

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 verticale bewegingssnelheid en de penetratiesnel-
heid van de nematoden in de larve van de lapsnuitkever.

Boskoop 1994 (4102-37c).

A.C. Schepman (stagiaire)

PB - Boskoop
Februari 1994

2216936

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 verticale bewegingssnelheid en de penetratiesnelheid van de nematoden in de larve van de gegroefde lapsnuitkever.

Boskoop 1994.

Intern verslag 4201-37c
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 verticale bewegingssnelheid van de insekteparasitaire nematoden bepaald bij 9, 12 en/of 15°C. Aan de hand van de resultaten zou de penetratieduur in de proeven (4102-37a), waarin de invloed van de factor afstand op de parasitering bepaald werd, berekend worden. De gebruikte nematoden waren van de familie der *Heterorhabditidae*. De proeven waren moeilijk te vergelijken met de praktijk-situatie, omdat de gebruikte grond vrij luchtig was, en er geen wortels door gemengd waren. De verticale, neerwaardse bewegingssnelheid van de stammen UK-H-211 en NL-H-F85 in veengrond lag rond de 1 cm/dag. Dit gold voor de behandelingen met 24 uur 12°C en 72 uur 15°C. De nematoden van de stam UK-H-211 vertoonden een zoekgedrag, echter zeer minimaal, richting 4 larven van de taxuskever. Deze larven waren onderin een grondkolom van 9 cm geplaatst. Indien 1 larve onderin de kolom was geplaatst, was er geen verschil met de controlebehandeling zonder larve. In vergelijkbare proeven van andere onderzoekers werden hogere snelheden gevonden als er een ander lokdier (*Galleria mellonella*) onder in de kolom werd geplaatst. De penetratieduur kon niet berekend worden. Door de geringe neerwaartse beweging van de nematoden en de geringe mortaliteit in de proeven beschreven in 4102-37a, was dit niet mogelijk.

DOEL

Het doel van het onderzoek was het bepalen van de verticale bewegingssnelheid van nematoden van de familie der *Heterorhabditidae*, stam UK-H-211. Hiermee kon de penetratiesnelheid van proef 4102-37a bepaald worden. De verticale bewegingssnelheid werd bij verschillende temperaturen onderzocht.

PROEFOPZET

Opkweek van de larven

De larven zijn bij 20°C in de kas opgekweekt in potten met *Astilbe japonica*. Hiertoe zijn 50 eieren van de kever per pot toegediend. De meeste larven waren in een L3- of L4-stadium.

Gebruikte grond

De grond was afkomstig uit de proeftuin te Boskoop. Het is een zand-rijge veengrond. De grond werd binnen aan de lucht gedroogd, zodat het gezeefd kon worden (doorlaat 0.5 cm). Hierna werd het op een vochtpercentage van ca. 40 vol% gebracht. De grond werd hiervoor in een plastic maatbeker van 1 liter gedaan en 3 maal van een hoogte van 10 cm boven een tafelloppervlak losgelaten zodat de dichtheid gestandaardiseerd 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. 46.6% (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 bij 9, 12 en 15°C. De proef is in 1 of 2 herhalingen uitgevoerd. De behandelingen zijn in tabel 1 weergegeven. De proeven zijn met de *Heterorhabditis*-stammen UK-H-211 en NL-H-F85 uitgevoerd. De proef is op vrijdag 7, 14 en 21 januari 1994 ingezet voor respectievelijk 7, 24 en 72 uur incubatie.

Tabel 1: De uitgevoerde behandelingen met de incubatietijd (IT) in uren voor de stammen UK-H-211 en NL-H-F85.

Temp.	#larven	Herh.	IT UK-H-211	IT NL-H-F85
9	1	2	7	
9	0	2	7	
12	4	2	24	
12	1	2	7, 24	
12	0	2	7, 24	
15	4	1	72	72
15	0	1	72	72

