

PROJECT

Biologische en chemische bestrijding van de gegroefde
lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) (4102).

INTERN VERSLAG

PROEF

Deelprocessen van de parasitering van larven van de lapsnuitke-
ver (*O. sulcatus*) door nematoden (*Heterorhabditidae*, stam
UK-H-211). De invloed van het larvale stadium van de gegroefde
lapsnuitkever.

Boskoop 1994 (4102-37b).

A.C. Schepman (stagiaire)

PB - Boskoop
Februari 1994

2216934

Nadruk of vertaling, ook van gedeelten, is alleen geoorloofd na schriftelijke toestemming van de directie van het proefstation en de auteur. Het ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, de Stichting Proefstation voor de Boomkwekerij, de Stichting Boomteeltproeftuin voor Noord-Brabant, Limburg en Zeeland (Horst), de Stichting Boomteeltproeftuin "De Boutenburg" (Lienden) en de Stichting Boomteeltproeftuin Noord-Nederland (Noordbroek) stellen zich niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen, ontstaan door het gebruik van de gegevens die in deze uitgave zijn gepubliceerd.

SAMENVATTING

Deelprocessen van de parasitering van larven van de lapsnuitkever (*O. sulcatus*) door nematoden (*Heterorhabditidae*, stam UK-H-211). De invloed van het larvale stadium van de gegroefde lapsnuitkever.

Boskoop 1994.

Intern verslag 4201-37b
A.C. Schepman (stagiaire)

In voorgaand onderzoek boekte de bestrijding in kassen en in containers buiten de grootste successen. Bestrijding in het veld bracht tot nog toe problemen met zich mee. Om de problemen in het veld te overbruggen, is het noodzakelijk meer inzicht te hebben over de invloed van vele factoren op de deelprocessen van de parasitering.

In dit onderzoek werd de invloed van het larvestadium op de parasitering van de larven van de gegroefde lapsnuitkever door insekteparasitaire nematoden bepaald bij 9 en 12°C. De gebruikte nematoden waren van de familie der *Heterorhabditidae*. De getoetste larven waren in het L3, L4 en L5 stadium. De proeven waren echter moeilijk te vergelijken met de praktijksituatie, omdat de gebruikte grond vrij luchtig was, en er geen wortels door gemengd waren. In de proeven lag de mortaliteit als gevolg van de parasitering erg laag (50-65%). Het laatste larvestadium was minder gevoelig dan de twee voorafgaande stadia.

DOEL

Het doel van het onderzoek was het bepalen van de invloed van het larvale stadium van de gegroefde lapsnuitkever op de mate en snelheid van de parasitering door een nematode van de familie der *Heterorhabditi-dae*, stam UK-H-211. Deze invloed werd bij verschillende temperaturen onderzocht.

PROEFOPZET

Opkweek van de larven

De larven zijn opgegroeid in *Astilbe japonica*, die in de collectietuin van Proefstation te Boskoop stonden. Ze waren daar op natuurlijke wijze gekomen. De meeste larven waren in een L3-, L4- of L5-stadium.

Gebruikte grond

De grond was afkomstig uit de proeftuin te Boskoop. Het is een zand-rige veengrond. De grond werd binnen aan de lucht gedroogd, zodat het gezeefd kon worden (doorlaat 0.5 cm). Hierna werd het op een vochtper-centage van ca. 40 vol% gebracht. De grond werd hiervoor in een pla-stic maatbeker van 1 liter gedaan en 3 maal van een hoogte van 10 cm boven een tafeloppervlak losgelaten zodat de dichtheid gestandaardi-seerd was. Deze methode wordt ook gebruikt om de grondichtheid te standaardiseren bij het bepalen van nematodendichtheden. Met behulp van een bodemvochtmeter werd het vol% water bepaald en kon berekend worden hoeveel water er toegevoegd moest worden. Een vochtgehalte van 40 vol% kwam overeen met resp. 49.8% (w/w) water in de grond. Dit werd later met behulp van een droogstoof (24 uur bij 105°C) bepaald.

Opzet

De proef werd uitgevoerd in klimaatkasten van 9 en 12°C, met 2 behan-delingen (met en zonder nematoden, stam UK-H-211), voor 12 larven (herhalingen) en 3 larvale stadia (L3, L4 en L5). De waarnemingen wer-den steeds aan dezelfde 12 larven gedaan. De larven werden pas verwij-derd als ze dood waren. De proef is ingezet op maandag 8 november 1993.

Opstelling

In glazen weefselkweekbuizen (doorsnede 2.2 cm, lengte 15 cm) werd een laag grond van 5 cm, een larve en wat stukjes wortel van *A. japonica* gedaan. De grond werd wat aangestampt door de buizen 3x van een af-standje boven een tafeloppervlak los te laten. De buizen werden eerst op de gewenste proeftemperatuur gebracht (gedurende het weekend) voor de proef ingezet werd.

De nematoden werden toegediend in een dichtheid van 100 nematoden in 0.5 ml water. Aan de controlebehandelingen werd 0.5 ml water toege-diend. De nematoden en het water van de controle werden eerst op proeftemperatuur gebracht.

De buizen werden afgedekt met parafilm tegen uitdroging. Omdat er zo

weinig grond in de buizen zat, was het mogelijk de waarnemingen te doen zonder ze te openen. Door de buizen voorzichtig te schudden kon de larve gemakkelijk gevonden worden en aan beweging, houding en kleur was in de meeste gevallen waar te nemen of de larven nog leefden. Bij twijfel werd de buis wel leeggeschud om de larve te onderzoeken.

