

archief

PROJECT

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

INTERN VERSLAG

PROEF

Onderzoek naar de invloed van de aanwezigheid van wortels op de parasiteringssnelheid van larven door insekteparasitaire nematoden (*Nemasys H*)
Boskoop 1994 4102-36

P.M.T. Verbij (stagiaire)

R.W.H.M. van Tol

4102-36

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

Onderzoek naar de invloed van wortels bij het bestrijden van de larven met behulp van insekteparasitaire nematoden.

Boskoop 1994

Intern verslag proefnummer(s) 4102-36

P.M.T. Verbij (stagiaire)

R.W.H.M. van Tol

De larve van de gegroefde lapsnuitkever kan veel schade aanrichten in de boomkwekerij. Een goed alternatief voor chemische bestrijding is de bestrijding met het insekteparasitaire aaltje *Heterorhabditis*. Een nadeel hierbij is dat ze alleen werken bij een temperatuur van 12-15°C of meer. Omdat de larve zich vanaf juli tot en met maart ontwikkelt is deze methode alleen buiten toepasbaar in het voorjaar of najaar als de bodemtemperatuur hoog genoeg is, of in de kas. In de kas zijn de laatste jaren goede resultaten behaald.

Vorig jaar (jan. 1994) is er door een stagiaire onderzoek gedaan naar de invloed van de verticale afstand tussen de larve en de nematode op de parasitering. Uit de proeven kwam naar voren dat een verticale afstand tussen larve en nematode, alsmede tijd en temperatuur geen invloed hebben op de mate en snelheid van de parasitering. De resultaten van de proef waren in tegenspraak met de praktijksituatie. Natuurlijke bodemstructuur; poriën, scheuren en wortels waren afwezig (in de experimenten van de stagiaire). Het kan zijn dat de nematoden hiervan gebruik maken bij het zoekproces naar de larve. Hier komt het idee vandaan dat de nematoden de wortels zouden gebruiken om zo sneller een larve te vinden.

Er is een proef opgezet bij 12°C en 15°C waarbij de invloed van de aanwezigheid van wortels op de parasiteringssnelheid van de larven door de insekteparasitaire aaltjes wordt getest. De proef is uitgevoerd in plastic vouwdozen, 240 dozen worden gevuld met veen waarvan er 120 met een plant (*Waldsteinia ternata*) en 120 zonder plant (braak). Er zijn 2 behandelingen met aaltjes die 40 keer herhaald worden, en 2 controle's die 20 keer herhaald worden. Deze behandelingen worden bij 12 en 15°C uitgevoerd. De larven worden de eerste 6 keer om de 3 à 4 dagen bekeken of ze geparasiteerd zijn, daarna zit er een langere tijd tussen.

Uit de proef is gebleken dat alleen bij de behandeling 15°C plant + aaltjes het % overleving significant lager is dan bij de behandeling 15°C braak + aaltjes. De aanwezigheid van een plant in combinatie met aaltjes heeft hier dus effect op de overlevingsduur van de larven. Aaltjes hebben de wortels van de plant nodig om zich te verplaatsen in de grond en aldus de larven te vinden. Bij de behandelingen zonder plant werd geen enkele larve geïnfecteerd.

DOEL

Nagaan of de insekteparasitaire aaltjes via de wortels naar beneden gaan om sneller larven te vinden.

PROEFOPZET

Er werd gebruik gemaakt van plastic vouwdozen van 4x4x20 cm. Deze werden gevuld met een laagje potgrond van ongeveer 1 à 2 cm, hierboven werd een aluminium gaasje van 4x4 cm gedaan. De 240 buizen werden aangevuld tot 17 cm hoogte, met potgrond. Waarvan er 120 met een plantestek (*Waldsteinia ternata*) en 120 buizen zonder plant (braak).

Kas: 18°C stoken, 20°C luchten

Ruimte: 2 klimaatkasten, 12°C en 15°C.

