

Gabriele Flingelli, Matthias Schöller, Dagmar W. Klementz, Christoph Reichmuth

Einfluss von Temperatur und Expositionsdauer auf die Mortalität von *Tribolium castaneum*-Eiern unter Begasung mit Sulfurylfluorid im Hinblick auf die fortschreitende Eientwicklung

Influence of temperature and exposure time on the mortality of *Tribolium castaneum* eggs at fumigation with sulfuryl fluoride with regard to the progressive egg development

7

Zusammenfassung

In bestimmten Anwendungen im Vorratsschutz bleibt nach dem Wegfall von Brommethan Sulfurylfluorid nahezu die einzige Alternative. Für die Wirkung gegen *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) Eistadien finden sich in der Literatur widersprüchliche Angaben. Der vorliegende Beitrag liefert Daten zur Wirksamkeit von Sulfurylfluorid gegen Eistadien von *Tribolium castaneum* unter praxisrelevanten Bedingungen. Basierend auf Mortalitätsdaten mit 0–5 Tage alten Eiern wurden Letale Dosen LC_{t95} und LC_{t99} als Konzentrations-Zeit-Produkt (Ct-Produkt) mit Hilfe der Probit-Transformation errechnet. Es ergaben sich z.B. bei 48 h Exposition Werte für LC_{t95} : 4000 g^*h/m^3 (15°C), 4820 g^*h/m^3 (20°C), 2788 g^*h/m^3 (25°C) und 1047 g^*h/m^3 (30°C). Für LC_{t99} fanden sich 5795 g^*h/m^3 (15°C), 8948 g^*h/m^3 (20°C), 5327 g^*h/m^3 (25°C) und 1737 g^*h/m^3 (30°C). Bei 24 h Exposition ergaben sich Werte für LC_{t95} : 3480 g^*h/m^3 (15°C), 2378 g^*h/m^3 (20°C), 1450 g^*h/m^3 (25°C) und 969 g^*h/m^3 (30°C). Bei 72 h Exposition fanden sich Werte für LC_{t95} : 5045 g^*h/m^3 (15°C), 4675 g^*h/m^3 (20°C), 1889 g^*h/m^3 (25°C) und 557 g^*h/m^3 (30°C). Weitere Werte bei 24 h und 72 h Exposition und den entsprechenden Temperaturen werden angegeben. Die Betrachtung von Eiern unterschiedlichen Alters zwischen 0–1 Tage und 4–5 Tage zeigte insbesondere im 24 h Expositions-Test mit 40 g/m^3

Sulfurylfluorid bei 20°C eine höhere Widerstandsfähigkeit für sehr junge Eier.

Die errechneten letalen Dosen werden im Kontext zu einer Schlupfbeobachtung bei den verschiedenen Temperaturen diskutiert. Die Beobachtung der Eientwicklung bei verschiedenen Temperaturen deutet darauf hin, dass für 0–5 Tage alte Eier die berechneten und beobachteten letalen Dosen und Konzentrationen nicht allein dem Eistadium zuzurechnen sind. Es ergeben sich Hinweise darauf, dass die Mortalitäten unter bestimmten Bedingungen zu einem gewissen Anteil auch die weitaus höhere Empfindlichkeit von Larven einschließen.

Stichwörter: *Tribolium castaneum*, Sulfurylfluorid, Eistadium, Larvalentwicklung

Abstract

Sulfuryl fluoride has become an important replacement of methyl bromide and is nearly without alternatives in some situations in stored product protection. At the same time the information on egg mortality of *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) to sulfuryl fluoride from literature is not sufficient. Data on mortality of *Tribolium castaneum* eggs fumigated with sulfuryl fluoride are given in the presented publication. Based on mortality tests, lethal

Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Berlin

Kontaktanschrift

Gabriele Flingelli, Dr. Dagmar Klementz, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für ökologische Chemie, Pflanzenanalytik und Vorratsschutz, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin, E-Mail: gabriele.flingelli@jki.bund.de

Zur Veröffentlichung angenommen

2. Mai 2013

Ct-products (Concentration \times time products) are calculated for different temperatures and exposure periods with the help of Probit analysis. In 48 h exposure tests the lethal Doses LC_{t95} for 0–5 day old eggs were as follows: 4000 g^*h/m^3 (15°C), 4820 g^*h/m^3 (20°C), 2788 g^*h/m^3 (25°C) and 1047 g^*h/m^3 (30°C). Values for LC_{t99} were calculated to: 5795 g^*h/m^3 (15°C), 8948 g^*h/m^3 (20°C), 5327 g^*h/m^3 (25°C) and 1737 g^*h/m^3 (30°C). At 24 h exposure lethal doses LC_{t95} were: 3480 g^*h/m^3 (15°C), 2378 g^*h/m^3 (20°C), 1450 g^*h/m^3 (25°C) and 969 g^*h/m^3 (30°C). A 72 h exposure resulted in LC_{t95} : 5045 g^*h/m^3 (15°C), 4675 g^*h/m^3 (20°C), 1889 g^*h/m^3 (25°C) and 557 g^*h/m^3 (30°C). More results for 24 h and 72 h exposure are described.

The mortality in dependence of the egg age 0–1 days to 4–5 days was tested with an 24 h, 48 h and 72 h exposure with 40 g/m^3 sulfuryl fluoride at 20°C. In particular the 24 h test revealed the young eggs as the most tolerant. The hatch of eggs and their natural mortality were observed in dependence of temperature. In this context the calculated and observed lethal doses are discussed. It cannot be excluded, that some of the 0–5 day old eggs develop during the exposure to sulfuryl fluoride into larvae. A contribution of the more susceptible larval stage to the egg mortality is very likely.

