

PREU EVANJE SO ASNE UPORABE HERBICIDOV Z ENTOMOPATOGENIMI OGOR ICAMI (Nematoda: Rhabditida)

Žiga LAZNIK¹, Stanislav TRDAN²

^{1,2}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLE EK

V laboratorijskem poskusu smo preu ili združljivost štirih vrst entomopatogenih ogor ic (*Steinernema* in *Heterorhabditis*) z 8 izbranimi pripravki s herbicidnim delovanjem. Vpliv direktnega izpostavljanja infektivnih li ink (IL) herbicidom smo preverjali po 1, 4 in 24 urah v petrijevkah pri 15, 20 in 25 °C. Rezultati naše raziskave so pokazali, da je bila izmed preu evanih vrst vrsta *S. kraussei* najbolj tolerantna na izbrane herbicide. Vrsta *S. carpocapsae* je bila najbolj ob utljiva na delovanje herbicidov v našem poskusu. Odstotek preživelih IL je bil v poskusu najve ji pri 15 °C (81 %). Najve IL je umrlo v aktivni snovi oksifluorfen (53 %). Aktivna snov 2,4-D na preživetje vrste *S. feltiae* pri 25 °C ni imela vpliva v našem poskusu. Statisti na analiza je pokazala, da aktivna snov dikvat dibromid nima vpliva na vrsto *S. kraussei* pri 15 °C. Rezultati naše raziskave so potrdili, da je skladnost EPO s herbicidi vrstno specifi na lastnost, na katero vpliva temperatura kot tudi as izpostavljenosti aktivnemu sredstvu. So asna uporaba herbicida in EPO bi lahko predstavljala asovno kot tudi cenovno ugodno rešitev v varstvu rastlin.

103

Ključne besede: entomopatogene ogor ice, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, herbicidi

ABSTRACT

TESTING THE SIMULTANEOUS USE OF DIFFERENT HERBICIDES AND ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Nematoda: Rhabditida)

In a laboratory experiment we studied the compatibility of four entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis*) species with 8 selected plant protection products with herbicidal activity. The influence of direct exposure of infective juveniles (IJs) to herbicides was tested after 1, 4, and 24 hours in Petri dishes at 15, 20 and 25 °C. The study showed that *S. kraussei* proved to be the most tolerant among tested EPN species. The specie *S. carpocapsae* was the most sensitive to all tested herbicides. The percentage of IJs that survived was statistically the highest after 15 °C (81 %). The largest percentage of IJs died in active ingredient oxyfluorfen (53 %). An active ingredient 2,4-D proved to have no effect on *S. feltiae* survival at 25 °C at all times of exposure tested in our investigation. Statistical analyses showed that active ingredient diquat dibromide have no effect on *S. kraussei* survival at 15 °C at all times of exposure. The results confirmed the fact that the compatibility is species specific characteristic, influenced with temperature and time of the exposure to active ingredient. The combination could offer a cost-effective and time saving alternative to pest-weed control.

Keywords: entomopathogenic nematodes, *Steinernema*, *Heterorhabditis*, herbicides

¹ doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-mail: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

² prof. dr., prav tam

1 UVOD

Entomopatogene ogorice (EO) veljajo za učinkovite biotične agense pri zatiranju gospodarsko pomembnih škodljivcev (Gaugler in Kaya, 1990). EO imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin, saj nimajo negativnih vplivov na okolje, lahko jih uporabljamo na vodovarstvenih območjih, so komercialno dostopne, niso fitotoksične in lahko gostitelja oslabijo ali ubijejo že v 48 urah po infekciji (Gaugler in Kaya, 1990).

EO aplikiramo na območja, ki so lahko predhodno tretirana z nekaterimi drugimi kemikalijami (FFS, umetna gnojila) (De Nardo in Grewal, 2003). Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da je učinkovitost nekaterih kemikalij na EO specifična. Ker za nanos ogoric lahko uporabljamo opremo, ki je namenjena škropljenju s fitofarmaceutskimi sredstvi, gnojenju ali namakanju je dobro vedeti ali se lahko določen kemikalije meša z EO in ob morebitni hkratni aplikaciji sredstva z EO ne vpliva na njihovo učinkovitost (De Nardo in Grewal, 2003). Hkratna aplikacija EO z FFS bi lahko tudi omogočila sočasno zatiranje različnih škodljivih organizmov na rastlini ob dejstvu, da bi s tem prihranili tako na času kot tudi denarju.