Behandelingen:

Er waren 2 behandelingen die 40 keer herhaald werden. Hierbij zijn 2 controles die 20 keer herhaald werden. Deze behandelingen zijn bij 12°C en 15°C uitgevoerd.

12°C

- 60 met plant	- 40 + aaltjes
	- 20 - aaltjes (controle)
- 60 zonder plant (braak)	- 40 + aaltjes
	- 20 - aaltjes (controle)

15°C

- 60 met plant	- 40 + aaltjes
	- 20 - aaltjes (controle)
- 60 zonder plant (braak)	- 40 + aaltjes
	- 20 - aaltjes (controle)

Data:

larven in buizen doen	18-11-1994
aaltjes toedienen	(t=0): 23-11
1° waarneming	(t=2): 25-11
2° waarneming	(t=6): 29-11
3° waarneming	(t=9): 02-12
4° waarneming	(t=13): 06-12
5° waarneming	(t=16): 09-12
6° waarneming	(t=21): 14-12
7° waarneming	(t=28): 21-12

Werkwijze:

De buizen werden gevuld met een laagje potgrond van ongeveer 1 à 2 cm, hierop werd een aluminium gaasje van 4x4 cm gedaan. De buis werd helemaal aangevuld met grond en vervolgens 3 keer van een afstand van ongeveer 10 cm boven een tafeloppervlak losgelaten zodat alle buizen ongeveer dezelfde dichtheid hadden. De buis werd verder aangevuld tot 3 cm van de rand. Er werden 120 buizen gevuld zonder plant en 120 met plant (*Waldsteinia ternata*). De buizen werden in bakken gezet die aan de onderkant gaatjes hadden zodat bij het watergeven geen water in de buizen bleef staan. De buizen werden ongeveer een maand in de kas gezet bij 18°C waar ze regelmatig water kregen en de wortels goed konden groeien. Hierna werden de larven onderin de buis, onder het gaasje gestopt. En er werd een elastiekje strak om de buis gedaan zodat er geen ruimte was tussen de wand van de buis en het gaasje, omdat anders de larve hierlangs omhoog kon ontsnappen. De buizen werden een dag van tevoren in een dichte bak in klimaatkasten gezet bij 12°C en bij 15°C om op temperatuur te komen. Na één dag werden de aaltjes bovenin de buis toegevoegd, in de standaard hoeveelheid van 100 aaltjes per cm² in 1 ml water, de controlebehandeling kreeg 1 ml water zonder aaltjes.

Bij waarnemingen werden de larven uit de buizen gehaald en er werd gekeken of ze geparasiteerd waren. Als dit niet het geval was dan werd deze weer teruggestopt en als de larve wel geparasiteerd was dan werd deze onder de binoculair opengesneden en het aantal aaltjes geteld.

WAARNEMINGEN

Bij de 1° waarneming bleken er zo'n 19 larven dood te zijn en 8 zijn er boven het gaasje gekropen. De larven die geïnfecteerd waren bevatten andere aaltjes dan dat er toegediend waren. Dit waren geen parasitaire aaltjes maar aaseters. Deze aaltjes komen van nature al in de grond voor. Een aantal van de dode larven werden vervangen door nieuwe omdat het waarschijnlijk 'zwakke' larven waren.

Bij de 2° waarneming waren er bij de behandeling 15°C plant + aaltjes 8 geïnfecteerde larven gevonden en bij de behandeling 12°C plant + aaltjes maar één.

Bij de 3° waarneming bleek dat er larven uit de buis konden ontsnappen, in elke bak waren ongeveer 3 of 4 larven ontsnapt omdat de buizen aan de onderkant niet meer goed afsloten. Dit is getracht te verhelpen door het elastiek schuin over de buis te spannen. Om teveel uitdrogen van de grond te voorkomen werd er 7 ml water bovenin elke buis toegevoegd. Dit moest wel heel voorzichtig gebeuren omdat het water meteen door de grond opgenomen moest worden want als het langs de plastic wand omlaag zou glijden dan konden er aaltjes meegenomen worden.