Key words: *Tribolium castaneum*, sulfuryl fluoride, egg stage, larval development

Einleitung

Der Wirkstoff Sulfurylfluorid (SO_2F_2) findet in der Entwesung von Gebäuden, lebensmittelverarbeitenden Betrieben und für einige wenige vorratslagernde Güter Anwendung. Die Zulassungen in Deutschland beziehen sich aktuell auf die Anwendung in Mühlen, in leeren Räumen und auf die Behandlung von Nüssen inklusive Walnüssen. Seit der Abkehr von der Verwendung des Wirkstoffes Brommethan, welche seit 2005 in Deutschland in Kraft getreten ist, wurde Sulfurylfluorid als Ersatz propagiert. Es bleiben für bestimmte Bekämpfungssituationen kaum Alternativen. Die Dosierung des Gases bewegt sich innerhalb der Grenzen, wie sie für eine hinreichend hohe Mortalität und dem maximal zulässigen Zeit-Konzentrations-Produkt (Ct-Produkt, der über eine bestimmte Einwirkzeit gehaltenen Konzentration) gesetzt sind. Es findet sich hier eine gute Wirksamkeit gegen eine Vielzahl von Schadinsekten, jedoch ist die vergleichsweise höhere Widerstandsfähigkeit von Eistadien gegenüber Imagines bekannt. Somit ist für eine erfolgreiche, durchgreifende Bekämpfung eine Dosierung maßgeblich, wie sie für die Abtötung von Eistadien nötig ist. Die Zulassung nach dem Pflanzenschutzgesetz umfasst die Bekämpfung von vorratsschädlichen Insekten ab dem Larvalstadium bis zum Imago. Lediglich für das Anwendungsgebiet Walnüsse werden weiterhin Insekten [alle Entwicklungsstadien] als Schädlinge genannt (ANONYMUS, 2013). Die Frage, ob in der Begasungspraxis bei Temperaturen von 20°C

selbst die in der Zulassung als Höchstdosierung genannten 1500 g^*h/m^3 zur vollständigen Abtötung der Eistadien des rotbraunen Reismehlkäfers *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) ausreichen, wurde bereits früher diskutiert und ist bis dato nicht zufriedenstellend beantwortet. (REICHMUTH et al., 2003; BELL et al., 2003).

Die Wirkung von Sulfurylfluorid gegen Eistadien von Insekten wurde bereits in der Vergangenheit näher untersucht. So konnte mithilfe von ^{35}S markiertem Sulfurylfluorid nachgewiesen werden, dass die Undurchlässigkeit der Eihülle zur erhöhten Widerstandsfähigkeit dieser Entwicklungsstadien beiträgt. Im Detail wurde gezeigt, dass Sulfurylfluorid chemisch in der proteinhaltigen Schale und der inneren Membranschicht gebunden wird (OUTRAM, 1967). In jüngeren Studien konzentrierte sich die Forschung auf die Frage nach dem widerstandsfähigsten Ei-Alter, zum Beispiel bei bestimmten vorratsschädlichen Motten (BELL und SAVVIDOU, 1999; BARAKAT und REICHMUTH, 2009; AKAN und FERIZLI, 2010; BALTACI et al., 2006; BARAKAT et al., 2011) oder auch beim Getreidesaftkäfer *Carpophilus hemipterus* (KARAKOYUN, 2010). Nach Angaben von BELL und Mitarbeitern (1999, 2003) erwiesen sich die Eier des Rotbraunen Reismehlkäfers *Tribolium castaneum* als die widerstandsfähigsten unter den bisher untersuchten Spezies von Insekten und Milben. BELL und Mitarbeiter beschrieben die Wirkung anhand errechneter letaler Dosen (LCt), wobei die Dosis dem aufzuwendenden Ct-Produkt entspricht. Die Mortalität behandelter Eier wurde anhand der ausbleibenden Entwicklung adulter Tiere bestimmt. Es wurden Werte für LC_{t99} zu 1869 g^*h/m^3 bei 25°C und zu 1243 g^*h/m^3 bei 30°C errechnet. Eine vollständige Abtötung wurde im Versuch mit einer Dosis von $Ct = 1669 g^*h/m^3$ bei einer Konzentration von 20 g/m^3 und 25°C beobachtet, dennoch wurde auf höhere Ct-Produkte für Konzentrationen über 20 g/m^3 verwiesen (BELL et al., 2003). Dies deutet darauf hin, dass kein direkt proportionaler Zusammenhang zwischen Konzentration und Einwirkzeit für ein bestimmtes LCt -Level besteht. Zusätzlich geht aus den Ergebnissen hervor, dass die Wirkung des Gases von der Temperatur abhängig ist. Weitaus geringere Dosen werden bei SCHNEIDER und HARTSELL beschrieben. Sie fanden für 0–3 Tage alte Eier von *Tribolium castaneum* bei 25°C für eine 95%ige Abtötung als ausreichendes Ct-Produkt 484 g^*h/m^3 und für eine 99,8%ige Abtötung 1157 g^*h/m^3 (SCHNEIDER und HARTSELL, 1999).

Ergebnisse von Feldversuchen liefern weitere Daten zur Wirksamkeit von Sulfurylfluorid gegen *T. castaneum* Eistadien aus der Sicht der praktischen Anwendung (HARTZER et al., 2010; FIELDS, 2012a; FIELDS, 2012b; LAWRENCE et al., 2012). Gerade im Feldversuch spielen weitere Faktoren wie die Gasdichtigkeit des Objekts oder Temperaturunterschiede eine Rolle. Es finden sich Hinweise, dass unter Praxisbedingungen häufig keine vollständige Abtötung von *T. castaneum*-Populationen erreicht wird. Zusammenfassend lässt sich zunächst sagen, dass verschiedene Angaben zu letalen Dosen für die vollständige Bekämpfung von *T. castaneum* Eiern vorliegen. Gleichzeitig stellt gerade *T. castaneum* einen gefürchte-

ten Schädling im Vorratsschutz und speziell in Mühlenbetrieben dar. Die derzeit zulässige Dosierung ist weltweit auf ein Ct-Produkt von 1500 g*h/m³ pro Anwendung beschränkt. In diesem Zusammenhang ist die Bestimmung der optimalen Konzentration, Expositionsdauer und geforderten Temperatur von großer Bedeutung.

