

## PRVI POLJSKI POSKUS UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC V SLOVENIJI

Žiga LAZNIK<sup>1</sup>, Tímea TÓTH<sup>2</sup>, Tamás LAKATOS<sup>3</sup>, Stanislav TRDAN<sup>4</sup>

<sup>1,4</sup>Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

<sup>2,3</sup>Research and Extension Centre for Fruitgrowing, Újfehértó, Hungary

### IZVLEČEK

Entomopatogene ogorčice so učinkoviti biotični agensi za zatiranje žuželk. V prispevku so predstavljeni rezultati prvega poljskega poskusa uporabe EPO pri nas. Ciljna žuželka je bila koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Poskus je bil razdeljen na 4 bloke, znotraj vsakega smo preučevali 6 različnih obravnavanj: *S. feltiae* B30 nkon., *S. feltiae* B30 vkonc., Entonem nkon., Entonem vkonc., Actara in kontrola. Glede na populacijsko dinamiko različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča smo ugotovili, da entomopatogene ogorčice učinkujejo le na larvalne stadije, medtem ko na jajčeca in imaga na prostem nimajo vpliva. Insekticid Actara se je izkazal kot najbolj učinkovito obravnavanje, saj je bila smrtnost žuželk tu največja. Preučevali smo tudi vpliv zatiranja škodljivca na pridelek krompirja in ugotovili, da med preučevanima koncentracijama suspenzije ogorčic ni bilo razlik, so se pa tretiranja z entomopatogenimi ogorčicami statistično značilno razlikovala od kontrole in insekticidom Actara, ki je bil najboljši.

**Ključne besede:** entomopatogene ogorčice, koloradski hrošč, poljski poskus, biotično varstvo

### ABSTRACT

#### FIRST FIELD EXPERIMENT WITH ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN SLOVENIA

Entomopathogenic nematodes are effective biological agents to control insect pests. In this paper are presented the results of our first field experiment with entomopathogenic nematodes in Slovenia. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) was the target pest, which was controlled in our research. The experiment was divided in 4 blocks, in every block were 6 different treatments: *S. feltiae* B30 lconc., *S. feltiae* B30 hconc., Entonem lconc., Entonem hconc., Actara and control. Observing the population dynamics of Colorado potato beetle we conclude, that entomopathogenic nematodes have a big influence on larval stages but on the other hand no effect on egg and adults in field experiment. Insecticide Actara showed the best results among the observations. Here was the mortality of the insect highest. We also studied the effect of controlling Colorado potato beetle on the yield of potato. There were no differences between EPN treatments, however the results using EPN were better than in control treatments and worse as the results of insecticide Actara.

**Key words:** entomopathogenic nematodes, Colorado potato beetle, field experiment, biological control

<sup>1</sup> asist., mladi raziskovalec, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana, e-mail: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

<sup>2</sup> podiplomska študentka, Vadastag 2, H-4244 Újfehértó, Hungary

<sup>3</sup> dr., raziskovalec, prav tam

<sup>4</sup> prof. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

## 1 UVOD

Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) velja za enega najbolj gospodarsko pomembnih škodljivcev krompirja (*Solanum tuberosum* L.) v nekaterih državah v Evropi in ZDA (Hare, 1990). Škodljivi stadiji so ličinke, ki se trikrat levijo ter imagi, ki so foliarni škodljivci in lahko v življenjski dobi požro tudi več kot 100 cm<sup>2</sup> listne površine (Ferro *et al.*, 1985). Škodljivec ima letno od 2 do 3 generacije (Berry, 1998). Prva in druga generacija lahko povzročita tudi do 100 % defoliacijo krompirjevih rastlin, če krompirja ne tretiramo z ustreznimi sredstvi za varstvo rastlin. Ob popolni defoliaciji je lahko pridelek krompirja manjši tudi za več kot 50 % (Hare, 1990). Koloradskega hrošča zatiramo navadno z insekticidi, vendar so nekatere populacije hroščev razvile rezistenco skoraj na vse aktivne snovi (Forgash, 1985), kot tudi na pripravke, ki temeljijo na aktivni snovi *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *tenebrionis* (Whalon *et al.*, 1993). Prav zato številni raziskovalci v zadnjem obdobju iščejo rešitve v varstvu krompirja pred škodljivim delovanjem koloradskega hrošča z uporabo predatorjev in parazitoidov (Armer *et al.*, 2004).