V laboratorijskem poskusu smo preučili združljivost štirih vrst EO; *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *Heterorhabditis bacteriophora* z 8 izbranimi pripravki s herbicidnim delovanjem. Predvidevamo, da različne aktivne snovi (a.s.) s herbicidnim delovanjem različno vplivajo na posamezne vrste EO v suspenziji. Ob ugotovitvi pozitivne korelacije (to pomeni, da a.s. ne bo povzročila smrtnosti EO v suspenziji), bo mogoča sočasna aplikacija EO in herbicida v boju zoper škodljive organizme.

104

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 Herbicidi

V naši raziskavi smo preučili kompatibilnost 8 herbicidov; Afalon (a.s. linuron), Basta-15 (a.s. glufosinat-amonijeva sol), Boom efekt (a.s. glifosat), Dicotex (a.s. 2,4-D), Fuego (a.s. metazaklor), Goal (a.s. oksifluorfen), Reglone 200 SL (a.s. dikvat dibromid) in Sencor SC 600 (a.s. metribuzin).

2.2 Entomopatogene ogorice

V poskus smo vključili 4 vrste EO (*S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *H. bacteriophora*), ki smo jih naročili pri podjetju BASF (uvoznik za Slovenijo je podjetje Metrob, d.o.o.). Vse EO smo laboratorijsko namnoževali s t.i. »in vivo« metodo (Bedding in Akhurst, 1975). V poskusu smo uporabili le infektivne ličinke (IL) EO, ki so bile stare manj kot 2 tedna. IL so bile shranjene v hladilniku pri 4 °C in koncentraciji 3000 IL ml⁻¹ (De Nardo in Grewal, 2003).

2.3 Test kompatibilnosti

Vodi (30 ml) smo dodali 120 % priporočene koncentracije herbicida in 6 ml suspenzije EO s koncentracijo 3000 IL/ml. S pipeto smo odpipetirali 5 ml pripravljene suspenzije in jo v petih ponovitvah nanесли na plastične petrijevke (40x10 mm; Kemomed d.o.o., Slovenija). V vsaki petrijevki je bilo 2500 IL. Vsako obravnavanje je bilo ponovljeno petkrat, celotni poskus pa je bil ponovljen trikrat. Plastične petrijevke smo dali v gojitveno komoro (tip: RK-900 CH, proizvajalec: Kambi Laboratorijska oprema, Semi, Slovenija) brez osvetlitve in preučevali smrtnost IL pri 15, 20, and 25 °C in 70 % relativni zračni vlagi. Preživetveno sposobnost IL smo preverjali 1, 4 in 24 ur po nastavitvi poskusa tako, da smo iz vsakega vzorca odpipetirali 3x50 µl podvzorca in s pomočjo lupe prešteli žive in mrtve IL. Kontrolni vzorec je predstavljala suspenzija IL z vodo.

2.4 Statisti na analiza

Pred statisti no analizo smo vse vrednosti smrtnosti korigirali z uporabo Abottove formule (Abbott, 1925). Vrednosti smo analizirali z uporabo enosmerne ANOVA s pomojo programa Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.) pri emer so neodvisne spremenljivke predstavljali razli ni herbicidi. Statisti no zna ilne razlike smo dolo ili s pomojo Tukey testa ($\alpha = 0.05$).