Mit besonderem Augenmerk auf die Interpretation der durchgeführten Mortalitätstests möchte der vorliegende Artikel weitere Details zur Mortalität von *Tribolium castaneum* Eistadien unter Sulfurylfluorid-Exposition liefern. Hier steht insbesondere die Angabe errechneter Werte LC_{t95} und LC_{t99} unter den für die Praxis möglichen Temperaturen und gängigen Expositionsdauern im Vordergrund. Weiterer Gegenstand der Untersuchungen waren Eier verschiedenen Alters. Hierbei wurde die Alterung der Eier, wie sie während einer Exposition fortschreitet, berücksichtigt. Es wurde versucht, die Frage zu beantworten, ob es sich bei den bisher vorliegenden Mortalitätsdaten für Eistadien zu einem gewissen Anteil auch um die Mortalität der weitaus empfindlicheren, bereits entwickelten Larven handelt.

Material und Methoden

Gewinnung von Eiern

Es wurden Insekten der langjährigen Stammzucht des Julius Kühn-Institutes verwendet. Die Eier wurden durch Sieben vom Zuchtsubstrat getrennt, wie schon vormals berichtet (FLINGELLI et al., 2012). Es wurden jeweils 50 Eier abgezählt und für die Wirksamkeitsversuche oder die Versuche zur Insektenphysiologie in sehr kleine Versuchsgefäße oder Petrischalen überführt. Verwendet wurden Eier unterschiedlichen Alters nach Eiablage. An aufeinanderfolgenden Tagen vor Versuchsbeginn wurden jeweils nach 24 h Eier gewonnen, so dass insgesamt Gruppen unterschiedlichen Alters (0–1, 1–2, 2–3, 3–4 und 4–5 Tage alt) im Versuch eingesetzt werden konnten. Für einen weiteren Versuch wurden entweder 0–1 Tage alte Eier oder 0–5 Tage alte Eier eingesetzt.

Mortalitätstests

Die Mortalitätstests wurden bei konstanter relativer Feuchte von 65–70% und Konzentrationen zwischen 5 g/m³ bis 75 g/m³ SO₂F₂, sowie Temperaturen von 15°C bis 30°C durchgeführt. Die Expositionsdauer betrug 24 h, 48 h oder 72 h. Daraus ergaben sich Dosierungen (Ct-Produkte) von 120 g*h/m³ bis 5400 g*h/m³. Die Mortalität in Abhängigkeit vom Eialter wurde bei konstanter Temperatur von 20°C und einer Expositionsdauer von 24 h getestet. Alle Versuche wurden in dreifacher Wiederholung durchgeführt (n = 3).

Die Begasung mit Sulfurylfluorid erfolgte in Gaswaschflaschen, worin die Eier in kleinen Glasröhrchen mit Gazeabdeckung platziert waren. Der Versuchsaufbau, die Einstellung der Feuchte sowie die Konzentrations-Bestimmung mit Hilfe der FTIR-Spektroskopie ist bei BALTACI et al. (2006) beschrieben. Es wurde Sulfurylfluorid aus Gaszylindern verwendet (Solvay, 99.8%). Für unbehan-

delte Kontrollgruppen wurde mit Eiern in vergleichbarer Weise aber ohne Zugabe von Sulfurylfluorid verfahren. Nach der Exposition und Lüftung wurden die Eier in 500 ml Glasgefäßen mit jeweils 80 ml Zuchtsubstrat (Weizenschrot/Hefe-Mischung) in Zuchtkammern bei 30°C und 65–70% r.F. weiter kultiviert. Der Schlupf adulter Tiere wurde wöchentlich erfasst.

Schlupfbeobachtung

Im Hinblick auf die verschiedenen konstanten Temperaturen von 15°C bis 30°C während der Mortalitätstests und der Vorgehensweise bei der Gewinnung von Eiern wurde ergänzend eine Schlupfbeobachtung durchgeführt. Hierzu wurde die Dauer von der Eiablage bis zum Schlupf der Larven beobachtet. Es wurden jeweils 300 adulte Tiere in Glasgefäße mit 300 ml feinem Weizenmehl Typ 405 aufgesetzt und für 24 h bei 24°C und 65–70% r.F. gehalten. Nach der Abnahme der adulten Tiere wurden die Gläser unter den verschiedenen Temperaturen 15°C, 20°C, 22°C, 25°C und 30°C in Zuchtkammern mit 65–70% r.F. für weitere zwei Tage gehalten. Anschließend wurden abgelegte Eier vom Mehl durch Sieben getrennt, jeweils 50 Eier in Petrischalen vorgelegt und in die entsprechend temperierte Zuchtkammer zurückgebracht. Der Schlupf von Larven wurde wöchentlich erfasst. Jede Temperaturstufe wurde mit mindestens drei Wiederholungen beobachtet.

Daten

Die Ergebnisse der Wirksamkeitsversuche wurden um die natürliche Mortalität korrigiert. Hierfür wurde die effektive Mortalität M_{eff} mit Hilfe der Abbott Korrektur (ABBOTT, 1925) berechnet. Vergleiche von Mittelwerten wurden anhand von t-Tests unter Verwendung der Software SigmaPlot 11.0 durchgeführt. Die letalen Dosen (in der Konzentrationseinheit eines Ct-Produktes LC_{t95} und LC_{t99}) sowie entsprechende Konfidenzintervalle wurden unter Verwendung der Probit-Transformation (FINNEY, 1971) mit Hilfe des Software-Programmes PoloPlus berechnet.

Ergebnisse

Abb. 1 zeigt die effektive Mortalität M_{eff} von Eiern verschiedenen Alters zwischen 0–1 und 4–5 Tagen. Die Eier waren bei 20°C unterschiedlich lang einer Konzentration von 40 g/m³ Sulfurylfluorid exponiert. Jeder Datenpunkt stellt einen Mittelwert über drei Wiederholungen dar. Mit steigender Expositionsdauer ist eine steigende Mortalität bei allen Eiern zu verzeichnen. Bei einer Expositionsdauer von 72 h lassen sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Ei-Alter Gruppen feststellen. Bei einer 24 h Exposition unterscheidet sich M_{eff} für 0–1 Tage alte Eier statistisch signifikant von M_{eff} für 3–4 Tage (t = -2,907, df = 4, p = 0,044) und 4–5 Tage alten Eiern (t = -9,375, df = 4, p < 0,001). Bei einer Exposition von 48 h Dauer unterscheiden sich M_{eff} für 1–2 Tage alte Eier von M_{eff} für 2–3 Tage alten Eier (t = -4,359, df = 4, p = 0,012).