EPO iz družin Steinerenmatidae in Heterorhabditidae so pomembni naravni sovražniki žuželk (Kaya, 1990). Gre za talne organizme, ki živijo v mutualističnem odnosu z bakterijami iz rodu *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* (Burnell in Stock, 2000). Po vstopu ogorčice v telo žuželke, se iz telesa infektivnih ličink (tretji larvalni stadij EPO) sprostijo simbiotske bakterije v hemolimfni sistem gostitelja in z izločanjem nekaterih toksinov povzročijo njegovo smrt v 24 do 72 urah (Forst in Clarke, 2002).

EPO so bile do nedavnega v Sloveniji znane kot t. i. tujerodni organizmi, katerih uporaba je bila mogoča le v laboratorijskih poskusih (Trdan *et al.*, 2006; Trdan *et al.*, 2008). Od leta 2006 aktivno preučujemo favno EPO v slovenskih tleh in do sedaj smo potrdili zastopanost 5 vrst: *Steinernema feltiae* (Filipjev) (rasa B30, B49, C76), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (rasa C67, C101, C110, C119), *Steinernema kraussei* (Steiner) (rasa C46, C49), *Steinernema affine* (Bovien) (rasa A12) in *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (rasa D54) (Laznik *et al.*, 2008 a, b). Preučevano raso v našem poskusu *S. feltiae* B30 smo izolirali v osrednjem delu Slovenije (območje Cerknice) in jo v preliminarnih poskusih uporabili pri preučevanju učinkovitosti zoper skladiščnega škodljivca *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera:Curculionidae) v laboratorijskih razmerah. Ko je omenjena vrsta pri nas tudi uradno postala domorodna vrsta (MAFF, 2008), smo se odločili, da jo preiskujemo tudi v prvem poljskem poskusu uporabe EPO v Sloveniji na prostem.

Poleg rase *S. feltiae* B30 smo v poskus foliarnega zatiranja koloradskega hrošča na prostem vključili tudi komercialni pripravek Entonem (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, The Netherlands), katerega aktivna učinkovina je prav tako vrsta *S. feltiae* in sistemični insekticid Actara (aktivna snov tiametoksam) proizvajalca Syngenta. Cilj naše raziskave je bil: (1) preučiti učinkovitost domače rase *S. feltiae* B30 v primerjavi z komercialnim pripravkom Entonem ter insekticidom Actara zoper vse razvojne stadije koloradskega hrošča na prostem, (2) ugotoviti vpliv zatiranja koloradskega hrošča na pridelek, (3) vpliv koncentracije na učinkovitost zatiranja, (4) pomen dvojnega apliciranja z tako imenovano »split« metodo pri drugem tretiranju.