3 REZULTATI

3.1 *Steinernema feltiae*

Statisti na analiza je pokazala, da so na smrtnost IL v našem poskusu vplivali razli ni dejavniki (temperatura, as izpostavitve, razli na herbicidna obravnavanja in interakcije med omenjenimi dejavniki) (preglednice 1, 2 in 3). Aktivna snov oksifluorfen ni signifikantno vplivala na smrtnost infektivnih li ink po 1 uri pri 20 in 25 °C. Pri 15 °C in po eni uri izpostavitve je omenjena a.s. zmanjšala število IL v poskusu za 22.8 ± 1.3 %. Aktivna snov dikvat dibromid ni signifikatno vplivala na smrtnost IL v poskusu. Najvejo smrtnost IL smo potrdili pri uporabi a.s. linuron. Po eni uri je bila smrtnost pri vseh treh preu evanih temperaturah signifikantno najvišja v primerjavi z ostalimi preu evanimi herbicidi (15 °C: 77.7 ± 2.7 %; 20 °C: 91.2 ± 3.7 %; 25 °C: 99.2 ± 0.8 %). Do podobne ugotovitve smo prišli tudi pri a.s. 2,4-D pri 25 °C.

105

3.2 *Steinernema carpocapsae*

Statisti na analiza je pokazala, da so po eni uri vse a.s. signifikantno vplivale na smrtnost IL v poskusu, neodvisno od temperature (preglednice 1, 2 in 3). Najnižja stopnja smrtnosti IL, a vseeno signifikantno višja kot pri kontrolnem obravnavanju, je bila ugotovljena pri a.s. dikvat dibromid (15 °C: 21.7 ± 2.1 %; 25 °C: 6.7 ± 1.9 %). Najveja stopnja smrtnosti IL je bila potrjena pri uporabi a.s. oksifluorfen po 4-ih urah pri vseh preu evanih temperaturah (15 °C: 58.7 ± 2.3 %; 20 °C: 90.3 ± 1.7 %; 25 °C: 65.8 ± 4.1 %). Do podobnih zaklju kov smo pri omenjeni a.s. prišli tudi po 24-ih urah.

3.3 *Steinernema kraussei*

Statisti na analiza je pokazala, da so na smrtnost IL v našem poskusu vplivali razli ni dejavniki (temperatura, as izpostavitve, razli na herbicidna obravnavanja in interakcije med omenjenimi dejavniki) (preglednice 1, 2 in 3). Aktivna snov dikvat dibromid ni signifikantno vplivala na smrtnost IL po 1 uri pri 15 in 25 °C. Pri 20 °C in po eni uri izpostavitve je omenjena a.s. zmanjšala število IL v poskusu za 38.8 ± 2.6 %. Pri 20 °C in po 4-ih urah izpostavitve le a.s. glifosat in metazaklor nista signifikantno vplivali na smrtnost IL v poskusu.

EO vrsta	Temperatura °C	Obnavljanje							
		linuron	glufosinat-amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metribuzin
Sf	15	77.7 e	38.3 cd	27.9 bc	38.6 cd	46.5 d	22.8 b	4.2 a	28.3 bc
	20	91.2 g	64.9 e	72.1 f	62.5 e	31.9 d	0.0 a	6.1 b	21.1 c
	25	99.2 e	59.4 d	7.8 b	0.0 a	24.3 c	0.0 a	12.8 b	55.1 d
Sc	15	44.4 d	42.8 d	28.9 bc	42.5 d	33.8 c	54.1 e	21.7 b	50.6 e
	20	48.6 b	62.0 c	66.5 c	93.6 f	42.5 b	79.8 d	87.7 e	76.6 d
	25	47.2 e	23.8 c	21.7 c	18.1 c	32.5 d	48.3 e	6.7 b	45.9 e
Sk	15	17.5 b	0.0 a	18.6 b	38.1 c	0.0 a	47.1 d	0.0 a	12.9 b
	20	63.4 g	54.2 f	19.0 b	44.3 d	34.4 c	48.5 e	38.8 c	53.7 ef
	25	44.8 cd	41.5 d	0.0 a	35.7 bcd	42.5 bcd	18.3 b	0.0 a	26.1 bc
Hb	15	25.7 bc	33.8 cd	0.0 a	23.1 b	25.8 bc	35.2 d	25.5 bc	30.9 cd
	20	36.1 b	47.1 d	31.9 b	57.3 e	39.9 c	45.3 d	45.3 d	57.3 e
	25	35.8 b	39.9 b	1.2 a	50.1 c	58.5 c	32.4 b	51.2 c	45.5 bc