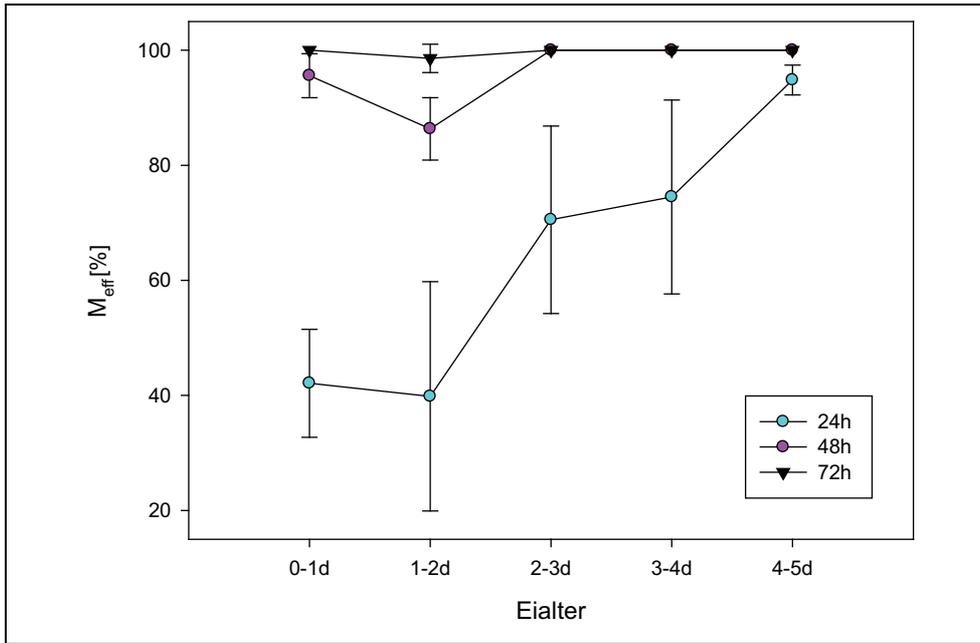


Abb. 1. *Tribolium castaneum* Eier, M_{eff} bei unterschiedlichem Ei-Alter unter 40 g/m³ Sulfurylfluorid und 20°C, Exposition 24, 48 und 72 h, Mittelwerte über drei Wiederholungen.

Die letalen Dosen für 95% und 99% Abtötung, LC_{t95} und LC_{t99} bei unterschiedlichen Expositionsdauern und Temperaturen werden in der Tab. 1 beschrieben. Die Werte wurden aus den Wirksamkeitsdaten für 0–5 Tage alte Eier berechnet.

Die Dauer der Eientwicklung wurde unter Versuchsbedingungen ohne Sulfurylfluorid bei den verschiedenen Temperaturen 15°C, 20°C, 22°C, 25°C und 30°C beobachtet, die Ergebnisse sind in Abb. 2 und Tab. 2 dargestellt. Die Abb. 2 gibt für die jeweiligen Temperaturen an, wie viele geschlüpfte Larven im Mittel pro Tag bezogen auf die Gesamtzahl aller geschlüpften Larven während des Beobachtungszeitraumes gezählt wurden. Bei der niedrigsten Temperatur von 15°C war innerhalb von 19 Tagen kein Schlupf zu verzeichnen. Zwei Petrischalen mit zunächst bei 15°C gehaltenen Eiern wurden in 25°C weiter gehalten. Hier wurden nach weiteren 7 Tagen in einer Petrischale zwei geschlüpfte, aber offensichtlich tote Larven beobachtet. Abb. 3 verweist auf die natürliche Mortalität bei den jeweiligen Temperaturen oberhalb 15°C. Diese lag zwischen 5% und 17%. Innerhalb dieser Temperaturen 20°C, 22°C und 30°C gab es keinen signifikanten Unterschied, lediglich die Mortalität bei 25°C war signifikant unterschiedlich zu den Werten bei 22°C ($t = -3,785$, $df = 7$, $p = 0,007$) und bei 30°C ($t = 4,538$, $df = 8$, $p = 0,002$) wie anhand eines t-Tests bestätigt wurde.

Die Beobachtung des Schlupfes von Larven macht die Berechnung einer mittleren Zeitdauer bis zum Larvenschlupf möglich. Es wurde der Schlupf pro Tag auf die Gesamtzahl aller geschlüpften Larven bezogen (s. Abb. 2). Mit dieser relativen Häufigkeit für einen Larvenschlupf am Tag i nach der Eiablage:

$$z_i = n_i/N$$

Lässt sich eine mittlere Dauer bis zum Larvenschlupf angeben.

$$\text{Mittlere Dauer bis zum Schlupf [Tage]} = \sum d_i \cdot z_i$$

d_i = i -ter Tag seit Eiablage

n_i = Zahl geschlüpfter Larven am Tag i , Summe über alle Wiederholungen bei einer Temperatur

N = Gesamtzahl geschlüpfter Larven, Summe über alle Wiederholungen je Temperatur.

Damit ergeben sich bei verschiedenen Temperaturen unterschiedlich lange mittlere Schlupfdauern. Darüber hinaus lässt sich der Anteil der theoretisch pro Tag durchlaufenen Eientwicklung angeben. Tab. 2 deutet auf die mit steigender Temperatur schnellere Entwicklung und den steigenden theoretischen Anteil an der Eientwicklung pro Tag hin. Beispielsweise vollziehen sich in einem Ei bei einer Temperatur von 30°C pro Tag theoretisch 18,12% der Entwicklung zur Larve.

Diskussion

Auf der Basis von Dosis-Wirkungsbeziehungen für 0–5 Tage alte Eier von *T. castaneum* wurden letale Ct-Produkte in Abhängigkeit von der Temperatur und der Expositionsdauer berechnet. Aus den Werten (Tab. 1) lassen sich letale Konzentrationen, LC, für die jeweiligen Bedingungen angeben, wie sie in Tab. 3 zusammengefasst sind.