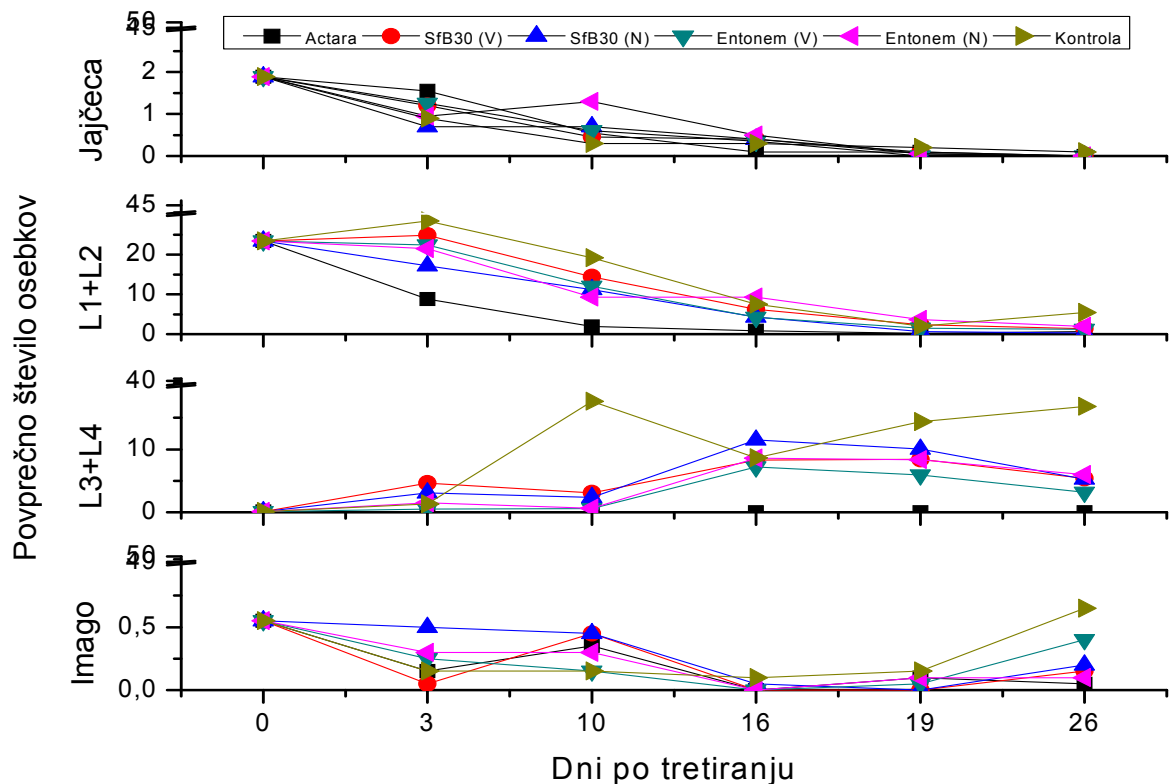
## 2 MATERIAL IN METODE DE LA

S krompirjem sorte Kondor smo zasadili njivo (45 x 11 m) in jo razdelili na štiri bloke s po šestimi obravnavanji (kontrola, SfB30 nizka konc., SfB30 visoka konc., Entonem nizka konc., Entonem visoka konc. in Actara). Pripravek Entonem (Koppert B.V., Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) smo naročili preko uvoznika Zeleni hit d.o.o. (Ljubljana, Slovenija), medtem ko smo slovensko raso *S. feltiae* B30 namnožili v posebnih bioreaktorjih na Madžarskem (Research and Extension Centre for Fruitgrowing). Prvo aplikacijo insekticida Actara (a.s.