WAARNEMINGEN

De proef werd waargenomen op dag 2, 4, 7, 10, 14, 18, 22 en 28 na toevoeging van de nematoden. Dode larven werden afgespoeld en verder behandeld als in proef 2.2. De levende larven werden steeds weer teruggezet.

RESULTATEN EN BESPREKING

De resultaten van deze proef zijn afgebeeld in figuur 1 (A) en (B). De gegevens werden gecorrigeerd voor de controle. De data en de statistische analyses zijn weergegeven in basisinformatie 2.

Aangezien de temperatuursbehandeling in werkelijkheid in enkelvoud plaatsvond, was een gelaagde variantie-analyse noodzakelijk. In de bovenste laag kwam de factor temperatuur, die in feite niet te toetsen was (geen herhalingen). De aanname (temperatuurseffect) werd dus van te voren gemaakt, maar deze kon niet getoetst worden. Omdat de waarnemingen in de tijd aan dezelfde buizen gebeurde, was ook hiervoor een aparte laag nodig. Zo ontstond een analyse in 3 lagen, waarbij alleen het effect van tijd en alle interacties daarmee, ook werkelijk getoetst konden worden.

Bij de eerste analyse zijn in de 2 bovenste lagen de variantie-ratio's en de F-waarden met de hand uitgerekend. Hierbij werd uitgegaan van de restkwadraatsom van de onderste laag. Verwacht mag worden dat de werkelijke restkwadraatsommen in de 2 bovenste lagen hoger zijn dan die in de onderste, omdat daar meer bronnen van variatie tot uiting moeten komen. Hoeveel hoger dit was, kon niet worden nagegaan, omdat er geen herhalingen waren. De berekende significante verschillen zijn hier dus wat overschat, zodat de verschillen minder duidelijk zijn dan ze lijken.

Een aparte analyse zonder L5 stadium is gemaakt om eventuele verschillen aan te tonen tussen de verschillende stadia, omdat het L5 stadium nauwelijks dode larven opleverde. De variatie in de mortaliteit bij het L5 stadium is ook erg laag, omdat er sprake is van een vaste ondergrens (0% mortaliteit). In een variantie-analyse wordt uitgegaan van een gelijke variantie tussen de te toetsen behandelingen. De verschillen tussen L3 en L4 vallen kleiner uit wanneer L5 in de berekeningen wordt betrokken. Dit is te wijten aan de ongelijke varianties van L3 en L4 ten opzichte van die van L5.

Figuur 1: De mortaliteit, gecorrigeerd voor de controle, is uitgezet tegen de tijd voor de 3 larvestadia (L3, L4 en L5) bij 9 (A) en 12^oC (B).

Uit de analyses kwamen de volgende resultaten naar voren. Er was geen temperatuurseffect, wel was er sprake van een effect van de nematoden, m.a.w. er gingen meer larven dood bij de behandelingen met nematoden. Er was geen significant verschil in mortaliteit tussen L3 en L4. Er was interactie tussen temperatuur en alen; bij 9°C heeft toevoeging van alen minder effect dan bij 12°C. Een significant verloop in de tijd, voornamelijk lineair, werd aangetoond. Er was geen sprake van een interactie tussen nematode en het larvale stadium en tussen temperatuur, nematoden en het larvale stadium. Er was wel een interactie tussen nematoden en tijd; met nematoden gaan de larven veel sneller dood dan zonder nematoden.

De andere logische analyse voor dit soort problemen gaat ervan uit dat er sprake was van een binomiale verdeling. Hierbij ging het dan om een regressie-analyse. Een nadeel was, dat er geen analyse in lagen mogelijk was. Bovendien is de interpretatie veel moeilijker. Een voordeel is dat de resultaten worden gegeven in de vorm van kansen en dat er voorspellingen gemaakt konden worden.

De resultaten uit deze analyse waren als volgt. Met nematoden gingen de larven veel sneller dood dan zonder. Bij 12°C zijn de resultaten maar weinig beter dan bij 9°C. De sterfte van het L5 stadium ligt lager dan dat van het L3 en L4 stadium. Wanneer nematoden werden toegevoegd, waren de resultaten bij 12°C iets beter dan bij 9°C. Zonder nematoden was er nauwelijks een verschil. Voor het larvestadium maakt alleen bij L5 de temperatuur een verschil, waarbij 12°C net iets beter was dan 9°C.

Moorhouse (1990) beschreef dat een jong larvaal stadium moeilijker te bestrijden was dan een ouder stadium. Het was niet duidelijk om welke stadia het ging. Een verklaring kan dan zijn, dat zeer jonge stadia (L1 en L2) wel moeilijker te bestrijden zijn dan de L3 en L4 stadia. De L1 en L2 stadia zijn erg klein en eten in verhouding tot L3 en L4 weinig. Hierdoor produceren ze misschien minder lokstof. Qua grootte zijn deze larven misschien ook niet aantrekkelijk genoeg voor de nematoden. Proeven van Van Tol (ongepubliceerd) wijzen er echter op dat larven van het 2^e stadium goed werd bestreden bij temperaturen boven de 12°C.

VOORLOPIGE CONCLUSIE

Het larvestadium is wel van invloed op de gevoeligheid voor *Heterorhabditis*-stam UK-H-211. De stadia L3 en L4 waren vergelijkbaar en gevoeliger dan het L5-stadium van de larven. Een mortaliteit van 65% werd behaald bij 12°C, bij 9°C was dit 60%. Enig temperatuurseffect was niet aan te tonen.

LITERATUUR

Moorhouse, E.R., Charnley, A.K. en Gillespie, A.T. (1992). A review of the biology and the control of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of Applied Biology* 121: 431-454.