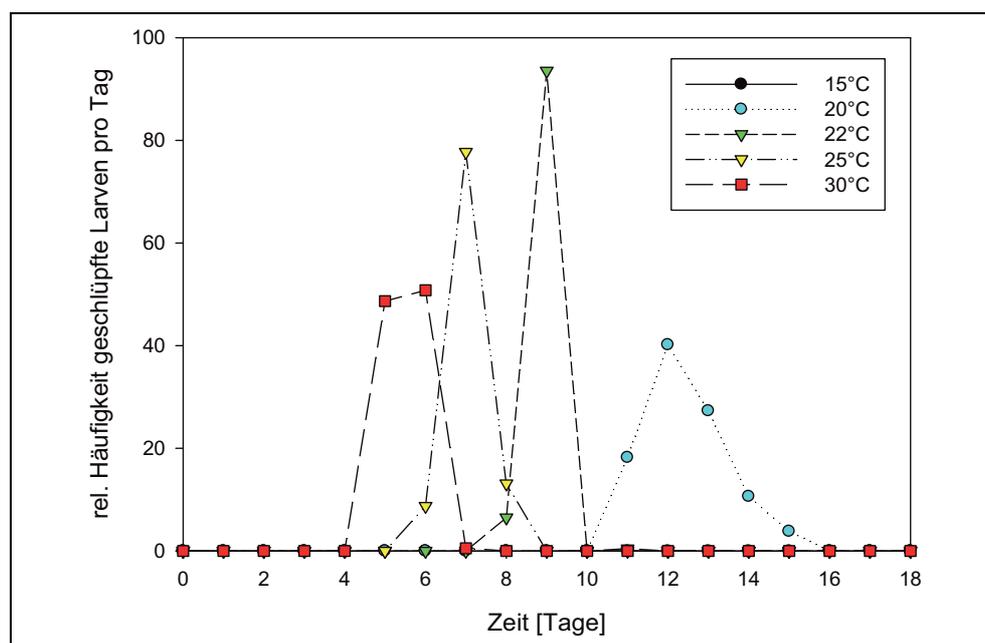
Die Beobachtung des Larvenschlupfes bei verschiedenen Temperaturen macht eine differenzierte Beurteilung der Ergebnisse notwendig.

Ergebnisse bei 15°C

Die letalen Dosen LC_{t95} verändern sich geringfügig bei einer Verdopplung der Expositionszeit von 24 h zu 48 h.

Tab. 1. Berechnete letale Ct Produkte für 0–5 Tage alte Eier von *T. castaneum* in Abhängigkeit von der Expositionsdauer und der Temperatur

Expositionsdauer	Temperatur	LC ₉₅ /LC ₉₉ [g*h/m ³]	95%-Konfidenzintervall [g h/m ³]	Steigung ± Standardfehler	Heterogenitäts- faktor
24 h	15 °C	3480	2206 – 13196	3,55 ± 0,56	2,23
		5412	2972 – 31721		
	20 °C	2378	1767 – 4738	3,94 ± 0,58	1,72
		3542	2354 – 9273		
	25 °C	1450	1053 – 2835	3,11 ± 0,25	5,88
		2402	1541 – 6508		
30 °C	969	748 – 1443	2,75 ± 0,19	3,37	
	1714	1200 – 3069			
48 h	15 °C	4000	2979 – 8821	4,23 ± 0,51	3,55
		5795	3857 – 17837		
	20 °C	4820	3498 – 8527	2,54 ± 0,26	1,92
		8948	5683 – 20500		
	25 °C	2788	1914 – 5795	2,42 ± 0,19	5,34
		5327	3151 – 15880		
30 °C	1047	837 – 1490	3,10 ± 0,32	1,48	
	1737	1269 – 2948			
72 h	15 °C	5045	3987 – 7738	3,66 ± 0,47	1,25
		7744	5566 – 14302		
	20 °C	4675	3258 – 9465	2,59 ± 0,24	3,24
		8574	5180 – 23969		
	25 °C	1889	1469 – 2834	2,92 ± 0,27	1,92
		3231	2275 – 5880		
30 °C	557	468 – 954	5,91 ± 1,33	1,37	
	726	564 – 1787			

**Abb. 2.** Schlupf von *Tribolium castaneum*-Larven bei verschiedenen Temperaturen unter vergleichbaren Bedingungen wie bei Versuchen zur Sulfurylfluorid-Exposition. Mittlere relative Häufigkeit des Schlupfes pro Tag im Beobachtungszeitraum von 20 Tagen, n = 3.

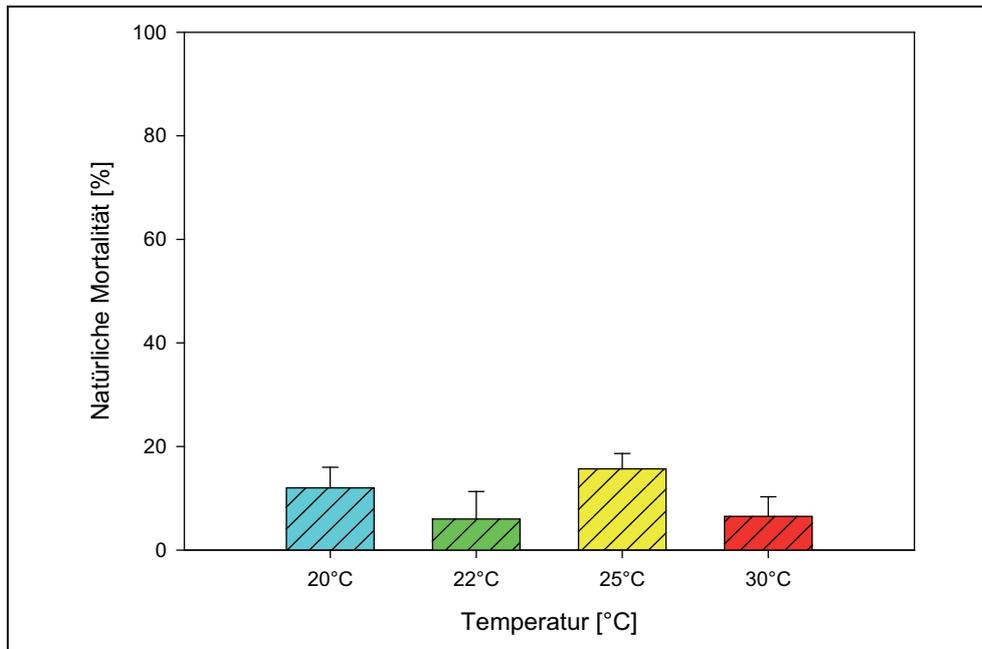


Abb. 3. Natürliche Mortalität von 0-1 Tage alten Eiern von *Tribolium castaneum* bei verschiedenen Temperaturen.