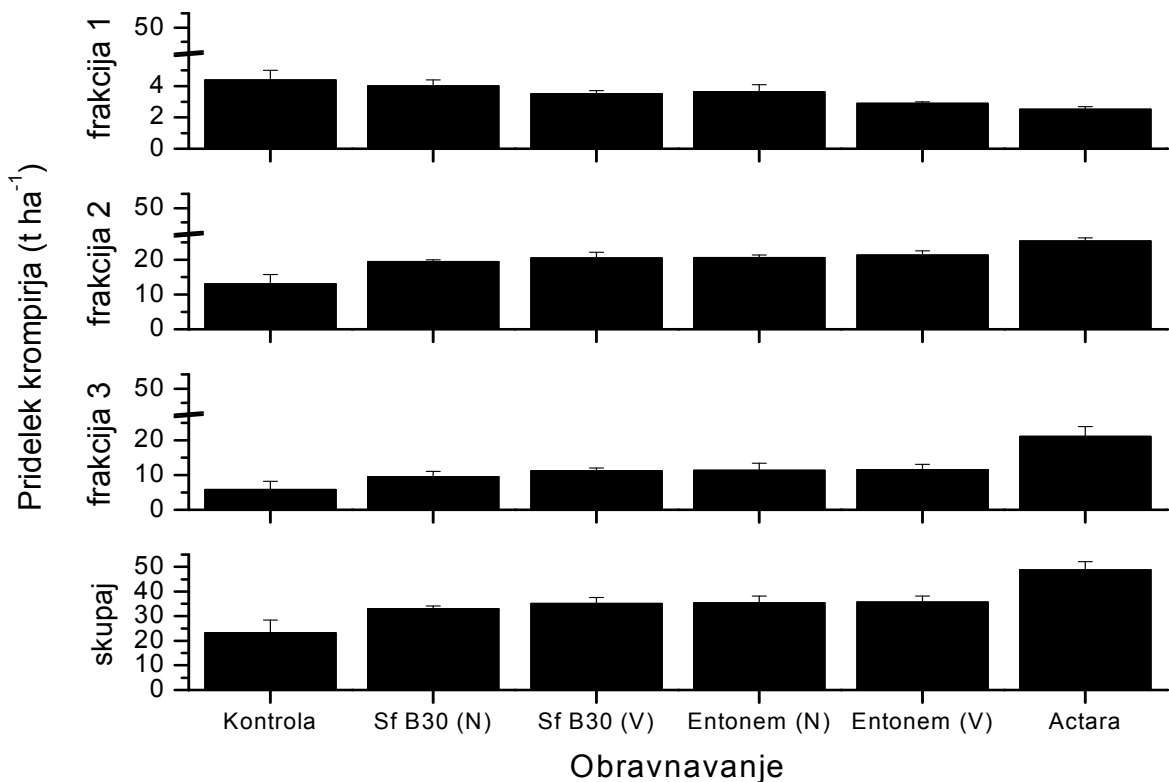
tiametoksam) ter EPO smo izvedli 10. 6. 2008. S predhodnjim opazovanjem rastlin smo ugotovili, da so se iz jajčec začele izlegati ličinke koloradskega hrošča. Škropljenje z EPO smo izvedli z ročno nahrbtno škropilnico z batno črpalko SOLO 425. Uporabili smo šobe z oznako 04F110, medtem ko je bil tlak škropljenja 2 bara. Odločili smo se za dve koncentraciji suspenzije ogorčic; nizka – 250.000 IJ/m<sup>2</sup> ter visoka – 500.000 IJ/m<sup>2</sup>. Insekticid Actara smo tretirali v odmerku 60 g/ha. 26. 6. 2008 smo tretiranje z EPO in insekticidom Actara ponovili, vendar tokrat z polovično koncentracijo suspenzije ogorčic (125.000 IJ/m<sup>2</sup> in 250.000 IJ/m<sup>2</sup>). Pri obeh aplikacijah smo v suspenzijo EPO dodali 0.05 % of the surfactant Nu-Film-17 (a.s. di-1-p-methene, 96 %; manufacturer: Lances Links SA, Geneva, Switzerland; supplier: Karsia Dutovlje d.o.o., Ljubljana, Slovenia), s katerim smo dosegli večji oprijem kapljic na listno površje. Populacijsko dinamiko koloradskega hrošča smo spremljali 3, 10, 16, 19 in 26 DAT. Zaradi velike nevarnosti pojava krompirjeve plesni (*Phytophthora infestans*) smo tretirali krompir 26. 6. 2008 z fungicidom Melody duo (a.s. iprovalikarb-5.5 % in propineb-61.3 %). Škroplje z fungicidom smo ponovili 24. 7. 2008. 30.7.2008 smo škropili z herbicidom Basta (a.s. glufosinat-amonijeva sol – 15%), da smo posušili cimo krompirja. Krompir smo izkopal z gnanim izkopalnikom za krompir z dvema vrtečima se ploščama 12. 8. 2008. Razlike v populacijski dinamiki različnih stadijev koloradskega hrošča (jajčeca, L1-L2, L3-L4, imago) med posameznimi obravnavanji kot tudi razlike v masi pridelka smo analizirali z uporabo ANOVA. Vsa statistična analiza je bila opravljena s pomočjo računalniškega programa Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.). Statistično značilne razlike ( $P \leq 0.05$ ) so bile identificirane z uporabo Student-Newman-Keuls's testom.

