

archief

PROJECT

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

INTERN VERSLAG

PROEF

Bestrijding larve lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) in
potten in klimaatcellen.
Boskoop 1993 (4102-22).

ir. R.W.H.M. van Tol

PROEFSTATION VOOR DE BOOMKWEKERIJ - BOSKOOP
februari 1994

22. 6. 1994

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

Bestrijding larve lapsnuitkever in potten in klimaatcellen - 1993
Boskoop 1994.

Intern verslag 4102-22

ir. R.W.H.M. van Tol

In voorgaande proeven in de klimaatcellen is aangetoond voor enkele aaltjesstammen dat ze bij lage temperatuur in staat zijn om binnen korte tijd de larven te doden. In deze proeven werd een simulatie van het temperatuurverloop in het najaar buiten in de bodem nagebootst. De temperatuurgrens waaronder de aaltjes hun werk niet meer goed konden doen in potjes lag rond de 12°C. Het doel van deze proef is het bepalen van de temperatuursom voor de optimale werking van twee stammen van het insekteparasitaire aaltje *Heterorhabditis* sp. tegen de larve van de gegroefde lapsnuitkever. Deze proef in combinatie met de diverse buitenproeven in potjes en de vollegrond geeft uiteindelijk de mogelijkheid om een voorspelling te doen t.a.v. risico's die een kweker loopt bij een late toepassing van aaltjes. Als de resultaten van een klimaatcelproef vertaalbaar zijn naar het resultaat in de praktijk is het mogelijk om snel nieuwe aaltjesstammen te screenen voor de praktijk.

In deze proef komen veel ongerijmdheden voor. Daarom is het niet mogelijk om uit deze proef harde conclusies te trekken. Er zijn wel enkele algemene conclusies te geven naar aanleiding van deze proef, nml.:

1 - De symbiont (*Photorhabdus*) van de twee *Heterorhabditis*-stammen, UK-H-211 en N1-H-F85, is eenmaal in de larve binnengekomen via het aaltje in staat om bij 9°C de larve te doden. Dit maakt het aannemelijk dat de aaltjes zelf de beperkende factor zijn voor een geslaagde infectie bij deze temperatuur.

2 - Om in het vervolg de natuurlijke mortaliteit laag te houden is het van belang om eerder (jonger larvestadium) de behandelingen met aaltjes uit te voeren.

DOEL

Het bepalen van de temperatuursom voor de optimale werking van twee stammen van het insekteparasitaire aaltje *Heterorhabditis* sp. in de bestrijding van de larve van de gegroefde lapsnuitkever in potten. Dit gebeurt in drie klimaatcellen bij acht verschillende temperatuurregimes.

Bij de bestrijding wordt de werking bepaald van twee aaltjespopulaties die bij lagere temperaturen actief zijn (*Nemasys* H (UK-H-211), Optimaaltje (HF85)).

PROEFOPZET

Er zijn drie behandelingen bij acht verschillende temperatuurregimes uitgevoerd. Deze temperatuurregimes zijn:

- 1) continu 9°C (5 weken)
- 2) 3 uur 12°C daarna 5 weken 9°C
- 3) 3 uur 12°C, 1 week 9°C, 3 uur 9°C daarna 4 weken 9°C
- 4) 6 uur 12°C daarna 5 weken 9°C
- 5) continu 12°C (5 weken)
- 6) 6 uur 12°C daarna proef oogsten
- 7) 6 uur 12°C, 24 uur 9°C daarna proef oogsten
- 8) 6 uur 12°C, 7 dagen 9°C daarna proef oogsten

De behandelingen werden in viervoud uitgevoerd met vier planten per herhaling. De uitgevoerde behandelingen en doseringen staan vermeld in tabel 1.

Tabel 1 Behandelingen en doseringen

Behandeling	Werkzame stof	Dosering
A. Onbehandeld		
B. <i>Nemasys</i> H	<i>Heterorhabditis</i> sp. (HUK211)	15.000/pot
C. Groene Vlieg/ Koppert	<i>Heterorhabditis</i> sp. (HF85)	15.000/pot

De planten werden éénmaal geïnoculeerd met 30 eitjes per plant. Dit gebeurde op 21 september 1993. De behandelingen B en C zijn op 2 december 1993 uitgevoerd (zie basisinformatie 1).

