

NECILJNO DELOVANJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC NA NARAVNE SOVRAŽNIKE: ZGLED NAVADNE TENČIČARICE (*Chrysoperla carnea* Stephens, Neuroptera, Chrysopidae)

Helena ROJHT¹, Stanislav TRDAN²

^{1,2}Biotehniška fakulteta, Oddelek za gronomijo, Katedra za entomologijo in fitopatologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Ličinke navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea* Stephens) so ene izmed najpomembnejših plenilk škodljivih organizmov na gojenih rastlinah. Entomopatogene ogorčice, ki se že uporabljajo za biotično varstvo rastlin, so neselektivne za členonožce, zato delujejo tudi na neciljne organizme. V prispevku predstavljamo rezultate delovanja treh vrst entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae* in *Heterorhabditis bacteriophora*) na ličinke navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea*) pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in treh koncentracijah (50 infektivnih ličink/osebek, 250 infektivnih ličink/osebek in 500 infektivnih ličink/osebek). Učinkovitost entomopatogenih ogorčic smo preverjali drugi in četrti dan po aplikaciji suspenzije s štetjem mrtvih ličink tenčičaric. Pri 15 °C se je kot najbolj škodljiva pokazala ogorčica *S. feltiae*, pri 20 in 25 °C pa vrsta *S. carpocapsae* in mešani suspenziji ogorčic *S. carpocapsae*×*S. feltiae* ter *S. carpocapsae*×*H. bacteriophora*.

Ključne besede: biotično varstvo, *Chrysoperla carnea*, entomopatogene ogorčice, navadna tenčičarica, neciljno delovanje

ABSTRACT

NON-TARGET EFFECT OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES ON NATURAL ENEMIES: EXAMPLE ON (WITH) GREEN LACEWING (*Chrysoperla carnea* Stephens, Neuroptera, Chrysopidae)

One of the most important predator of pests on the cultivated plants is green lacewing (*Chrysoperla carnea* Stephens). Entomopathogenic nematodes are used as biological agents, but they are not selective for arthropods and can influence also on non-target organisms. In this paper, we will discuss the results of non-target effect of three entomopathogenic nematodes species (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae* in *Heterorhabditis bacteriophora*) on larvae of green lacewing (*Chrysoperla carnea*) at three different temperatures, (15, 20 in 25 °C) and at three different concentrations, (50 infective juveniles per larvae, 250 infective juveniles per larvae and 500 infective juveniles per larvae). We were verifying the efficiency of entomopathogenic nematodes after second and fourth day of the application of suspension, with counting dead lacewing larvae. Results indicate that at the 15 °C the most efficient was *S. feltiae*. At 20 °C and 25 °C the species *S. carpocapsae* and two mixed suspensions of two entomopathogenic nematodes species showed the best efficiency (*S. carpocapsae* × *S. feltiae* and *S. carpocapsae* × *H. bacteriophora*).

¹ univ. dipl. inž. agr., Trčova 205, SI-2229 Malečnik

² doc., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

Key words: biological control, *Chrysoperla carnea*, entomopathogenic nematodes, green lacewing, non-target effect