Opstelling

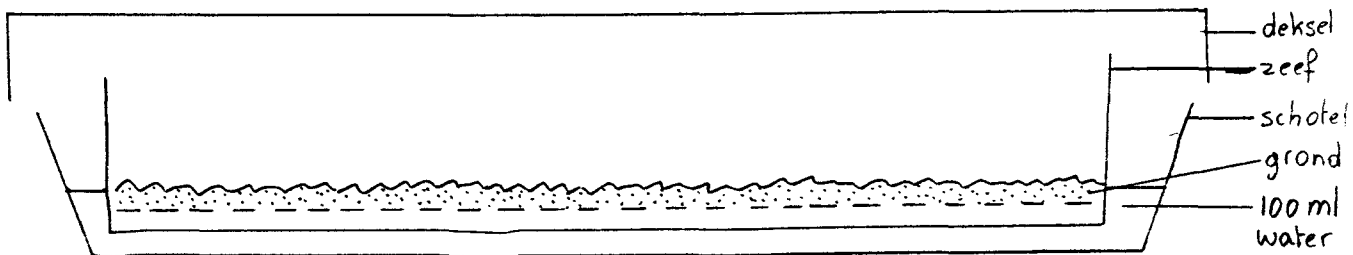
In deze proef werden PVC kokers (9 cm hoog en een binnendoorsnede van 4.3 cm) gebruikt, die in 6 ringen van 1.5 cm hoog verdeeld waren (volgens de methode van Ottenheim, 1988). De onderste ring, die op een plastic petrischaal was geplakt, werd gevuld met grond en wat stukjes wortel van *A. japonica*. Hierin werd, afhankelijk van de behandeling, een larve gedaan. Op deze onderste ring werd een aluminium gaasje (doorlaat 1 mm) gelegd, zodat de larve alleen eronder vrij kon bewegen. Op dit gaasje kwamen de andere 5 ringen, die met plakband aan elkaar geplakt waren. Ook deze werden gevuld met grond. De dichtheid van deze grond werd (op gewichtsbasis) op ongeveer dezelfde als die in de proeven beschreven in 4102-37a gebracht. Op de bovenste ring werd een petrischaal tegen uitdroging aangebracht. De ringen werden tegen elkaar gedrukt door 2 plakbandjes van de bovenste naar de onderste petrischaal te plakken.

Per koker werden 200 nematoden toegediend in 0.5 ml water. De kokers en de nematoden werden gedurende 2 dagen op de gewenste proeftemperatuur gebracht voor de proef werd ingezet.

WAARNEMINGEN

De ringen werden gescheiden na 7, 24 of 72 uur (tabel 2). De grond werd per ring uitgespreid op een zeefje met 2 nematodenfilters. Het zeefje stond op een schotel met 100 ml water (figuur 1). Het geheel was met een deksel afgedekt tegen de verdamping. Omdat nematoden de neiging hebben naar beneden te kruipen, werden ze d.m.v. deze techniek in de schotel met 100 ml water opgevangen.

Na 2 dagen werden de monsters in 100 ml potjes afgetapt. De nematoden bezonken en de bovenste 90 ml werd weggezogen met een hevel. De nematoden werden bij 25x vergroting geteld. *Heterorhabditis* was gemakkelijk te onderscheiden van de andere nematoden, die van nature al in de grond aanwezig waren.



Figuur 1: Een zeefje met 2 filters op een schotel met 100 ml water, afgedekt met een deksel.

RESULTATEN EN BESPREKING

De resultaten van deze proef zijn weergegeven in tabel 3.1. Omdat het steeds om slechts 1 of 2 herhalingen ging, is deze proef slechts een indicatie en kon er geen statistiek op toegepast worden.

De gemiddelde afgelegde afstand (GAA) werd met de volgende formule berekend:

$$\text{GAA} = \{0.75 \times (\text{aantal nematoden in ring 1}) + 2.25 \times (\text{aantal nematoden in ring 2}) + 3.75 \times (\text{aantal nematoden in ring 3}) + 5.25 \times (\text{aantal nematoden in ring 4}) + 6.75 \times (\text{aantal nematoden in ring 5}) + 8.25 \times (\text{aantal nematoden in ring 6})\} / \text{totaal aantal getelde nematoden}$$

waarbij 0.75 t.e.m. 8.25 de gemiddelde diepte (in cm) is van resp. ring 1 tot en met ring 6.

De snelheid lag voor beide nematoden rond de 1 cm/dag. Deze snelheid lag hoger na 7 uur, maar dit heeft met de ringhoogte te maken. Indien 100% van de nematoden na 7 uur in de bovenste ring zat, zou de gemiddelde snelheid $\{(0.75 \times 1.00) / 7\} \times 24 = 2.6$ cm/dag zijn, wat een ondergrens is. Deze ondergrens is 0.75 en 0.25 cm/dag bij respectievelijk 24 en 72 uur incubatie.