### 3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Rezultati naše raziskave so pokazali, da ta EPO *Steinernema feltiae* rasa B30 in komercialni pripravek Entonem (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, The Netherlands) učinkovit biotični agens za foliarno zatiranje, predvsem larvalnih stadijev, koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) na prostem (slika 1). Nekatere laboratorijske raziskave so pokazale, da so odrasli osebkoli koloradskega hrošča neobčutljivi na delovanje EPO (Toba *et al.*, 1983), medtem ko smo v naši laboratorijski raziskavi ugotovili, da vrsta *S. feltiae* (Entonem) pri izjemno visoki koncentraciji suspenzije ogorčic (2000 IJ/adults) lahko povzroči tudi do 70 % smrtnost imagov. V sorodni raziskavi (Stewart *et al.*, 1998) poročajo, da so dosegli v laboratorijskih razmerah 100 % smrtnost različnih stadijev koloradskega hrošča, medtem ko je bil uspeh učinkovitosti delovanja EPO *S. carpocapsae* na prostem le 31 %. Welch in Briand (1961) poročata, da foliarna aplikacija EPO ni priporočljiva, saj prihaja do prehitrega izsuševanja suspenzije na listih in je s tem končna učinkovitost slabša. Ker je znašala relativna zračna vlaga med izvajanjem aplikacije v nočnih urah 66.7 % iščemo razlog za nižjo učinkovitost v temperaturi, saj je bila povprečna nočna temperatura v času prve aplikacije (10. junij) 14 °C, v času druge (26. junij) pa 16 °C. Sorodne raziskave so namreč pokazale, da je boljša učinkovitost delovanja EPO zoper imago nekaterih drugih vrst žuželk (*Phyllotreta undulata*), dosežena pri temperaturah med 20 in 25 °C (Trdan *et al.*, 2008). Na stadij jajčeca v poskusu EPO niso imele vpliva, medtem ko so EPO pokazale zadovoljivo učinkovitost na larvalne stadije, kar so pred nami ugotovili tudi številni drugi raziskovalci (Armer *et al.*, 2004). Rasa *S. feltiae* B30 se je pri visoki koncentraciji suspenzije ogorčic (500.000 IJ/m<sup>2</sup> pri prvi aplikaciji in 250.000 IJ/m<sup>2</sup> pri drugi aplikaciji) izkazala kot najbolj učinkovita pri zatiranju najmlajših stadijev ličink (L1 in L2), saj se je populacija zmanjšala iz 36 ličink/rastlino pred tretiranjem na samo 2 ličinki/rastlino ob koncu poskusa (slika 1), medtem ko se je število v kontrolnem obravnavanju zmanjšalo iz 18 na 5 ličink/rastlino. Rasa *S. feltiae* B30 in komercialni pripravek Entonem sta prav tako vplivala na populacijsko dinamiko starejših ličink (L3 in L4) v našem poskusu (slika 1). Statistična analiza je pokazala, da je bila slovenska rasa B30 celo boljša od komercialnega pripravka.



Slika 1: Populacijska dinamika različnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) pri različnih obravnavanjih v poskusu.



Slika 2: Pridelek krompirja pri različnih obravnavanjih (t/ha). V frakcijo 1 smo vključili gomolje krompirja, ki so manjši od 4 cm; v frakcijo 2 gomolje krompirja, ki so veliki od 4 do 5 cm; v frakciji 3 so gomolji krompirja, ki so večji od 5 cm.

Insekticid Actara je bil najboljši, saj na rastlinah nismo našli niti ene starejše ličinke, medtem ko smo pri rasi *S. feltiae* B30 (visoka koncentracija suspenzije ogorčic) ob koncu poskusa na rastlino našli v povprečju okoli 5 odraslih ličink/rastlino. Koncentracija suspenzije ogorčic na smrtnost razvojnih stadijev žuželke ni imela vpliva, kar je iz stališča ekonomičnosti rabe omenjenih biotičnih agensov v integriranem kmetijstvu dobro, saj so stroški varstva rastlin povezani s količino uporabljenih EPO. V povezavi s populacijskimi spremembami koloradskega hrošča v našem poskusu smo preučevali tudi vpliv na maso pridelka (slika 2). Ugotovili smo, da med posameznimi obravnavanji z EPO ni bilo razlik. Na pridelek tako tudi ni vplivala različna koncentracija suspenzije ogorčic. Pridelek na parcelah, velikih 20 m<sup>2</sup>, tretiranih z EPO je bil v povprečju 34.71 kg (17.33 t/ha), medtem ko smo pri uporabi insekticida Actara dosegli pridelek 48.75 kg (24.37 t/ha). Na kontrolnih parcelah je bil pridelek najnižji in sicer le 23.12 kg (11.56 t/ha). Ključni dejavnik uspeha zatiranja škodljivih žuželk je tudi pravi čas apliciranja, saj so različni stadiji žuželk, kar smo ugotovili tudi v naši raziskavi, različno dovzetni za infekcijo z EPO.