1 UVOD

Ličinke navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea* [Stephens]) so zelo pomembne plenilke škodljivcev na gojenih kmetijskih rastlinah. Ko se izležejo so velike le 1 mm. So sive do rjave barve in imajo močno izražene mandibule (ustni aparat za bodenje in sesanje) s katerimi zgrabijo plen. Ena ličinka dnevno zaužije od 30 do 50 uši, med razvojem tudi do 400 uši, po nekaterih podatkih celo do 800. Poleg listnih uši so njen plen še pršice (Acarina), resarji (Thysanoptera), rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), majhne gosenice, ličinke hroščev (Coleoptera) itd. Po treh larvalnih stadijih dosežejo 8 mm ali več in se zabubijo. Odrasli se hranijo s cvetnim nektarjem, cvetnim prahom in medeno roso, so zelene barve in imajo dva para strehasto zloženih mrežastih kril, na katerih so dobro vidne zelene žile. Samice odložijo preko 100 jajčec na pecljih, posamič, v bližino kolonij listnih uši. Entomopatogene ogorčice uvrščamo v 23 družin, od katerih se v namene biotičnega varstva rastlin uporabljajo le predstavniki reda Rhabditida iz dveh družin Steinernematidae in Heterorhabditidae. Razvojni krog entomopatogenih ogorčic sestavljajo razvojni stadiji jajčeca, ličinke in odraslega osebk. Ličinka se navadno štirikrat levi. Ličinke tretjega larvalnega stadija, ki napadajo gostitelje, to so v največjem številu zgledov škodljive žuželke, imenujemo infektivne ličinke. Ta stadij imenujemo tudi invazivni stadij. V žrtve vstopajo prek ustne odprtine, anusa, trahej ali pa neposredno (mehansko) prek integumenta (družina Heterorhabditidae). Entomopatogene ogorčice imajo specifične bakterije, s katerimi živijo v mutualistično-simbiontskem odnosu. Bakterije povzročijo oslabitev in pogin napadenega organizma v 48 urah (Gaugler, 2002).

2 MATERIAL IN METODE

Kako entomopatogene ogorčice delujejo na ličinke navadne tenčičarice smo preučevali v laboratorijskem poskusu. Uporabili smo steklene petrijevke s premerom dna 7 cm, ki so imele plastičen pokrov. V pokrov smo napravili luknjo s premerom približno 2 cm, čez katero smo nalepili mrežico. V petrijevke smo dali celulozno staničevino in vanje odpipetirali po 1 ml vodne suspenzije entomopatogenih ogorčic. Kot vir hrane za ličinke smo v petrijevke dali listne uši in nekaj rastlinskih delov (list, steblo). Na koncu smo v vsako petrijevko dodali deset ličink plenilcev. Petrijevke smo zatesnili s parafilmom, da bi preprečili pobeg žuželk. Nato smo jih postavili v gojitveno komoro (tip RH-900 CH, proizvajalec: Kambič, Semič), kjer je bila 85 % zračna vlaga in popolna tema.

Poskus smo izvajali pri treh izbranih temperaturah (15, 20 in 25 °C). Odločili smo se za tri vrste ogorčic: *Steinernema feltiae*, *Steinernema carpocapsae* in *Heterorhabditis bacteriophora*. Uporabili smo tri koncentracije suspenzije: 500 infektivnih ličink/ml, 2500 infektivnih ličink/ml in 5000 infektivnih ličink/ml ali 50 infektivnih ličink/osebek [plenilca], 250 infektivnih ličink/osebek [plenilca] in 500 infektivnih ličink/osebek [plenilca]. Iste koncentracije smo uporabili tudi za mešane suspenzije z dvema vrstama entomopatogenih ogorčic (*S. feltiae* x *S. carpocapsae*, *S. feltiae* x *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* x *H. bacteriophora*). Za vsako obravnavanje smo imeli pet ponovitev. Pri vseh temperaturah smo imeli tudi kontrolne petrijevke (dodana voda brez ogorčic). Listne uši za hrano ličink tenčičaric smo nabirali na neškropljenih gojenih ali samoniklih rastlinah (poskusno polje BF, Odd. za agronomijo). Učinkovitost entomopatogenih ogorčic smo vrednotili drugi in četrti dan po

njihovem nanosu s štetjem mrtvih ličink. Ob prvem štetju smo ličinkam dodali hrano, če je bilo to potrebno. V poskusu smo uporabili komercialne pripravke nizozemskega proizvajalca Koppert: Entonem (infektivne ličinke *Steinernema feltiae*), Capsanem (infektivne ličinke *Steinernema carpocapsae*), Larvanem (infektivne ličinke *Heterorhabditis bacteriophora*) in Chrysopa (ličinke navadne tenčičarice, *Chrysoperla carnea*).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

