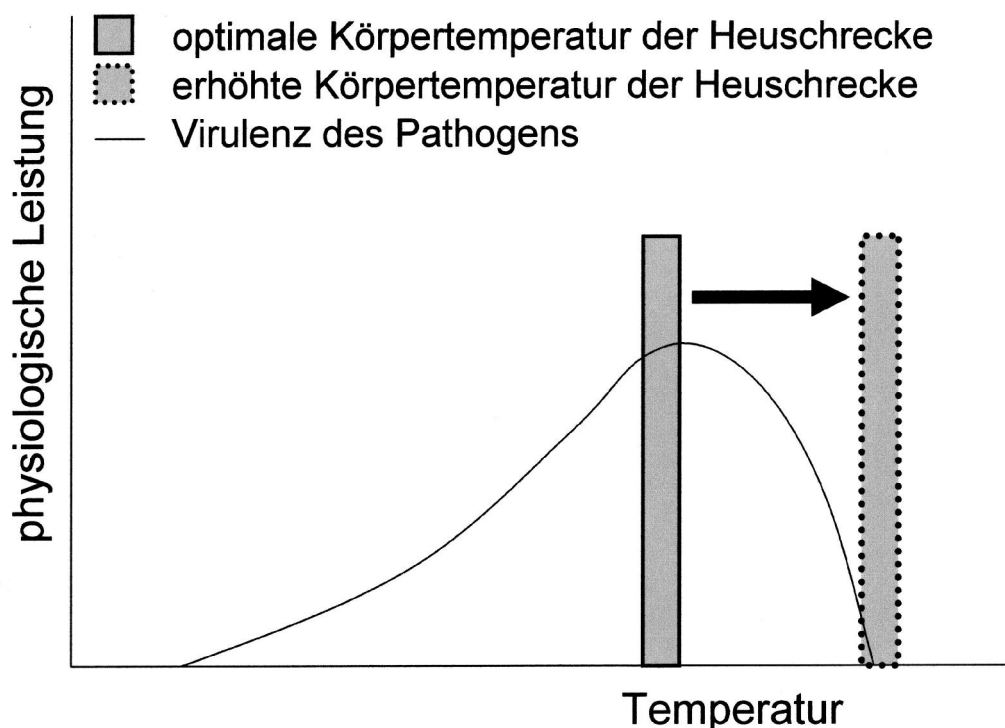


Abb. 6: Schema der temperaturabhängigen Interaktion zwischen Wirtsorganismus und Pathogen. Die Heuschrecke kann ihre Körpertemperatur durch Sonnenbaden erhöhen und aus dem Virulenzbereich des Pilzes hinaus verschieben, der dadurch in seiner Aktivität eingeschränkt oder blockiert wird.

Wegen dem steilen Abfall der Leistungskurve des Pilzes jenseits seines physiologischen Optimums können schon um wenige Grade erhöhte Körpertemperaturen eine wirksame Begrenzung der Virulenz des Pathogens bewirken (bei *Beauveria* und *Entomophaga* Pathotyp 2 stärker als bei *Metarhizium* mit tropischer Herkunft). Sonnenbadende Heuschrecken können ihre Körpertemperatur ohne weiteres auf 38-40 °C und damit auf 10-15 °C über die Umgebungstemperatur erhöhen und so die thermischen Toleranzgrenzen der pathogenen Pilze überschreiten, welche in den gemäßigten Breiten bei 25-30 °C liegen. Dies wurde für mehrere Arten von Pilzen und Heuschrecken in Laborexperimenten nachgewiesen. Exemplarisch sei hier ein Experiment von CARRUTHERS et al. (1992) mit *E. grylli* und der nordamerikanischen Heuschrecke *Camnula pellucida* erwähnt. Die Heuschrecken wurden bei 25-30 °C gehalten. Je mehr sie ihre Körpertemperatur auf 40 °C erhöhen konnten, umso weniger starben sie an der Mykose. Hatten sie die Möglichkeit zum Sonnenbaden, so konnten im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Thermoregulations-Möglichkeiten Mykosen fast vollständig unterdrückt werden. Die wenigen infizierten Individuen, welche trotz Besonnung starben, überlebten signifikant länger als die Tiere der Kontrollgruppe. Es ist noch unklar, ob die erhöhte Körpertemperatur direkt auf die Vitalität des Pilzes wirkt, oder ob es sich um einen indirekten Mechanismus via erhöhte Immunabwehr der Heuschrecke handelt (z.B. erhöhte Fähigkeit, das Pathogen zu isolieren oder einzukapseln). Infizierte Heuschrecken können durchaus noch in der Lage sein, sich fortzupflanzen. Sie reproduzieren jedoch früher und geringer als gesunde (BLANFORD & THOMAS 2001, ELLIOT et al. 2002), was nach THOMAS et al. (1997) vielleicht mit der jeweils beobachteten geringeren Nahrungsaufnahme gekoppelt ist. LACTIN & JOHNSON (1995) stellten nämlich fest, dass *Melanoplus sanguinipes* bei zu stark überhöhter Temperatur die Nahrungsaufnahme einstellte. Hier handelt es sich möglicherweise einfach um einen Trade-off zwischen Nahrungsaufnahme und Infektionsbekämpfung (GARDNER & THOMAS 2002). Aus Sicht der Agrarproduktion handelt es sich hier aber bereits um einen positiven Effekt der Bekämpfung, der sich schon vor dem Tod der Schadinsekten einstellt.