Preglednica 1: Vrednosti korigirane smrtnosti (%) v odvisnosti od EO, herbicidnega tretiranja, 1 uro po izpostavitvi. Vrednosti v isti vrsti z različnimi oznakami (črkami) se signifikantno razlikujejo ($P < 0.05$, Tukey's test). Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

EO vrsta	Temperatura °C	Obnavljanje							
		linuron	glufosinat-amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metribuzin
Sf	15	49.8 e	46.2 e	9.7 b	28.9 d	13.1 bc	31.2 d	6.7 a	23.0 cd
	20	56.1 c	21.3 b	71.5 d	77.6 f	69.6 d	55.7 c	71.3 d	70.8 d
	25	84.8 d	56.0 c	18.5 b	0.0 a	0.6 a	15.2 b	14.6 b	55.5 c
Sc	15	43.8 d	51.3 e	30.9 c	12.2 b	40.3 d	58.7 f	19.1 b	36.2 cd
	20	15.0 b	41.2 c	71.7 d	88.7 f	41.6 c	90.3 f	82.4 e	88.4 f
	25	45.0 c	50.9 d	43.5 c	30.9 b	41.4 bc	65.8 f	37.2 b	59.4 e
Sk	15	33.7 d	43.2 d	10.0 b	37.1 d	6.3 b	48.7 e	0.0 a	23.9 c
	20	25.3 c	35.1 d	0.0 a	20.8 c	0.0 a	8.1 b	23.2 c	37.2 d
	25	50.4 cd	55.5 d	16.8 b	27.3 b	25.5 b	55.0 d	19.5 b	29.5 bc
Hb	15	39.9 e	28.2 d	14.5 bc	1.7 a	8.5 b	12.7 b	17.1 c	25.3 d
	20	33.9 b	60.2 ef	45.9 c	58.9 de	44.0 c	50.0 cd	41.9 c	64.5 f
	25	59.5 e	45.2 d	13.1 b	33.3 c	63.5 e	61.4 de	30.0 c	43.8 d

Preglednica 2: Vrednosti korigirane smrtnosti (%) v odvisnosti od EO, herbicidnega tretiranja, 4 ure po izpostavitvi. Vrednosti v isti vrsti z različnimi oznakami (črkami) se signifikantno razlikujejo ($P < 0.05$, Tukey's test). Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

3.4 *Heterorhabditis bacteriophora*

Statistična analiza (preglednice 1, 2 in 3) je pokazala, da so na smrtnost IL v našem poskusu vplivali različni dejavniki (temperatura, čas izpostavitve, različna herbicidna obravnavanja in interakcije med omenjenimi dejavniki). Aktivna snov glifosat ni signifikantno vplivala na smrtnost IL po 1 uri pri 15 in 25 °C. Pri 20 °C in po eni uri izpostavitve je omenjena a.s. zmanjšala število IL v poskusu za 31.9 ± 1.1 %. Do podobnih ugotovitev smo po 4-ih urah izpostavitve pri 20 °C prišli tudi pri preizkušanju a.s. 2,4-D. Po 24-ih urah (pri vseh preučenih temperaturah) so vse preučevane a.s. signifikantno vplivale na smrtnost IL v poskusu.