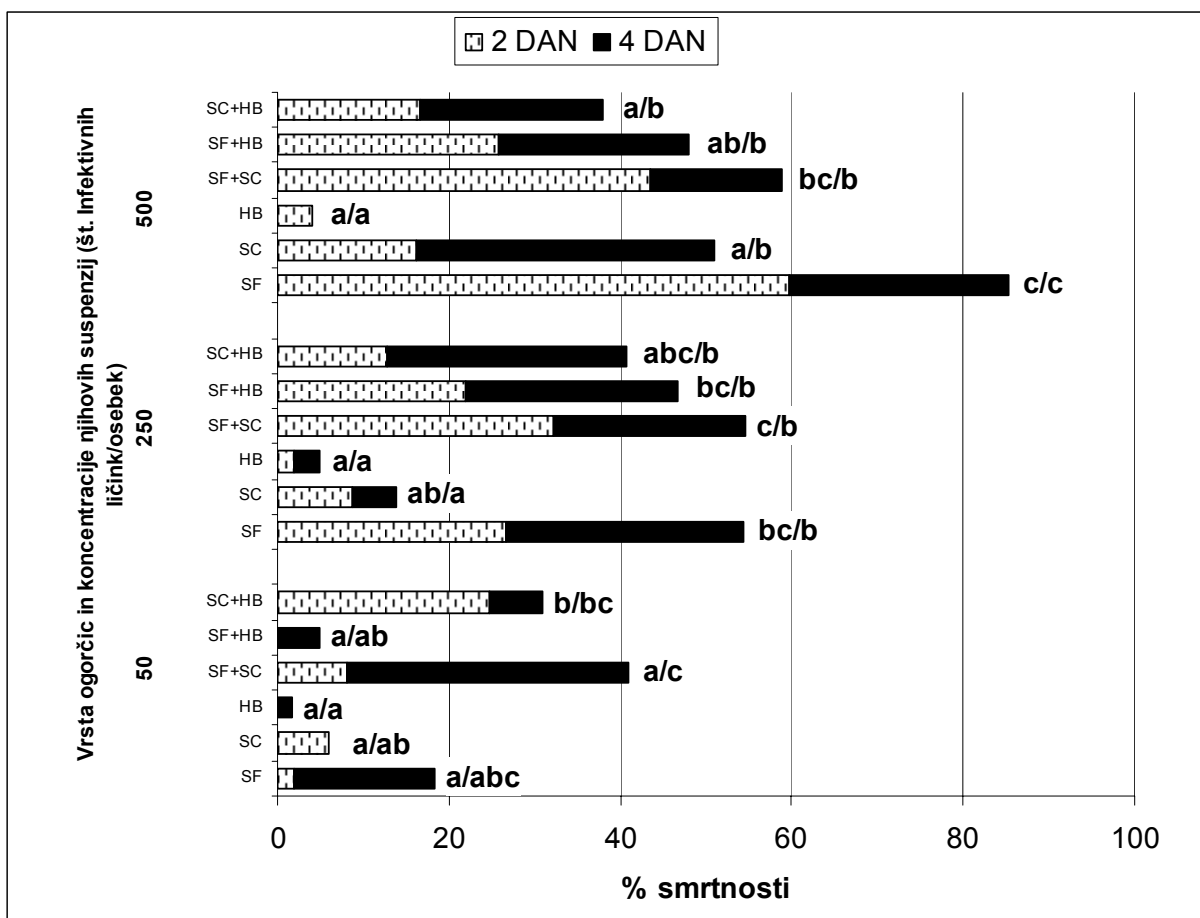
Analiza je pokazala (tveganje $P=0,0000$), da je smrtnost ličink navadne tenčičarice statistično značilno odvisna od temperature (15, 20 in 25 °C), vrste ogorčice (*S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *H. bacteriophora*, *S. feltiae*×*S. carpocapsae*, *S. feltiae*×*H. bacteriophora*, *S. carpocapsae*×*H. bacteriophora*), koncentracije njihovih suspenzij (50, 250 in 500 IL/osebek) ter dneva (drugi in četrti) po izpostavitvi ličink. Pri 15 °C, po drugem dnevu in pri najnižji koncentraciji, entomopatogene ogorčice (*H. bacteriophora* in *H. bacteriophora*×*S. feltiae*) niso imele učinka na ličinke navadne tenčičarice (smrtnost 0.0 %). Maksimalna smrtnost ličink (100 %) se je pojavila pri *S. carpocapsae* in *S. carpocapsae*×*H. bacteriophora*, pri 25 °C, po četrtem dnevu in koncentraciji 250 IL/osebek. Največjo LD₅₀ vrednost (445 IL/osebek) je imela *H. bacteriophora* pri 15 °C, najmanjšo (108 IL/osebek) *S. carpocapsae* pri 20 °C. Največjo LD₉₀ vrednost je imela prav tako *S. carpocapsae* pri najnižji temperaturi (672 IL/osebek), najmanjšo LD₉₀ vrednost (260 IL/osebek) pa ista ogorčica pri 25 °C. Letalne doze (LD) so izračunane iz korigirane smrtnosti ličink in izražajo število infektivnih ličink na osebek (na ličinko tenčičarice).