Bei *Locusta migratoria* zeigten OUEDRAGO et al. (2004), dass eine Möglichkeit zur optimalen Thermoregulation von lediglich 4h/Tag die Überlebensrate der infizierten Tiere um 85% erhöhte (über einen beobachteten Zeitraum von 21 Tagen); ohne Thermoregulation starben alle Tiere nach spätestens sieben Tagen. Sie beobachteten auch, dass in einem angebotenen Temperaturgradienten vom Pilz befallene Individuen ihre Körpertemperatur öfter erhöhten als gesunde Artgenossen.

Diese Abwehrmöglichkeit besteht auch gegenüber den anderen entomopathogenen Pilzen. INGLIS et al. (1997a) stellten fest, dass *M. sanguinipes* bei voller Besonnung weniger *Beauveria*-Befall zeigte als in beschatteten Käfigen, wo die Heuschrecken keine Thermoregulation betreiben konnten: 0-15% Befall in besonnten, 83-89% in den beschatteten Käfigen. Erstaunlich ist, dass bereits 1 h Sonnenbad pro Tag die Mortalität innerhalb von 10 Tagen um 44% senken konnte, bei 4 h pro Tag sogar um 98% (INGLIS et al. 1997b)!

BLANFORD et al. (1998) konnten die Änderung des thermoregulatorischen Verhaltens auch unter Freilandbedingungen nachweisen. Nach einer Sprühaktion mit *Metarhizium flavoviride* (= *M. anisopliae* var *acridum*) gegen *Oedaleus senegalensis* hatten nicht infizierte Tiere eine bevorzugte mittlere Körpertemperatur von 39 °C, infizierte aber veränderten ihr Verhalten und regulierten ihre Körpertemperatur neu auf ein Mittel von 42 °C ein.

5. Beobachtungen aus der Schweiz

Am 2.8.2005 fanden wir im Pfywald (Zentralwallis) lokal 30 adulte *Calliptamus italicus*, welche an erhöhten Positionen, bis 1,2 m über Boden, an einer Pilzinfektion gestorben waren. Trotz 23 Jahren Beobachtungen im Gebiet waren dies die ersten Feststellungen von derartigen Kadavern. Am 9.8.2005 fanden P.A. Oggier und A. Steiner (pers. Mitt.) bei Raron, in einer Entfernung von 16 km vom ersten Beobachtungspunkt, auf kleiner Fläche ca. 100 befallene *C. italicus*, ebenfalls alle adult. Dass in früheren Jahren keine solchen Beobachtungen gemacht wurden, kann zwei Ursachen haben: spezielle klimatische Bedingungen, oder das sehr enge mögliche Zeitfenster, während dem *Entomophaga*-Infektionen überhaupt auftreten (1-2 Wochen später als unsere Beobachtungsserien). Die Analyse unserer kontinuierlichen Temperaturaufzeichnungen ergab, dass in den relevanten 12 Tagen vor den Beobachtungen nur 18 Stunden wärmer als 30 °C waren und die maximale Temperatur nur an zwei Tagen kurz 35 °C überschritt. Somit lag die Umgebungstemperatur für die sonst heiße Region im Optimalbereich für *E. grylli*. Die Niederschlagsmenge (SMA-Messstation Sion) im Juli/August war die höchste in den letzten fünf Jahren. Zudem fiel in den zehn Tagen vor unseren Beobachtungen 70% der langjährigen Niederschlagsmenge für die ganze Periode Juli/August. Aus diesen Daten kann man schließen, dass im Spätsommer 2005 für *E. grylli* die besten Entwicklungsbedingungen seit mehreren Jahren herrschten.