EO vrsta	Temperatura °C	Obnavljanje							
		linuron	glufosinat-amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metribuzin
Sf	15	49.4 c	27.4 b	51.0 c	25.1 b	26.3 b	66.2 d	27.8 b	42.5 c
	20	58.2 c	64.8 d	50.0 b	48.0 b	56.8 bc	66.6 de	62.1 cd	70.3 e
	25	66.8 d	89.2 f	0.0 a	0.0 a	5.2 b	80.0 e	2.8 b	24.2 c
Sc	15	32.5 cd	38.4 d	35.3 c	32.2 cd	27.7 c	85.6 f	16.2 b	59.9 e
	20	33.3 b	69.4 c	78.2 d	94.0 g	33.8 b	96.0 g	88.5 e	91.3 fg
	25	48.5 e	44.0 de	44.0 de	28.9 c	39.3 d	96.6 g	11.1 b	67.6 f
Sk	15	13.3 b	7.2 ab	44.2 c	46.0 c	16.0 b	61.4 d	0.0 a	41.7 c
	20	42.9 f	14.5 c	6.7 b	34.2 e	2.7 b	44.9 f	21.6 d	43.4 f
	25	58.3 e	77.9 ef	17.1 bc	12.9 b	33.6 d	77.6 f	18.0 b	27.9 c
Hb	15	57.0 de	30.8 c	18.3 b	35.5 c	61.0 e	51.6 d	50.8 d	47.4 d
	20	39.4 b	40.9 b	29.7 b	56.8 c	50.7 c	62.7 d	37.8 b	65.1 d
	25	42.2 c	55.9 de	18.1 b	41.8 c	67.6 f	56.2 de	48.0 cd	63.9 ef

Preglednica 3: Vrednosti korigirane smrtnosti (%) v odvisnosti od EO, herbicidnega tretiranja, 24 ur po izpostavitvi. Vrednosti v isti vrsti z različnimi oznakami (črkami) se signifikantno razlikujejo ($P < 0.05$, Tukey's test). Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

4 DISKUSIJA

V raziskavi smo preu evali kompatibilnost EO z izbranimi herbicidi. Rezultati naše in nekaterih sorodnih raziskav (Krishnayya and Grewal, 2002; De Nardo and Grewal, 2003; Laznik *et al.*, 2012; Laznik in Trdan, 2014) so pokazali, da je kompatibilnost vrstno specifi na. Vrsta *S. kraussei* je v našem poskusu pokazala najmanjšo ob utljivost na a.s. s herbicidnim delovanjem, medtem ko je bila vrsta *S. carpocapsae* najbolj ob utljiva na delovanje preu evanih snovi. Aktivna snov dikvat dibromid ni imela vpliva na smrtnost IL

EO vrste *S. kraussei* pri 15 °C. Omenjena a.s. je sicer vplivala na smrtnost ostalih preu evanih vrst v našem poskusu. Temperatura se je v našem poskusu izkazala kot pomemben dejavnik, ki vpliva na smrtnost EO v povezavi s preu evano a.s. Smrtnost EO je bila v našem poskusu najnižja pri 15 °C. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi v sorodni raziskavi (Laznik in Trdan, 2014).

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je EO mogoče hkrati aplicirati z nekaterimi a.s. s herbicidnim delovanjem, s čimer pripomoremo k učinkovitejšemu, cenejšemu in sicer hitrejšemu zatiranju škodljivih organizmov na rastlinah.

5 ZAHVALA

Raziskava, predstavljena v tem prispevku, je nastala s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstva za kmetijstvo in okolje RS v okviru CRP projekta V4-1067. Del raziskave je bil financiran v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin, ki ga financira Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS – Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin. Za tehnično pomoč pri poskusu se zahvaljujemo naši magistrandki Niki Bajc.

6 LITERATURA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Bedding, R.A., Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21: 109-110.
- De Nardo, E.A.B., Grewal, P.S. 2003. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with Pesticides and Plant Growth Regulators Used in Glasshouse Plant Production. *Biocontrol Sci. Technol.* 13, 4: 441-448.
- Gaugler, R., Kaya, H.K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC Press: 365 str.
- Krishnayya, P.V., Grewal, P.S. 2002. Effect of Neem and Selected Fungicides on Viability and Virulence of the Entomopathogenic Nematode *Steinernema feltiae*. *Biocontrol Sci. Technol.* 12: 259-266.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Vidrih, M., Trdan, S. 2009. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. *Helminthologia*, 46, 2: 135-138.
- Laznik, Ž., Vidrih, M., Trdan, S., 2012. Effect of different fungicides on viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae* Weiser and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. *Chilean journal of agricultural research* 72: 62-67.