Pri 15 °C (sl. 1) se je pri vseh treh koncentracijah kot najbolj učinkovita pokazala *S. feltiae* in mešane suspenzije z njo (*S. feltiae*×*S. carpocapsae* ter *S. feltiae*×*H. bacteriophora*). *S. feltiae* je bila najbolj učinkovita (85 %) pri koncentraciji 500 IL/osebek. Od vseh ostalih se statistično značilno razlikujeta *S. feltiae* in mešana suspenzija *S. feltiae*×*S. carpocapsae* (Duncanov test, $P\leq 0,05$) z najboljšim delovanjem, sledita mešani suspenziji *S. feltiae*×*H. bacteriophora* in *S. carpocapsae*×*H. bacteriophora* in nadalje *C. carpocapsae*. Najmanj učinkovita je bila *H. bacteriophora* (1,8 % pri 50 IL/osebek, 4,8 % pri 250 IL/osebek in 4 % pri 500 IL/osebek, po četrtem dnevu).

Pri 20 °C (sl. 2) sta bili najbolj učinkoviti *S. carpocapsae* in mešana suspenzija *S. feltiae*×*S. carpocapsae*. Tako se z najboljšim delovanjem statistično značilno razlikujeta od vseh ostalih. *S. carpocapsae* je pri najnižji koncentraciji povzročila 68,4 % smrtnost, pri koncentraciji 250 IL/osebek 84,5 % in pri 500 IL/osebek 94,7 % smrtnost.