Tab. 2. Berechnete mittlere Entwicklungsdauer bis zum Larvenschlupf und theoretisch durchlaufene Eientwicklung pro Tag bei 0-1 Tage alten Eiern von *T. castaneum* und verschiedenen Temperaturen

Temperatur	Mittl. relative Dauer Eientwicklung [Tage]	Theoretischer Anteil der Eientwicklung pro Tag [%]
15 °C	*	*
20 °C	12,42	8,05
22 °C	8,94	11,19
25 °C	7,06	14,16
30 °C	5,52	18,12

* kein Schlupf beobachtet

Die korrelierenden errechneten letalen Konzentrationen sind 145 g/m³ (24 h) und 83 g/m³ (48 h). Es scheint möglich, dass bei 15°C die Gabe an Sulfurylfluorid durch Verdopplung der Expositionsdauer halbiert werden kann. Andererseits ist der Wert von 70,1 g/m³ für 72 h Exposition mit dieser Betrachtung nicht in Einklang bringen.

Die Beobachtung, dass bei 15°C kein nennenswerter Schlupf zu verzeichnen war, deutet auf die fehlende oder stark verlangsamte Entwicklung des Embryos hin. Innerhalb einer Zeitdauer von 19 Tagen erfolgte kein Schlupf. Da aber nach weiteren sieben Tagen unter wärmeren Bedingungen nur zwei, offensichtlich nicht lebensfähige Larven aus 100 Eiern schlüpften, bedarf es zur Frage der Überlebensfähigkeit von Eiern bei Temperaturen von 15°C oder darunter weiterer Klärung. In einer ähnlichen Studie beobachtet HOWE, für 15°C und 17,5°C keinen

Tab. 3. Berechnete letale Konzentration LC₉₅ für 95% und 99% Abtötung von *Tribolium castaneum* Eiern (0-5 Tage alte Eier, diverse Temperaturen und Expositionsdauern)

Temperatur	Expositions-dauer	LC ₉₅ [g/m ³]	LC ₉₉ [g/m ³]
15°C	24 h	144,9	225,5
	48 h	83,3	120,7
	72 h	70,1	107,6
20°C	24 h	99,1	147,6
	48 h	100,4	186,4
	72 h	64,9	119,1
25°C	24 h	60,4	100,1
	48 h	58,16	111,00
	72 h	26,02	44,9
30°C	24 h	40,4	71,4
	48 h	21,8	36,2
	72 h	7,7	10,1

Schlupf. Bei allen Temperaturen darüber werden etwa 80% Schlupf angegeben (HOWE, 1956). Dennoch scheint in der vorliegenden Arbeit eine Absenkung der Temperatur auf 15°C während der Zeitdauer der Gasexposition zur Mortalität nicht beizutragen, wie sich aus der natürlichen Mortalität der unbehandelten Kontrollgruppe schließen lässt. Ein Auftreten von Larvenstadien bereits in der Expositionsphase ist bei 15°C sehr unwahrscheinlich. Die errechneten LCt-Werte beziehen sich alleinig auf die Mortalität der Eistadien.

Ergebnisse bei 20°C bis 30°C

Die letale Dosis $LC_{t_{95}}$ nimmt mit steigender Temperatur ab. In den meisten Fällen folgt die korrespondierende letale Konzentration LC_{95} dem gleichen Trend für eine steigende Expositionsdauer.

Eientwicklung bei 30°C

Unter der wärmsten Bedingung ergeben sich für eine 99%ige Abtötung errechnete letale Konzentrationen LC_{99} von 10 g/m^3 (72 h), 36 g/m^3 (48 h) und 71 g/m^3 (24 h). Im 72 h-Begasungsversuch wurden 99% Abtötung der 0–5 Tage alten Eier ab Konzentrationen von 10 g/m^3 und 100% Abtötung ab Konzentrationen von 20 g/m^3 und höher beobachtet. Im 48 h-Begasungsversuch wurden 100% Abtötung nach Exposition mit 30 g/m^3 erreicht. Im 24 h Experiment lag die Schwelle für 100% Abtötung bei 50 g/m^3 .

Auf der Grundlage des beobachteten Larvenschlupfes lässt sich ein Modell für die Eientwicklung unter Versuchsbedingungen aufstellen. Es lässt sich näher beschreiben, zu welchem Grad die Entwicklung zur Larve während eines Begasungsversuches fortschreitet. Wie in Tab. 2 dargestellt, liegt der Schluss nahe, dass bei 30°C in etwa 5 Tagen Larven schlüpfen. Innerhalb eines Tages vollziehen sich theoretisch etwa 18% der Embryonalentwicklung. Für die Mortalitätsversuche wurden 0–5 Tage alte Eier eingesetzt. Dies bedeutet, dass adulte Tiere fünf Tage lang vor einem Mortalitätstest zur Eiablage auf Substrat unter optimalen Bedingungen 24°C und 65–70% r.F. gehalten worden waren. Angenommen, ein Fünftel dieser Eier liegen im Alter von 4–5 Tagen vor, dann haben sich diese Eier bereits 5 Tage bei 24°C weiter entwickelt. Bei 24°C liegt die theoretisch durchlaufene Entwicklung zwischen 11,19 und 14,16 Prozent (s. auch Tab. 2). Damit enthält die Gruppe der 0–5 Tage alten Eier bereits Eier, die zu 56–71% die Embryonalentwicklung