Uit de snelheden (S) blijkt dat de nematoden niet of nauwelijks worden beïnvloed door de aanwezigheid van 1 of 4 larven. De percentages geven echter wel een verschil in verdeling weer over de 6 ringen voor de stam UK-H-211 bij 24 uur 12°C en 72 uur 15°C (figuur 2). Bij de controles zijn er voor beide gevallen meer nematoden bovenin gebleven, en de nematoden verspeidden zich over minder ringen. Bij de behandeling met 1 larve onderin lijkt er geen verschil met de controle te zijn. Dit kan een aanwijzing zijn voor een lokking indien er meerdere larve onderin de kolommen werden gelegd.

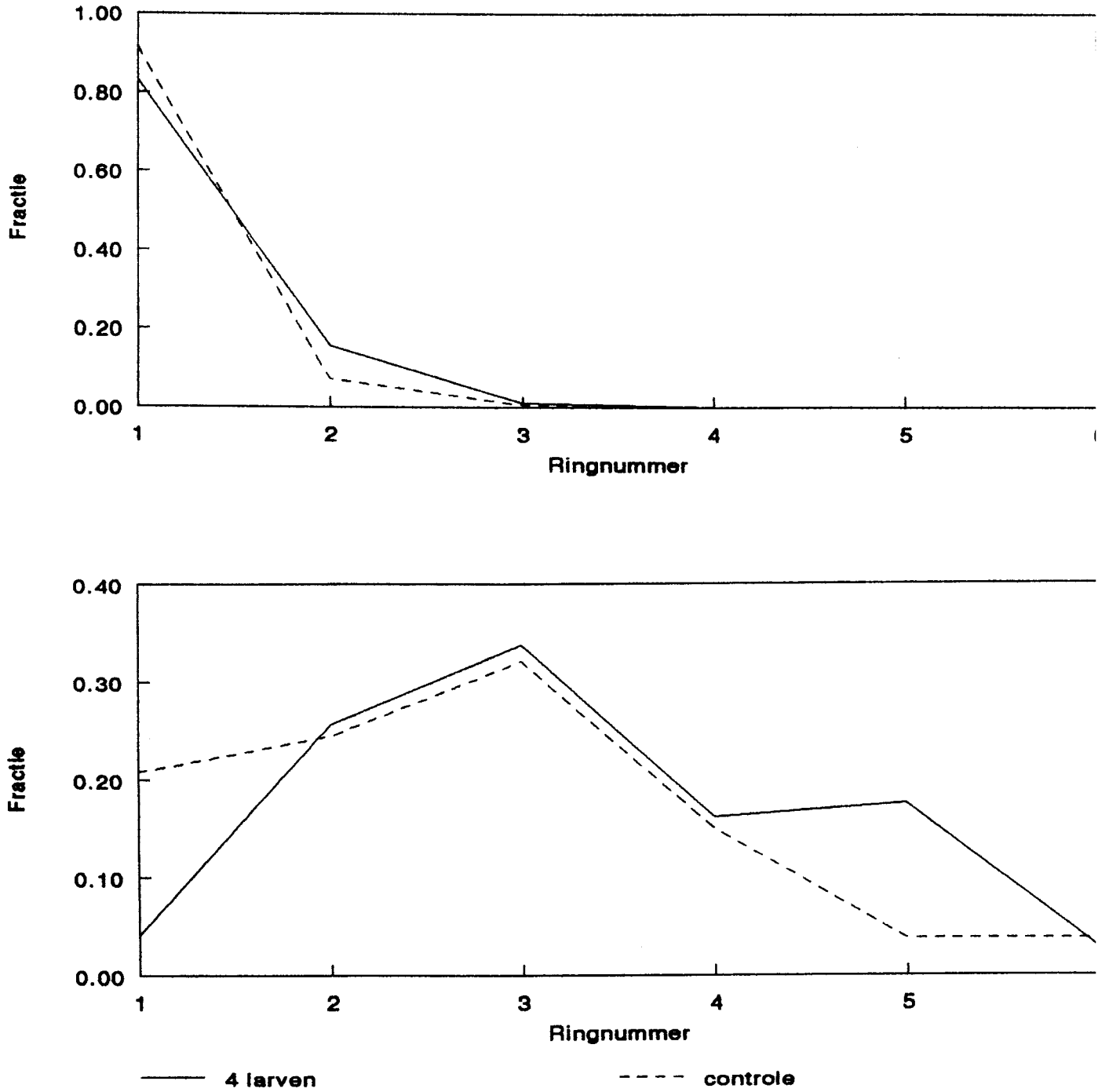
Na 72 uur werd maar 27-37% van de toegevoegde UK-H-211 stam teruggevonden, ten opzichte van 68-73% van NL-H-F85. Dit verschijnsel werd vaker waargenomen, en is waarschijnlijk te wijten aan een rustperiode van de nematoden, indien ze langere tijd geen prikkel tot zoeken ontvangen (Ishibashi en Kondo, 1986; Smits en Wieggers, 1991; Shanks en Aduelo-Silva (1990). De schaaltes van de ringnummers 5 en 6 met NL-H-F 85 konden niet afgetapt worden, omdat het water verdampt was. Aangezien de aantallen bij deze ringen waarschijnlijk niet groot waren (vergelijk met de behandeling met 4 larven) zijn deze ringen weggelaten in verdere berekeningen.