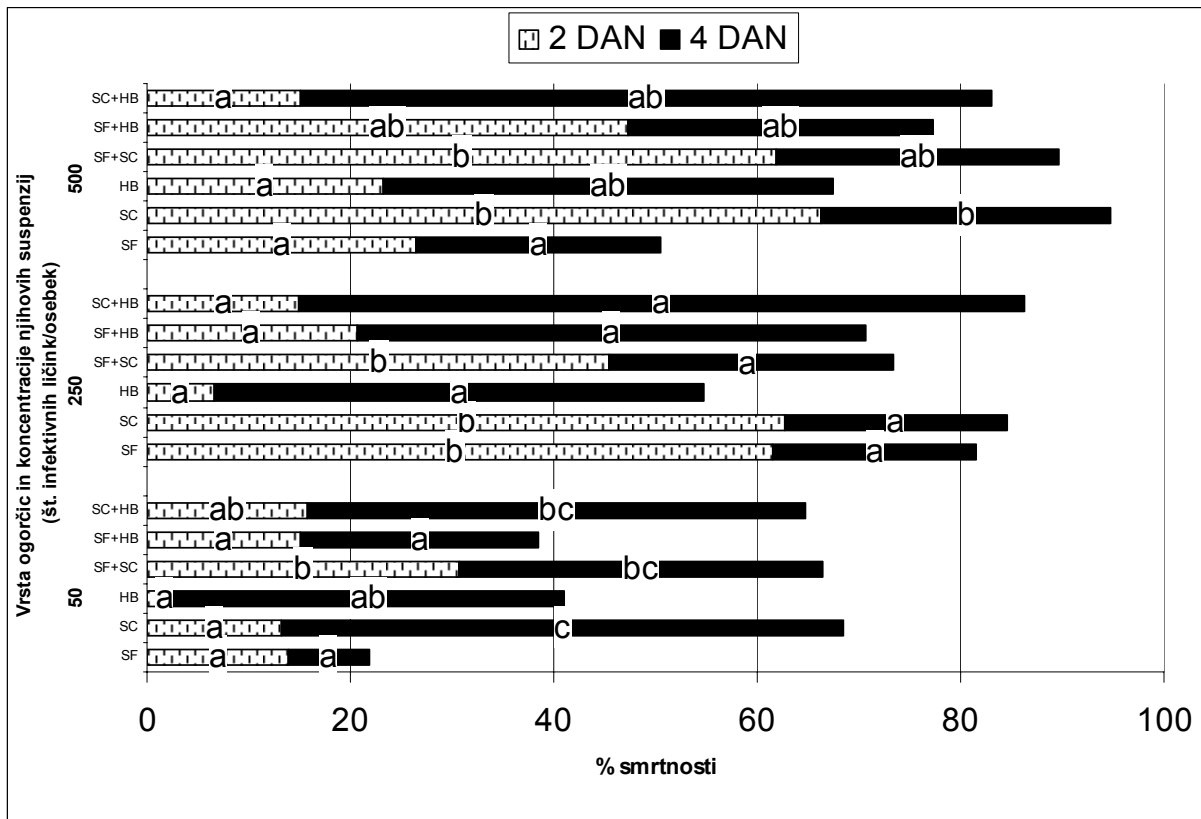
Največja dovzetnost ličink tenčičaric na entomopatogene ogorčice je bila pri 25 °C (sl. 3), saj je pri več kot polovici obravnavanj smrtnost ličink presegla 75 %. S 36 % smrtnostjo po četrtem dnevu pri koncentraciji 50 IL/osebek je bila najmanj škodljiva *H. bacteriophora*. Kot najbolj škodljiva se je tudi tu pokazala *S. carpocapsae*, saj je bila smrtnost ličink pri vseh koncentracijah nad 90 %.

Kanibalizem, ki je prikazan na sliki 4, narašča s temperaturo in je bil najbolj izrazit pri najvišji temperaturi, tako drugi kot četrti dan. To pomeni, da je odvisen predvsem od aktivnosti ličink in njihove velikosti. Višja kot je bila temperatura in večji kot je bil larvalni stadij ličink, bolj so bile požrešne. Kanibalizem se je pojavljal kljub temu, da so bile v petrijevkah listne uši.