De proef is uitgevoerd met 384 *Waldsteinia ternata* planten. Alle planten waren proefplanten. In maart 1992 zijn 400 *Waldsteinia ternata* planten opgepot in 1 liter potten. In september 1993 zijn de planten volgens schema (zie basisinformatie 1) weggezet in de klimaatcellen. De geïnoculeerde planten hebben daarna tot 2 december 1993 bij 20°C in de klimaatcellen gestaan. Daarna zijn de klimaatcellen op de juiste temperatuur gebracht (zie schema basisinfo 1) en de aaltjes toegevoegd. Belichting, relatieve luchtvochtigheid en de temperatuur werden voortdurend gecontroleerd en constant gehouden. De planten stonden op roosters zodat de larven niet konden migreren en de vochtigheid van de potkult goed geregeld kon worden.

WAARNEMINGEN

De planten werden tussen 5 en 7 januari 1994 geoogst. Alleen behandeling 6, 7 en 8 werden resp. na 6 uur, 24 uur en 7 dagen geoogst. De grond van elke proefplant werd doorzocht op aanwezigheid van larven van de lapsnuitkever. Per plant werd het aantal gevonden larven genoteerd. De gevonden larven werden direct na het uitgraven gespoeld met water en uitgelegd in een petrischaal met vochtig filtreerpapier gedurende 1 week bij 20°C. Daarna werden de dode larven via dissectie beoordeeld op de aanwezigheid van Heterorhabditis-aaltjes. Alle gegevens over temperatuurverloop en infectie staan in basisinformatie 2 weergegeven.

RESULTATEN EN BESPREKING

In tabel 2 en 3 staat een samenvatting van de resultaten. Het aantal larven is een gemiddelde van 4 parallelen en is weergegeven per plant. De resultaten zijn statistisch verwerkt (zie basisinformatie 3). Het resultaat van deze verwerking is in de tabel opgenomen. Voor de analyse van het aantal larven was het noodzakelijk een transformatie op de waarden toe te passen. In dit geval is gekozen voor de wortel-transformatie.

Tabel 2 - Gemiddeld aantal larven per plant (n=4).

Beh.	9°C*	3u.12°C*	2x3u.12°C*	6u.12°C*	12°C*	6u.12°C* 0 dagen	6u.12°C* 1 dag	6u.12°C* 7 dagen
A	4,4a	4,4a	4,4b	4,4b	4,0a	6,4a	6,4a	12,9a
B	1,4b	4,3a	8,3a	8,1a	2,1a	4,4ab@	2,0b	4,6b
C	2,5a@	5,2a	5,9ab	9,1a	2,6a	3,1b	3,1b	7,6b

* De getallen in één kolom gevolgd door dezelfde letter zijn significant niet verschillend met een betrouwbaarheid van 95 %.

9°C= continu 9°C (5 weken)

3u.12°C= 3 uur 12°C daarna 5 weken 9°C

2x3u.12°C= 3 uur 12°C, 1 week 9°C, 3 uur 9°C daarna 4 weken 9°C

6u.12°C= 6 uur 12°C daarna 5 weken 9°C

12°C= continu 12°C (5 weken)

6u.12°C,0dagen= 6 uur 12°C daarna proef oogsten

6u.12°C,1dag= 6 uur 12°C, 24 uur 9°C daarna proef oogsten

6u.12°C,7dagen= 6 uur 12°C, 7 dagen 9°C daarna proef oogsten

@ Deze getallen verschillen met 90% betrouwbaarheid van behandeling A (onbehandeld).