B. Keist (pers. Mitt.) fand 1998 und 2006 in der Umgebung von Wattwil (Kanton St. Gallen) an mehreren Stellen auffallend viele mumifizierte Individuen, alles *Miramella alpina*. In beiden Jahren wurden die Beobachtungen im letzten Julidrittel gemacht, auf einer Höhe von ca. 1100 m ü.NN.

6. Biologische Bekämpfung von Heuschrecken mit entomopathogenen Pilzen

Bei der biologischen Bekämpfung geht es darum, mit einer geeigneten Methode den pathogenen Pilz möglichst dauerhaft in eine Heuschreckenpopulation einzuschleusen. Dies erfolgt am einfachsten mit der sog. Überschwemmungsmethode ("Inundation-Method"), einer Sprühaktion mit virulenten Sporen, welche in vitro in Massenkulturen hergestellt werden können (von den Deuteromyces *Beauveria* oder *Metarhizium*, nicht aber von Entomophthorales wie *Entomophaga*). Mit *Beauveria bassiana* gelang der erste Beweis der Wirksamkeit von entomopathogenen Pilzen unter Freilandbedingungen (JOHNSON & GOETTEL 1993); diese Art eignet sich jedoch nicht für den Einsatz in tropischen und subtropischen Gebie-

ten, weil ihr Temperaturoptimum lediglich 25-30 °C beträgt. Um 2000 war, nach 12 Jahren intensiver Forschung, eine Formulierung von *Metarhizium anisopliae* var *acridum* verfügbar, welche auch in den Tropen in großem Maßstab eingesetzt werden kann und keine anderen Organismen als Acrididae (Zielart *Schistocerca gregaria*, Afrikanische Wanderheuschrecke) befällt (SHAH & PELL 2003). SANCHEZ PENA (2005) gelang es erstmals, in Zellkulturen von *E. grylli* den Übergang von zellwandlosen Protoplasten zu Myzelien zu vollbringen, was eine unabdingbare Voraussetzung für die Produktion von infektiösen Konidien ist. Es bleibt vorerst offen, ob dies ein Durchbruch für den praktischen Sprüh-Einsatz von *E. grylli* darstellen wird. Deshalb ging es bei den *Entomophaga*-Arten vorerst noch darum, das Pathogen mit im Labor infizierten Individuen in eine Heuschreckenpopulation einzuschleusen und in der Folge natürliche Regulationsmechanismen spielen zu lassen.

Die Wirkung von Pathogenen ist dichteabhängig und, wie bereits geschildert, oft von anderen biotischen und abiotischen Faktoren abhängig, so dass ein Einsatz meist nur sinnvoll ist, wenn anhand von komplexen Modellen der geeignete Zeitpunkt ermittelt werden kann (an Stelle der lange praktizierten Strategie "spray and pray"). Ein Schwerpunkt der rezenten Forschung befasste sich daher auch mit der Erarbeitung und Überprüfung solcher Interaktionsmodelle (z.B. KLASS et al. 2007). Dadurch wird eine bereits kurzfristig erfolgreiche Bekämpfung von Schadorganismen erst möglich.

2005/06 wurden in Australien 60 000 ha mit *Metarhizium* behandelt, und erste Versuche der FAO starteten in Afrika gegen die Wanderheuschrecke *S. gregaria* (KLASS et al. 2007).

7. Der Einsatz des *E. grylli*-Komplexes in der Heuschreckenbekämpfung – Erfahrungen in der Praxis

Wie bereits erwähnt, eignet sich *Entomophaga* momentan noch nicht für inundative Verfahren. In den frühen achtziger Jahren entdeckten Soper und seine Mitarbeiter (SOPER et al. 1982) den Pathotyp1 von *E. grylli* (= *E. macleodi*) als Pathogen bei Heuschrecken in Nordamerika. Auch ein zweiter Pathotyp (= *E. calopteni*) kommt in Nordamerika natürlicherweise vor und ist ein natürlicher Antagonist bei Heuschreckengradationen; in den USA liegen maximal beobachtete Dichten bei > 200 Larven/m². Auch in solchen Gebieten kann *E. grylli* die Populationen vorübergehend unter die Schadensschwelle drücken und entsprechende Verluste vermeiden (GOETTEL 1992). Pathotyp 1 befällt vor allem *Camnula pellucida*, *Dissosteira carolina* und weitere Oedipodinae, Pathotyp 2 primär Melanoplinae, *M. bivittatus* viel stärker als *M. sanguinipes*, *C. pellucida* überhaupt nicht (ERLANDSON et al. 1988, RAMOSKA et al. 1988).