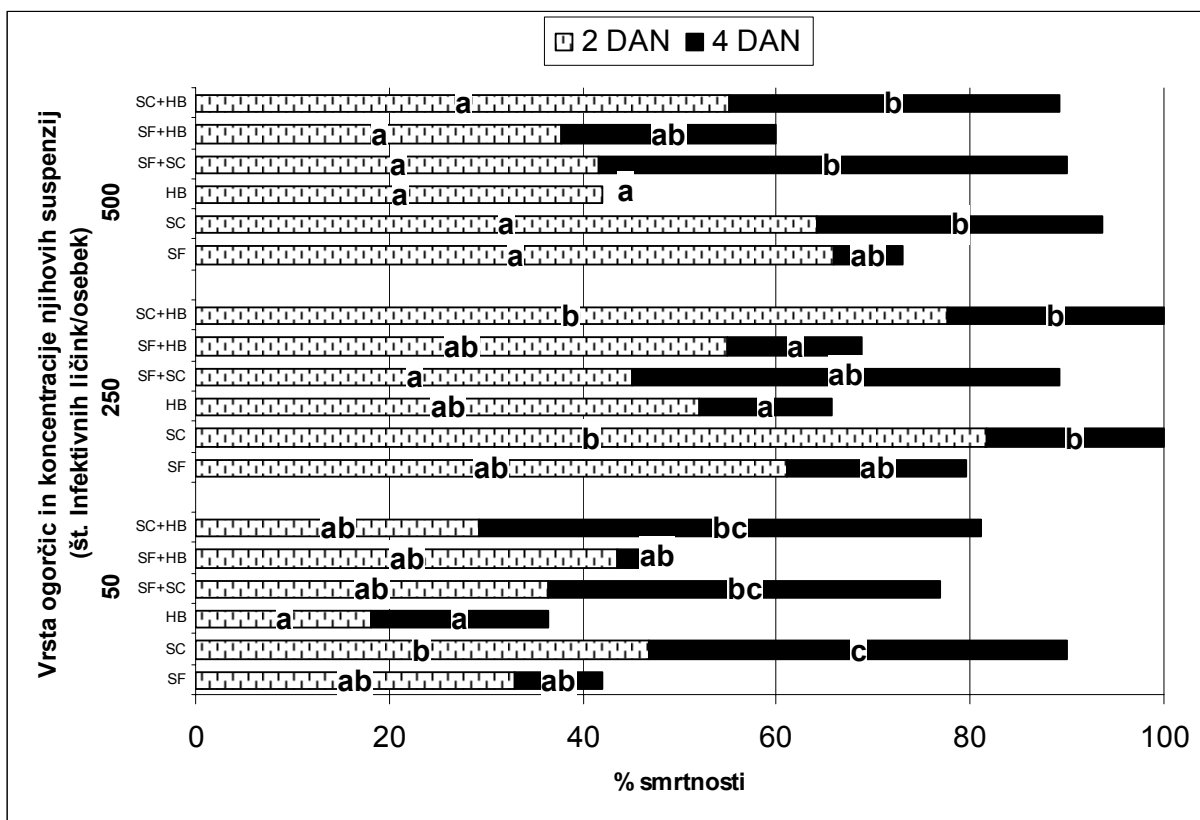
Slika 1: Odstotek smrtnosti ličink navadne tenčičarice po drugem in četrtem dnevu izpostavitve suspenzijam entomopatogenih ogorčic pri 15 °C glede na vrsto ogorčic in koncentracije njihovih suspenzij (število infektivnih ličink na osebek). Črke ob stolpcih kažejo statistično značilne razlike med vrstami ogorčic pri isti koncentraciji in istem dnevu. Stolpci z enakimi črkami niso statistično značilni ($P < 0,05$ Duncanov test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae*×*Steinernema carpocapsae*, SF+HB-*Steinernema feltiae*×*Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae*×*Heterorhabditis bacteriophora*.

Figure 1: Mortality of green lacewings larvae after second and fourth days of exposure to three concentrations of three EPN species and three mixed suspension of two EPN species and at 15 °C. The letters on the bars indicate significant differences in mortality between EPN species at the same concentration and date. Bars with the same letter are not significantly different ($P < 0,05$, Duncan's multiple range test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae*×*Steinernema carpocapsae*, SF+HB- *Steinernema feltiae*×*Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae*×*Heterorhabditis bacteriophora*.



Slika 2: Odstotek smrtnosti ličink navadne tenčičarice po drugem in četrtem dnevu izpostavitve suspenzijam entomopatogenih ogorčic pri 20 °C glede na vrsto ogorčic in koncentracije njihovih suspenzij (število infektivnih ličink/osebek). Črke ob stolpcih kažejo statistično značilne razlike med vrstami ogorčic pri isti koncentraciji in istem dnevu. Stolpci z enakimi črkami niso statistično značilni ($P < 0,05$ Duncanov test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae* × *Steinernema carpocapsae*, SF+HB- *Steinernema feltiae* × *Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae* × *Heterorhabditis bacteriophora*.

Figure 2: Mortality of green lacewings larvae after second and fourth days of exposure to three concentrations of three EPN species and three mixed suspension of two EPN species and at 20 °C. The letters on the bars indicate significant differences in mortality between EPN species at the same concentration and date. Bars with the same letter are not significantly different ($P < 0,05$, Duncan's multiple range test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae* × *Steinernema carpocapsae*, SF+HB- *Steinernema feltiae* × *Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae* × *Heterorhabditis bacteriophora*.