Tabel 2 - Gemiddeld percentage geïnfecteerde larven gevonden (n=4)

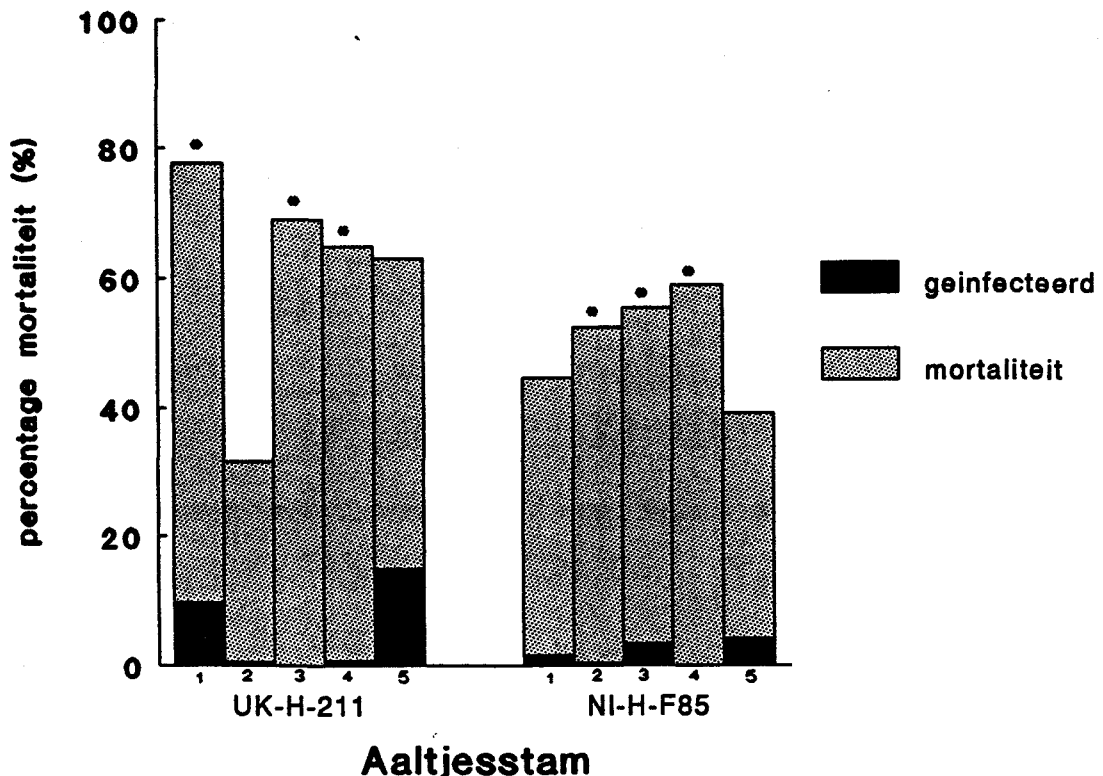
Beh.	9°C*	3u.12°C*	2x3u.12°C*	6u.12°C*	12°C*	6u.12°C* 0 dagen	6u.12°C* 1 dag	6u.12°C* 7 dagen
A	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a
B	9,7b	13,1b	3,3b	1,9a	15,0b	0,6a	0,0a	0,8a
C	1,6a	1,3a	2,1ab	1,3a	4,2a	0,4a	3,4a	0,0a

* De getallen in één kolom gevolgd door dezelfde letter zijn significant niet verschillend met een betrouwbaarheid van 95 %.

@ Deze getallen verschillen met 90% betrouwbaarheid van behandeling A (onbehandeld).

De resultaten zijn in deze proef niet eenduidig. Oorzaak is zeer waarschijnlijk de slechte toestand van de planten in combinatie met de variatie in aantal uitgekomen eieren van de kever. De behandelingen met aaltjes en een temperatuurschok van 1x 6uur 12°C en 2x 3uur 12°C hebben zelfs significant meer larven dan onbehandeld! Deze twee behandelingen zijn dus niet zinvol om verder te bestuderen. Dit kan geen behandelingseffect van de aaltjes zijn. De behandeling met 1x 3uur 12°C geeft eveneens geen significante bestrijding. Aangezien er in de behandeling continu 9°C wel een behandelingseffect van de aaltjes wordt gevonden is dit effect dus ook niet logisch verklaarbaar. Op z'n minst had hier hetzelfde effect gevonden moeten worden als bij 9°C continu. Bij 12°C continu vinden we weliswaar een reductie van het aantal larven na toevoeging van aaltjes maar de natuurlijke sterfte in combinatie met de extra grote variatie per plant geeft hier het effect wat we al vaker zijn tegengekomen, nml. geen statistisch betrouwbare verschillen. De overige behandelingen geven wel schijnbare resultaten. In onderstaande figuur zijn zowel de percentages uit tabel 1 als tabel 2 weergegeven in één plaatje voor de de behandelingen waar mogelijk verklaarbare resultaten uitkomen.