Während Typ 1 dank der Bildung von Konidien mehrere Entwicklungszyklen pro Jahr durchlaufen und so einen Massenbefall auslösen kann, erscheint Typ 2 später im Jahr und produziert nur Dauersporen, kann also nur einen Zyklus pro Jahr durchlaufen; er wird fast ausschliesslich bei Imagines beobachtet. Weil von *E. grylli* in vitro vorerst keine Konidien hergestellt werden konnten, arbeiteten alle Freisetzung in Nordamerika mit Heuschrecken, welchen je eine Portion *Ento-*

mophaga injiziert worden war. Wenn sich der Pilz nach einer derart aufwändigen Aktion in der Heuschreckenpopulation halten und diese unter die Schadschwelle bringen kann, so lohnt sich der grosse Aufwand sicher. Deshalb ist es nicht erstaunlich, dass in Nordamerika Versuche unternommen wurden, mit zusätzlichen Genotypen, welche ein breiteres Wirtsspektrum aufweisen, die Plagen unter Kontrolle zu bringen.

Aussetzungen in den Tropen erfolgten nie, jedoch wurden Feldexperimente in Australien durchgeführt, die sich aber als erfolglos erwiesen (MILNER 1985). Während diesen Arbeiten wurde der Pathotyp 3 (= *E. praxibuli*, isoliert aus *Praxibulus sp*) entdeckt und in den USA begannen Laborstudien damit (RAMOSKA et al. 1988). 1989, 1990, 1991 erfolgten Freisetzen durch Larven von *Melanoplus differentialis*, welche im Labor infiziert worden waren; bis 3500 Individuen wurden pro Untersuchungsfläche freigesetzt. Die Hoffnungen, welche in diesen Pathotyp mit seinem breiteren Wirtsspektrum gesetzt worden waren, erfüllten sich leider nicht - nach wenigen Jahren war er in den Versuchspopulationen nicht mehr nachweisbar (BIDOCHKA et al. 1996).

Danksagung

A. Steiner und B. Keist danke ich für die Möglichkeit, ihre Bilder und Daten zu übernehmen.

Verfasser:

Prof. Dr. Jürg Zettel
Zoologisches Institut der Universität Bern
Abteilung Synökologie
Baltzerstr 6
CH-3012 Bern
Schweiz
E-Mail: juerg.zettel@zos.unibe.ch

Literatur

- ARTHURS, S. & THOMAS, M.B. (2001): Effects of temperature and relative humidity on sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in mycosed cadavers of *Schistocerca gregaria*. - J. Inv. Pathol. 78: 59-65.
- ARTHURS, S., THOMAS, M.B. & LAWTON, J.L. (2001): Seasonal patterns of persistence and infectivity of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in grasshopper cadavers in the Sahel. - Ent. Exp. Appl. 100: 69-76.
- BENZ, G. (1987): Environment. - In: FUXA, J.R. & TANADA, Y. (eds): Epizootology of insect diseases. - Wiley Interscience, New York: 177-214.
- BIDOCHKA, M.J., WALSH, S.R.A., RAMOS, M.E., ST.LEGER, R.J. & SILVER, J.C. (1996): Fate of biological control introductions: monitoring an Australian fungal pathogen of grasshoppers in North America. - Proc. Nat. Acad. Sci. USA 93: 918-921.