#### 4 SKLEPI

V naši raziskavi smo ugotovili, da so entomopatogene ogorčice učinkovit biotični agens za zatiranje larvalnih stadijev koloradskega hrošča na krompirju, medtem ko zadovoljivega delovanja nismo zasledili pri jajčecih in odraslih osebkih. Insekticid Actara je deloval najbolje. Koncentracija suspenzije ogorčic ni imela vpliva na smrtnost različnih stadijev koloradskega hrošča. Med posameznimi obravnavanji z EPO ni bilo razlik pri masi krompirja, so se pa obravnavanja razlikovala od kontrole in insekticida Actara. EPO je pri pravilni aplikaciji (nočni termin) in z nekaterimi dodatki (Nu-Film-17) lahko alternativa kemičnim sredstvom v varstvu krompirja pred koloradskim hroščem.

#### 5 ZAHVALA

Za pomoč pri delu na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani se avtorji članka zahvaljujemo asist. dr. Mateju Vidrihu, mag. Filipu Vučajniku, Boštjanu Medvedu in vsem, ki so pomagali pri izkopu ter pobiranju krompirja. Rezultati pričujoče raziskave so nastali v okviru projekta CRP V4-0524, ki ga financirata Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS in Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS ter Programa strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin za leto 2008, ki ga je financiralo Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS – Fitosanitarna uprava RS.

#### 6 LITERATURA

- Armer, C.A., Berry, R.E., Reed, G.L., Jepsen, S.J. 2004. Colorado potato beetle control by application of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis marelata* and potato plant alkaloid manipulation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111: 47-58.
- Berry, R.E. 1998. *Insects and Mites of Economic Importance in the Northwest*, 2nd edn. Oregon State University, Corvallis, Oregon, 221p.
- Burnell A.M., Stock S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts – lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2: 31-42.
- Ferro, D.N., Logan, J.A., Voss, R.H., Elkinton, J. S. 1985. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feeding rates. *Environmental Entomology*, 14: 343-348.
- Forgash, A.J. 1985. Insecticide Resistance in the Colorado potato beetle. *Massachusetts Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, 704: 33-52.
- Forst S., Clarke D. 2002. Bacteria-nematode symbiosis. In: Gaugler R (ed) *Entomopathogenic Nematology*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 57-77.
- Hare, J.D. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35: 81-100.

- Kaya H.K. 1990. Soil ecology. In: Gaugler R and Kaya HK (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, CRC Press, Florida, pp. 93-115.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008a. Entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) recorded for the first time in Slovenia. Acta Agric. Slov., 91, 1: 37-45.
- Laznik, Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008b. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida:Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. Acta Agric. Slov., 91, 2: 351-359.
- Ministry of Agriculture, Food, and Forestry of Republic Slovenia [MAFFa]. 2008: Decision on the change of the status of the exotic agent for biological control (no. 3430-9/2008/5): 2 p. [Slovenian]
- Stewart, J.G., Boiteau, G., Kimpinski, J. 1998. Management of late-season adults of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with entomopathogenic nematodes. Canadian Entomologist, 130: 509-514.
- Toba, H.H., Lindegren, J.E., Turner, J.E., Vail, P.V. 1983. Susceptibility of the Colorado potato beetle and the sugarbeet wireworm to *Steinernema feltiae* and *S. glaseri*. Journal of Nematology, 15, 597-601.
- 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. J. Plant. Dis. Prot., 113: 168-173.
- Trdan S., Vidrih M., Valič N., Laznik Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. Acta Agric. Scand., B Soil Plant. Sci., 58: 169-175.
- Welch, H.E., Briand, L.J. 1961. Tests of the nematode DD136 and an associated bacterium for control of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). The Canadian Entomologist 93, 759-763.
- Whalon, M.E., Miller, D.L., Hollingworth, R.M., Grafius, E.J., Miller, J.R. (1993): Selection of a Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) strain resistant to *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology, 86: 226-233.