Slika 3: Odstotek smrtnosti ličink navadne tenčičarice po drugem in četrtem dnevu izpostavitve suspenzijam entomopatogenih ogorčic pri 25 °C glede na vrsto ogorčic in koncentracije njihovih suspenzij (število infektivnih ličink/osebek). Črke ob stolpcih kažejo statistično značilne razlike med vrstami ogorčic pri isti koncentraciji in istem dnevu. Stolpci z enakimi črkami niso statistično značilni ($P < 0,05$ Duncanov test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae* × *Steinernema carpocapsae*, SF+HB- *Steinernema feltiae* × *Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae* × *Heterorhabditis bacteriophora*.

Figure 3: Mortality of green lacewings larvae after second and fourth days of exposure to three concentrations of three EPN species and three mixed suspension of two EPN species and at 25 °C. The letters on the bars indicate significant differences in mortality between EPN species at the same concentration and date. Bars with the same letter are not significantly different ($P < 0,05$, Duncan's multiple range test). SF- *Steinernema feltiae*, CS-*Steinernema carpocapsae*, HB-*Heterorhabditis bacteriophora*, SF+SC- *Steinernema feltiae* × *Steinernema carpocapsae*, SF+HB- *Steinernema feltiae* × *Heterorhabditis bacteriophora*, SC+HB- *Steinernema carpocapsae* × *Heterorhabditis bacteriophora*.

Preglednica 1: LD₅₀ vrednosti s 95 % intervali zaupanja (IZ) za posamezne vrste ogorčic in temperature.

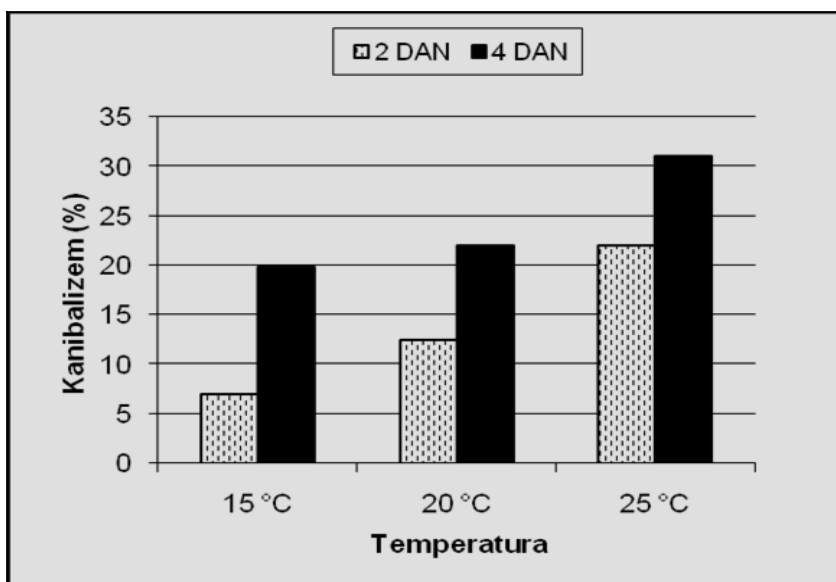
Table 1: LD₅₀ with 95 % confidence limits for individual species of entomopathogenic nematodes and temperature.

Vrsta ogorčice/temperatura	LD ₅₀ (95 % IZ)		
	15 °C	20 °C	25 °C
<i>S. feltiae</i>	255 (188-323)	265 (159-371)	237 (124-350)
<i>S. carpocapsae</i>	428 (327-529)	108 (0-286)	207 (0-596)
<i>H. bacteriophora</i>	445 (0-1257)	258 (153-363)	267 (157-377)
SF + SC	263 (158-368)	266 (0-194)	183 (0-399)
SF + HB	348 (250-447)	236 (132-340)	253 (138-369)
SC + HB	282 (152-413)	132 (0-323)	205 (0-464)

Preglednica 2: LD₉₀ vrednosti s 95 % intervali zaupanja (IZ) za posamezne vrste ogorčic in temperature.

Table 2: LD₉₀ with 95 % confidence limits for individual species of entomopathogenic nematodes and temperature.