- BLANFORD, S., THOMAS, M.B. & LANGEWALD, J. (1998): Behavioural fever in the Senegalese Grasshopper, *Oedaleus senegalensis*, and its implications for biological control using pathogens. - *Ecol. Ent.* 23: 9-14.
- BLANFORD, S. & THOMAS, M.B. (2001): Adult survival, maturation, and reproduction of the Desert Locust *Schistocerca gregaria* infected with the fungus *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. - *J. Inv. Pathol.* 78: 1-8.
- CARRUTHERS, R.I., FENG, Z., RAMOS, M.E. & SOPER, R.S. (1988): The effect of solar radiation on the survival of *Entomophaga grylli* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) conidia. - *J. Inv. Pathol.* 52: 154-162.
- CARRUTHERS, R.I., LARKIN, T.S., FIRSTENCEL, H. & FENG, Z.D. (1992): Influence of thermal ecology on the mycosis of a rangeland grasshopper. - *Ecology* 73: 190-204.
- CARRUTHERS, R.I., RAMOS, M.E., LARKIN, T.S., HOSTETTLER, D.L. & SOPER, R.S. (1997): The *Entomophaga grylli* (Fresenius) Batko species complex: its biology, ecology, and use for biological control of pest grasshoppers. - *Mem. Ent. Soc. Can.* 171: 329-353.
- DRAGANOVA, S. & LECHEVA, I. (2004): Entomophthorosis on the grasshopper *Calliptamus italicus* L. (Orthoptera: Acrididae). - *Acta Ent. Bulg.* 1: 5-8.
- DUNPHY, G.B. & CHADWICK, J.M. (1984): Physical factors influencing the growth of protoplasts of *Entomophaga grylli*. - *Can. J. Microbiol.* 30: 1315-1318.
- ELLIOT, S.L., BLANFORD, S. & THOMAS, M.B. (2002): Host-pathogen interactions in a varying environment: temperature, behavioural fever and fitness. - *Proc. R. Soc. London B* 269: 1599-1607.
- ERLANDSON, M.A., JOHNSON, D.L. & OLFERT O.O. (1988): *Entomophaga grylli* (Fresenius) infections in grasshopper (Orthoptera: Acrididae) populations in Saskatchewan and Alberta, 1985 - 1986. - *Can. Ent.* 120: 205-209.
- EVANS, H.C. (1989): Mycopathogens of insects of epigeal and aerial habitats. - In: WILDING, N., COLLINS, N.M., HAMMOND, P.M. & WEBBER, J.F. (eds): *Insect-Fungus Interactions*. - Academic Press, London: 205-238.
- FUNK, C.J., RAMOSKA, W.A. & BECHTEL, D.B. (1993): Histopathology of *Entomophaga grylli* pathotype 2 infections in *Melanoplus differentialis*. - *J. Inv. Pathol.* 68: 15-21.
- GARDNER, S.N. & THOMAS, M.B. (2002): Costs and benefits of fighting infection in locusts. - *Evol. Ecol. Res.* 4: 109-131.
- GUNDE-CIMERMAN, N., ZALAS, P. & JERAM, S. (1998): Mycoflora of cave cricket *Troglophilus neglectus* cadavers. - *Mycopathologia* 141: 111-114.
- HAJEK, A.E. (1997): Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. - *Adv. Microbial Ecol.* 15: 193-249.
- HAJEK, A.E., CARRUTHERS, R.I. & SOPER, R.S. (1990): Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). - *Env. Ent.* 19: 85-90.
- INGLIS, G.D., JOHNSON, D.L. & GOETTEL, M.S. (1997a): Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporae) of grasshoppers under field conditions. - *Env. Ent.* 26: 400-409.
- INGLIS, G.D., JOHNSON, D.L., CHENG, K.J. & GOETTEL, M.S. (1997b): Use of pathogen combinations to overcome the constraints of temperature on entomopathogenic Hyphomycetes against grasshoppers. - *Biol. Control* 8: 143-152.
- JOHNSON, D.L. & GOETTEL, M.S. (1993): Reduction of grasshopper populations following field application of the fungus *Beauveria bassiana*. - *Biocontr. Sci. Technol.* 3: 165-175.