Figuur 1 - Percentage reductie (■) van het aantal larven t.o.v. de behandeling zonder aaltjes en percentage teruggevonden en geïnfecteerde larven (■) per behandeling.
1-9°C; 2-6uur12°C, 0 dagen; 3-6uur12°C, 1 dag; 4-6uur12°C, 7 dagen; 5-12°C (zie legenda onder tabel 1).



* significante mortaliteit

Wat opvalt in deze figuur dat er duidelijk significante mortaliteit is in de diverse behandelingen a.g.v. toevoeging aaltjes maar dat het percentage teruggevonden geïnfecteerde larven veel lager ligt. Voor behandeling 1, 4 en 5 is het nog redelijk om aan te nemen dat eenmaal geïnfecteerde larven versneld sterven en wegrotten waardoor ze na 5 weken niet meer worden teruggevonden. Voor behandeling 2 en 3 is dat niet mogelijk omdat deze twee behandelingen resp. 6 uur en 24 uur na het toevoegen van de aaltjes worden geoogst! Vraag is dus hoe het kan dat er wel significant minder larven worden aangetroffen dan in onbehandeld terwijl het infectiepercentage onder de teruggevonden larven zo laag is?

In behandeling 5 (continu 12°C) is geen significante mortaliteit gevonden en het aantal larven teruggevonden dat geïnfecteerd was lag ook extreem laag. In deze behandeling is het waarschijnlijk dat een groot deel van de larven al uit elkaar zijn gevallen. De larven die in deze behandeling werden teruggevonden en geïnfecteerd waren bevatten meestal enkele honderden aaltjes en stonden op het punt om uit elkaar te vallen. In de andere behandelingen daarentegen werd doorgaans slechts één tot zes aaltjes per larve gevonden zodat er nog geen voortplanting van de aaltjes in de larve is voltrokken en de larven daardoor nog niet uit elkaar kunnen vallen. Het is wel mogelijk dat geïnfecteerde larven bij lage temperatuur verrotten door secundaire infecties ontstaan via de penetratiewonden of meegekomen met de binnengedrongen aaltjes. De aaltjes zijn dan dus niet in staat om hun levenscyclus te voltooien maar zijn wel de verantwoordelijke factor voor de sterfte van de larven bij lage temperatuur.

De dode, geïnfecteerde larven die bij de behandeling 1 (continu 9°C) werden opengesneden waren in alle gevallen kenmerkend verslijmd door de werking van de symbiont. Doorgaans werd hier één aaltje in aangetroffen. De bacterie kan dus bij deze temperatuur zijn dodelijke werk wel doen en is dus niet de beperkende factor voor het uitschakelen van de larven bij deze lage temperatuur.

VOORLOPIGE CONCLUSIE

In deze proef komen veel ongerijmdheden voor. Daarom is het niet mogelijk om uit deze proef harde conclusies te trekken. Er zijn wel enkele algemene conclusies te geven naar aanleiding van deze proef, nml.:

1 - De symbiont van deze twee *Heterorhabditis*-stammen (*Photorhabdus*) is eenmaal in de larve binnengekomen via het aaltje in staat om bij 9°C de larve te doden. Dit maakt het aannemelijk dat de aaltjes zelf de beperkende factor zijn voor een geslaagde infectie bij deze temperatuur.

2 - Om in het vervolg de natuurlijke mortaliteit laag te houden is het van belang om eerder (jonger larvestadium) de behandelingen met aaltjes uit te voeren.