durchlaufen haben. Diese Eier können während der Exposition in einem Mortalitätstest potentiell eine weitere Entwicklung zur Larve durchlaufen. (Eine mögliche Entwicklungsverzögerung aufgrund der Sulfurylfluorideinwirkung wird für diese Betrachtung vernachlässigt.) Nun sind z.B. für eine Expositionsdauer von 72 h bei 30°C weitere 54% der Embryonalentwicklung zu berücksichtigen. Damit erreichen die ältesten der 0–5 Tage alten Eier mit hoher Wahrscheinlichkeit noch während des Mortalitätstests mit 72 h Expositionsdauer das Larvenstadium. Dies wird in Abb. 4 verdeutlicht. Die nächst jüngere Gruppe, mit einem Alter von 3–4 Tagen innerhalb der 0–5 Tage alten Eier liegt zu Beginn eines Mortalitätsversuches in einem zu 45–56% zur Larve entwickelten Zustand vor. Diese Eier erreichen mindestens zu Ende eines 72 h Expositionsversuches das Larvenstadium. Mit der Annahme, dass die unterschiedlichen Alter innerhalb der Gruppe der 0–5 Tage alten Eier gleichverteilt sind, liegt der Schluss nahe, dass bei 30°C aus etwa 2/5 aller Eier noch während eines 72 h Begasungsversuches Larven schlüpfen. Für einen 48 h Begasungsversuch lässt sich entsprechend ein Anteil von 1/5 der Eier angeben, welche potentiell das Larvenstadium noch während des Versuches erreichen.

Eientwicklung bei 25°C

Es lässt sich eine entsprechende Interpretation wie bei 30°C anstellen. Zu Beginn eines Mortalitätstests liegt in der Gruppe der 0–5 Tage alten Eier ein Entwicklungsgrad von 56–71% vor. Während eines Mortalitätstests von 72 Dauer schreitet die Entwicklung um theoretische 42% weiter voran. Es erreichen potentiell 1/5 aller Eier in einem 72 h das Larvenstadium. Bei einem 48 h dauernden Versuch vollziehen sich weitere 28% der Entwicklung, damit ist zumindest gegen Ende des 48-stündigen Versuches das Auftreten von Larven möglich.

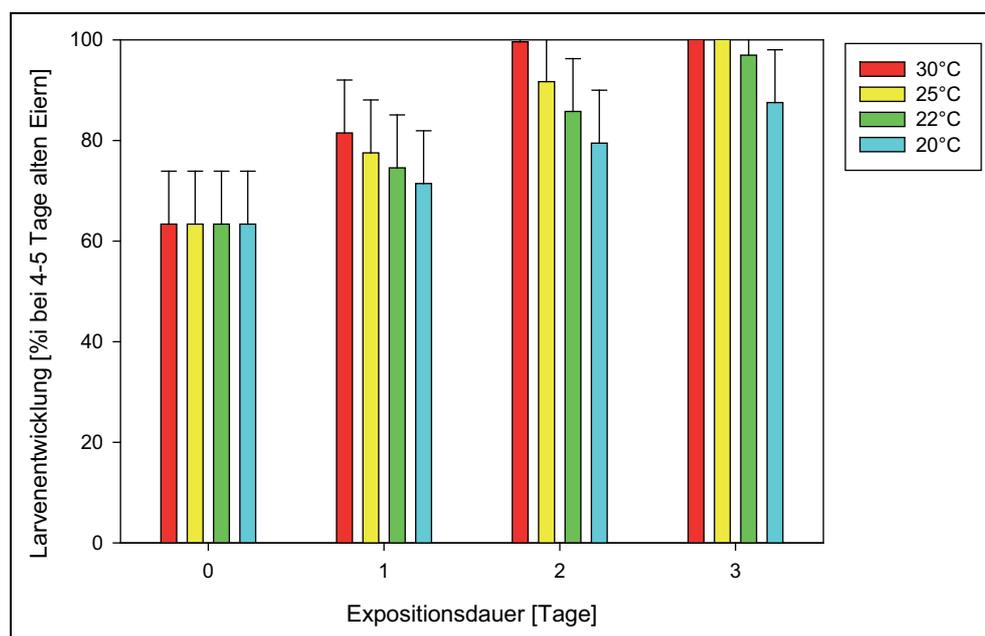


Abb. 4. Modell für den Grad der Larvenentwicklung unter Bedingungen wie im Mortalitätstest, für 4–5 Tage alte Eier mit 56–71% bereits fortgeschrittener Larvalentwicklung. 100% bezeichnen den erreichten Larvenschlupf. Das Modell basiert auf den Daten aus Tab. 2.

In der Zusammenführung aller Ergebnisse scheint es wahrscheinlich, dass die berechneten und beobachteten letalen Dosen und Konzentrationen nicht allein dem Eistadium zuzurechnen sind. Es ergeben sich Hinweise darauf, dass die Mortalitäten unter bestimmten Bedingungen zu einem gewissen Anteil auch die weitaus höhere Empfindlichkeit von Larven einschließen. BELL et al. (2003) berichtet von einer etwa 1/10 höheren Mortalität für post-Embryonalstadien mit einem Ct-Produkt von 113 g*h/m³.

Die bereits bekannte Steigerung der Wirksamkeit von Sulfurylfluorid durch Erhöhung der Temperatur konnte durch die vorliegende Studie weiter bestätigt werden. Hierbei scheint die beschleunigte Entwicklung von Eiern in empfindlichere Larven zu den vorliegenden Ergebnissen zur Mortalität beizutragen. Um diesen Effekt für die Praxis zu nutzen, könnten eine möglichst lange Expositionsdauer oder wiederholte Expositionen in Erwägung gezogen werden (REICHMUTH und KLEMENTZ, 2008).