- KLASS, J.I., BLANFORD, S. & THOMAS, M.B. (2007): Development of a model for evaluating the effects of environmental temperature and thermal behaviour on biological control of locusts and grasshoppers using pathogens. - *Agric. Forest Ent.* 9: 189-199.
- KRASNOFF, S.B., WATSON, D.W., GIBSON, D.M. & KWAN, E.C. (1995): Behavioural effects of the entomopathogenic fungus *Entomophthora muscae* on its host *Musca domestica*: postural changes in dying hosts and gated pattern of mortality. - *J. Insect Physiol.* 41: 895-903.
- LACTIN, D.J. & JOHNSON, D.L. (1995): Temperature-dependent feeding rates of *Melanoplus sanguinipes* nymphs (Orthoptera, Acrididae) in laboratory trials. - *Env. Ent.* 24: 1291-1296.
- MC.COY, C.W., SAMSON, R.A. & BOUCIAS, D.G. (1988): Entomogenous fungi. - In: IGNOFFO, C.M. (ed): *Handbook of natural pesticides Vol.5.* - CRC Press, Boca Raton: 151-236.
- MILNE, R., WRIGHT, T., WELTON, M., BUDAN, C., GRINGORTON, L. & TYRELL, D. (1994): Identification and partial purification of a cell-lytic factor from *Entomophaga aulicae*. - *J. Inv. Pathol.* 64: 253-259.
- MILNER, R.I. (1985): Field tests of a strain of *Entomophaga grylli* from the USA for biocontrol of the Australian wingless grasshopper, *Phaulacridium vittatum*. - In CHAPMAN R.F. (ed): *Proc.4th Australian Conf. grassland invertebrate ecology*: 255-261.
- OUEDRAGO, R.M., GOETTEL, M.S. & BRODEUR, J. (2004): Behavioural thermoregulation in the Migratory Locust: a therapy to overcome fungal infection. - *Oecologia* 138: 312-319.
- RAMOS M. (1993): The isolation, implementation and evaluation of *Entomophaga praxibuli* as a potential biological control agent of North American grasshoppers. - MSc Thesis Cornell University.
- RAMOSKA, W.A., HAJEK, A.E., RAMOS, M.E. & SOPER, R.S. (1988): Infection of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) by members of the *Entomophaga grylli* species complex (Zygomycetes: Entomophthorales). - *J. Inv. Pathol.* 52: 309-313.
- RANGEL, D.E.N., BRAGA, G.U.L., ANDERSON, A.J. & ROBERTS, D.W. (2005): Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae*, isolates from different geographic origins. - *J. Inv. Pathol.* 88: 116-125.
- SANCHEZ PENA, S.R. (2005): In vitro production of hyphae of the grasshopper pathogen *Entomophaga grylli* (Zygomycota: Entomophthorales): potential for production of conidia. - *Florida Ent.* 88: 332-334.
- SEYOUM, E., BATEMAN, R.P. & CHARNLEY, A.K. (2002): The effect of *Metarhizium anisopliae* var *acridum* on haemolymph energy reserves and flight capability in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. - *J. Appl. Ent.* 126: 119-124.
- SHAH, P.A. & PELL, J.K. (2003): Entomopathogenic fungi as biological control agents. - *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 413-423.
- SOPER, R.S., HUMBER, R.A. & STEWART, F. (1982): Evaluation of *Entomophaga grylli* for locust control. - US-AID Final Report DAN-1406-G-SS-1076-00. Washington DC.
- SPRINGATE, S. & THOMAS, M.B. (2005): Thermal biology of the Meadow Grasshopper *Chorthippus parallelus*, and the implications for resistance to disease. - *Ecol. Ent.* 30: 724-732.
- STOY, W.M., VALOVAGE, W.D., FRYE, R.D. & CARLSON, R.B. (1988): Germination of resting spores of the grasshopper (Orthoptera: Acrididae) pathogen, *Entomophaga grylli* (Zygomycetes: Entomophthorales), Pathotype 2, in selected environments. - *Env. Ent.* 17: 238-245.
- THOMAS, M.B., BLANFORD, S. & LOMER, C.J. (1997): Reduction of feeding by the Variegated Grasshopper, *Zonocerus variegatus*, following infection by the fungal pathogen, *Metarhizium flavoviride*. - *Biocontrol Sci. Technol.* 7: 327-334.

- THOMAS, M.B. & BLANFORD, S. (2003): Thermal biology in insect-parasite interactions. - Trends Ecol. Evol. 18: 344-350.
- THOMPSON, S.R., BRANDENBURG, R.L. & ARENDS, J.J. (2006): Impact of moisture and UV degradation on *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin conidial viability in turfgrass. - Biol. Contr. 39: 401-407.
- TILLOTSON, K.D. & MARGOLIES, D.C. (1990): Effects of cadaver age on production of infective stages of *Entomophaga grylli* Pathotype 2 in infected *Melanoplus differentialis*. - J. Inv. Pathol. 55: 202-206.
- TILLOTSON, K.D., MARGOLIES, D.C. & NECHOLS, J.R. (1990): Effect of temperature and photoperiod on mortality of *Melanoplus differentialis* (Orthoptera: Acrididae) infected by *Entomophaga grylli* Pathotype 2 (Entomophthorales: Entomophthoraceae). - J. Kansas Ent. Soc. 63: 252-259.
- TYRELL, D. (1988): Survival of *Entomophaga aulicae* in dried insect larvae. - J. Inv. Pathol. 52: 187-188.
- WILDING, N. (1981): Pest control by Entomophthorales. - In: BURGESS, H.D. (ed): Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970 - 1980. - Acad. Press, London: 539-554.