Westerman (1991) vond een verticale bewegingssnelheid voor UK-H-211 en NL-H-F85 van respectievelijk 13.8 en 23.1 cm per dag. Deze hoge snelheid kan veroorzaakt worden door de hogere temperatuur (20°C), het gebruik van zandgrond (die minder luchtig was dan de grond gebruikt in deze proeven) en een ander lokdier (wasmot, *Galleria mellonella*) onderin de kolom. De larven van de wasmot zijn veel groter, dan de larven van de gegroefde lapsnuitkever. Hiermee kan de mate van lokstofproductie in verband gebracht worden. Een grotere larve of meerdere

kleine larven scheiden misschien meer lokstof af dan één kleine larve.

Tabel 2: De verticale beweging van UK-H-211 en NL-H-F85 uitgedrukt in percentage van het totale aantal getelde nematoden gemiddeld over het aantal herhalingen (n). Het percentage van het aantal getelde nematoden ten opzichte van het aantal toegediende nematoden wordt weergegeven met %T. De ringnummers 1 tot en met 6 lopen op in diepte. De gemiddelde afgelegde afstand (GAA) in cm en de snelheid (S) in cm/dag zijn berekend. Vanwege verdroging (v) konden enkele schalen niet meer geteld worden.

Ringnr.		1	2	3	4	5	6	%T	n	GAA	S
UK-H-211											
9°C, 7 u	+1 larve	95.3	4.4	0.0	0.3	0.0	0.0	80	2	0.83	2.8
	contr.	93.5	6.2	0.0	0.0	0.0	0.4	69	2	0.87	3.0
12°C, 7 u	+1 larve	95.1	4.3	0.0	0.3	0.0	0.3	88	2	0.85	2.9
	contr.	93.3	6.0	0.0	0.4	0.4	0.0	71	2	0.88	3.0
12°C, 24 u	+4 larven	83.3	15.6	1.2	0.0	0.0	0.0	129	2	1.02	1.0
	+1 larve	89.1	6.1	0.8	0.0	0.0	0.0	62	2	0.84	0.8
	contr.	91.8	7.3	0.8	0.0	0.0	0.0	92	2	0.88	0.9
15°C, 72 u	+4 larven	4.1	25.7	33.8	16.2	17.6	2.7	37	1	4.14	1.4
	contr.	20.8	24.5	32.1	15.1	3.8	3.8	27	1	3.27	1.1
NL-H-F85											
15°C, 72 u	+4 larven	3.4	44.5	39.7	6.8	5.5	0.0	68	1	3.24	1.1
	contr.	0.0	46.3	42.6	11.0	v	v	73	1	3.22	1.1



Figuur 2: Verdeling van de nematoden (stam UK-H-211) over de 6 ringen na 24 uur 12°C (A) en na 72 uur 15°C (B).

VOORLOPIGE CONCLUSIE

De vertikale, neerwaartse bewegingssnelheid van de nematoden in veengrond (op veldcapaciteit) was ongeveer 1 cm per dag. Het leek of de nematoden niet werden beïnvloed door de aanwezigheid van 1 larve van de taxuskever onderin de kolommen. Indien 4 larven onderin lagen, leken de nematoden over een grotere diepte verspreid te zijn dan bij geen of 1 larve het geval was.

De penetratieduur was niet te bepalen vanwege de geringe verticale verplaatsing en vanwege de lage mortaliteit in de proeven betreffende de verticale afstand. Indien een sigmoïde curve (als mortaliteit tegen de tijd is uitgezet) was verkregen was dit wel mogelijk geweest.

LITERATUUR

Ottenheim, J. (1988). Bestrijding van scarabaeïde larven met insekte parasitaire nematoden. IPO, Wageningen.

Westerman, P.R. (1991). Comparison of migration and host searching ability of various *Heterorhabdit*-species and isolates in sand columns. IOBC/WPRS Bull 14: 32-35.