Literatur

- ABBOTT, W.S., 1925: A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* **18**, 265-267.
- ANONYMUS, 2013: Pflanzenschutzmittel-Verzeichnis, Teil 5, Vorratsschutz, 61. Auflage 2013, ISSN 0178-0638, Herausgegeben vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, BVL, Stand: Januar 2013, www.bvl.bund.de/infopsm.
- AKAN, K., A.G. FERIZLI, 2010: Does sulfuryl fluoride and heat combination overcome the egg-weakness of almond moth? In: OBENAUF, G.L. (ed.), Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, November 2-5, 2010, Orlando, USA, pp. 56-1 - 56-4.
- BALTACI, D., D. KLEMENTZ, B. GEROWITT, M. DRINKALL, C. REICHMUTH, 2006: Lethal effects of sulfuryl fluoride on eggs of different ages and other life stages of the warehouse moth *Ephestia elutella* (Hübner). *Journal of Stored Products Research* **45**, 19-23.
- BARAKAT, D.A., C. REICHMUTH, 2009: Response of *Coryca cephalonica* towards sulfuryl fluoride, Proceedings of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, 10-13 November 2009, San Diego, USA, Ed. G.L. OBENAUF, pp. 61-1 - 61-4.
- BARAKAT, D.A., G. FLINGELLI, C. REICHMUTH, 2011: Lethal effects of sulfuryl fluoride on eggs of different age of the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. *Journal of Cultivated Plants* **63**, 323-332.
- BELL, C.H., N. SAVVIDOU, 1999: The toxicity of vikane (sulfuryl fluoride) to age groups of eggs of the Mediterranean Flour Moth *Ephestia kuehniella*. *Journal of Stored Products Research* **53**, 233-247.
- BELL, C.H., N. SAVVIDOU, T.J. WONTNER-SMITH, 1999: The toxicity of sulfuryl fluoride (Vikane) to eggs of insects pests of flour mills. In: ZUXUN, J., L. QUAN, L. YONGSHENG, T. XIANCHANG, G. LIANHUA (Eds.), Stored Product Protection, Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China. Chengdu, China, Sichuan Publishing House of Science and Technology, pp. 345-350.
- BELL, C.H., T.J. WONTNER-SMITH, N. SAVVIDOU, 2003: Some properties of sulphuryl fluoride in relation to its use as a fumigant in the cereals industry. In: CREDLAND, P.F., D.M. ARMITAGE, C.H. BELL, P.M. COGAN, E. HIGHLEY (Eds.), Advances in Stored Product Protection, Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection, 22-26 July 2002, York UK., Wallingford UK, CAB International Publishing, pp. 910-915.
- FIELDS, P.G., 2012a: Comparison of Efficacy of Methyl Bromide and Sulfuryl fluoride Fumigations in Canadian Pasta Plants. In: NAVARRO, S., H.J. BANKS, D.S. JAYAS, C.H. BELL, R.T. NOYES, A.G. FERIZLI, M. EMECKI, A.A. ISIKBER, K. ALAGUSUNDARAM (Eds.), Proceedings of the 9th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 15-19 October 2012, Antalya Turkey, pp. 215-221.
- FIELDS, P.G., 2012b: Novel Fumigants and Heat Treatment for Flour Mills. In: NAVARRO, S., H.J. BANKS, D.S. JAYAS, C.H. BELL, R.T. NOYES, A.G. FERIZLI, M. EMECKI, A.A. ISIKBER, K. ALAGUSUNDARAM (Eds.), Proceedings of the 9th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 15-19 October 2012, Antalya Turkey, pp. 333-344.
- FINNEY, D.J., 1971: Probit analysis. London and New York, Cambridge University Press.
- FLINGELLI, G., M. SCHÖLLER, C. REICHMUTH, 2012: Efficacy of sulfuryl fluoride towards eggs of *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797). *Mitteilungen d. deutschen Gesellschaft für allg. und angew. Entomologie* **18**, 447-450.
- HOWE, R.W., 1956: Effect of temperature and humidity on the rate of development and mortality of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae). *Ann. appl. Biol.* **44** (2), 356-368.
- HARTZER, M., B. SUBRAMANYAM, M. BRIJWANI, W. CHAYAPRASERT, D.E. MAIER, 2010: Methyl Bromide, Sulfuryl fluoride and heat: Effectiveness against red flour beetle. In: OBENAUF, G.L. (ed.), Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, November 2-5, 2010, Orlando, USA, pp. 67-1 - 67-4.
- LAWRENCE, J., B. SUBRAMANYAM, D.E. MAIER, W. CHAYAPRASERT, 2012: Efficacy of Sulfuryl Fluoride against Eggs and Adults of *Tribolium Castaneum* in Commercial Flour Mills. In: NAVARRO, S., H.J. BANKS, D.S. JAYAS, C.H. BELL, R.T. NOYES, A.G. FERIZLI, M. EMECKI, A.A. ISIKBER, K. ALAGUSUNDARAM (Eds.), Proceedings of the 9th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 15-19 October 2012, Antalya Turkey, pp. 291.
- OUTRAM, I., 1967: Factors affecting the resistance of insect eggs to sulfuryl fluoride. II. Distribution of sulfuryl-35 S fluoride in insect eggs after fumigation. *Journal of Stored Product Research* **3**, 353-358.
- REICHMUTH, C., D. KLEMENTZ, 2008: How to overcome the egg-weakness of sulfuryl fluoride - combinations of control methods. In: OBENAUF, G.L. (ed.), Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, November 6-9, 2006, Orlando, USA, pp. 88-1 - 88-4.
- REICHMUTH, C., W. RASSMANN, G. BINKER, G. FRÖBA, M.J. DRINKALL, 2003: Disinfestation of rust-red flour beetle (*Tribolium castaneum*), saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*), yellow meal worm (*Tenebrio molitor*), Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella*) and Indian meal moth (*Plodia interpunctella*) with sulfuryl fluoride in flour mills. In: CREDLAND, P.F., D.M. ARMITAGE, C.H. BELL, P.M. COGAN, E. HIGHLEY (Eds.), Advances in Stored Product Protection, Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection, 22-26 July 2002, York UK., Wallingford UK, CAB International Publishing, pp. 736-738.
- SCHNEIDER, B.M., P.M. HARTSELL, 1999: Control of stored product pests with Vikane gas fumigant (sulfuryl fluoride). In: ZUXUN, J., L. QUAN, L. YONGSHENG, T. XIANCHANG, G. LIANHUA (Eds.), Stored Product Protection, Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China. Chengdu, China, Sichuan Publishing House of Science and Technology, pp. 406-408.