Vrsta ogorčice/temperatura	LD ₉₀ (95 % IZ)		
	15 °C	20 °C	25 °C
<i>S. feltiae</i>	425 (325-525)	319 (167-471)	325 (188-463)
<i>S. carpocapsae</i>	672 (472-873)	303 (203-403)	260 (144-377)
<i>H. bacteriophora</i>	598 (0-2101)	336 (180-491)	278 (96-460)
SF + SC	366 (159-572)	391 (281-500)	277 (168-387)
SF + HB	543 (342-744)	368 (215-520)	313 (134-492)
SC + HB	329 (255-633)	322 (202-440)	266 (157-375)



Slika 4: Odstotek kanibalizma ličink tenčičaric glede na temperaturo in drugi ter četrti dan po tretiranju.

Figure 4: Effect of temperature on green lacewing larvae cannibalism second and fourth days after exposure.

Da bi bilo biotično varstvo rastlin z entomopatogenimi ogorčicami uspešno, morajo biti izpolnjeni naslednji pogoji: zadostna vlaga, minimalno sončno sevanje, primerna temperatura in zadostna koncentracija infektivnih ličink na enoto. Ti parametri pa se v naravnem okolju zelo spreminjajo in so veliko manj v prid entomopatogenim ogorčicam, kot kontrolirane laboratorijske razmere, zato je njihovo delovanje na organizme praviloma manjše. Nekateri avtorji poročajo o malenkostnem vplivu entomopatogenih ogorčic na neciljne organizme (Buck in Bathon, 1993; Bathon, 1996), drugi odsvetujejo uporabo zaradi prevelike škode, ki jo povzročajo entomopatogene ogorčice koristnim organizmom (Farag, 2002) (pregl. 1). Posamezne razvojne stopnje organizmov (mehkokožne ličinke) so bolj dovzetne, občutljive na delovanje entomopatogenih ogorčic kot odrasli osebkki (hrošči s hitiniziranim oklepom) (Svendsen in Steenberg, 2000; Shapiro-Ilan in Cottrell, 2005). Trdan s sod. (2006) poroča o veliko večjih LD₅₀ vrednostih za image dveh vrst hroščkov (*Sitophilus granarius* in *Oryzaephilus surinamensis*) kot so naše LD₅₀ vrednosti za ličinke tenčičaric.

4 SKLEPI

- Ličinke navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea*) kažejo veliko dovzetnost na entomopatogene ogorčice.
- Pri nizkih temperaturah je najnevarnejša *S. feltiae*, pri višjih (20 in 25 °C) pa *S. carpocapsae*.
- Na ličinke je pri vseh temperaturah imela najmanj vpliva *H. bacteriophora*.
- Glede na rezultate tega poskusa, odsvetujemo uporabo entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev v času, ko so v posevku ličinke navadne tenčičarice.

5 LITERATURA

- Abbott W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Economic entomology*, 18: 265-267.
- Bathon. H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. *Biocontrol science and technology*, 6: 421-434.
- Buck, M., Bathon, H. 1993. Effects of a field application of entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis* sp.) on the nontarget fauna, Part 2: Diptera. *Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 66: 84-88.
- Farag N. A. 2002. Impact of two entomopathogenic nematodes on the ladybird, *Coccinella undecimpunctata* and its pray, *Aphis fabae*. *Annals of agricultural science (Cairo). Faculty of Agriculture, Ain Shams University, Cairo, Egypt*, 47: 431-443.
- Gaugler, R. 2002. *Entomopathogenic nematology*. CAB Int.: 388 s.
- Milevoj, L. 1999. Rearing of the common green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens, in the laboratory. *Zb. Bioteh. fak. Univ. Ljubl.* 73: 65-70.
- Shapiro-Ilan, D. I., Cottrell, T. E. 2005. Susceptibility of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) to entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89: 150-156.
- Svendsen T. S., Steenberg T. 2000. The potential use of entomopathogenic nematodes against *Typhaea stercorea*. *BioControl*, 45: 97-111.
- Trdan, S., Vidrih, M., Valič N. 2006 Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera : Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. *Journal of plant diseases and protection*. 113: 168-173.