Bij de 5° waarneming werd er weer voorzichtig 7 ml water toegevoegd. Ook werd er grond over een filter gegoten om te kijken of er nog aaltjes in zaten, en waar ze zich ongeveer bevinden. Hiervoor was grond genomen dat onder het gaasje zat en boven het gaasje werd een monster genomen van de buis met de behandeling: 15°C braak + aaltjes. De grond werd vermengd met water en heeft daarna een tijdje stilgestaan om te bezinken. Dit werd over een filter gegoten en gedurende 3 dagen geïncubeerd.

Bij de 6^e waarneming werd er weer grond over een filter gegoten, nu van de buis met de behandeling: 12°C plant + aaltjes, hiervan is grond genomen:

- alles onder het gaasje (1)
- net boven het gaasje (2)
- in het midden van de buis (3)
- bovenin de buis (4)

Een dag later (15-12) werd het vochtigheids % gemeten van een aantal willekeurige buizen om een beeld te krijgen van de verschillen tussen de behandelingen.

RESULTATEN EN BESPREKING

Bij de behandeling 15°C braak + aaltjes zijn geen aaltjes teruggevonden.

Bij de behandeling 12°C plant + aaltjes zijn er wel aaltjes gevonden.

(1) gemiddeld	40 aaltjes / 100 ml water
(2) "	400 " "
(3) "	545 " "
(4) "	824 " "

Voor de betekenis van de nummers 1 t/m 4 zie bovenaan de pagina.

vochtigheids%: 15-12-1994

15°C plant	43.3 / 19.8 / 31.4 / 41.0	gem. : 33.9
15°C braak	24.5 / 25.0 / 26.6 / 19.6 / 29.0	gem. : 24.9
12°C plant	39.9 / 23.0 / 36.5 / 39.3	gem. : 34.7
12°C braak	38.7 / 40.2 / 40.3 / 42.4	gem. : 40.4

Hiervan is te zien dat 15°C braak het laagste vochtigheids% heeft en 12°C braak het hoogste vochtigheids% heeft, de andere twee zijn gelijk.

Aan het aantal aaltjes die zijn teruggevonden bij de behandeling 12°C plant + aaltjes, kan men zien dat de meeste aaltjes zich boven het gaasje bevinden. Maar toch zijn er nog 40 aaltjes gevonden onder het gaasje, dit moeten er genoeg zijn om de larve te parasiteren. Bij de behandeling 15°C braak + aaltjes zijn geen aaltjes teruggevonden. Een reden hiervoor kan zijn dat de aaltjes gedurende de proef in de bovenste laag van de grond bleven, welke sneller uitdroogde dan dieper in de buis.

Tijdens het waarnemen van de larven is gebleken dat er de eerste 2 dagen nog geen infectie optreedt, de eerste infecties worden pas gevonden na 6 dagen. Ze kunnen dan ook op dag 2,3,4 en 5 geïnfecteerd zijn, omdat ze niet meteen dood gaan als ze geïnfecteerd zijn. De laatste infecties zijn waargenomen op dag 21.

Tabel 2: Het totaal aantal dode larven (mortaliteit), geïnfecteerde larven, het aantal overlevenden en het % overleving 21 dagen na toedienen van de aaltjes bij de verschillende behandelingen.

behandeling	mortaliteit	geïnfecteerde	overlevenden	% overlevenden
12°C braak - aaltjes	6	0	14	70.0
12°C plant - aaltjes	6	0	14	70.0
15°C braak - aaltjes	11	0	9	45.0
15°C plant - aaltjes	9	0	11	55.0
12°C braak + aaltjes	12	0	28	70.0
12°C plant + aaltjes	14	6	26	65.0
15°C braak + aaltjes	11	0	29	72.5
15°C plant + aaltjes	26	13	14	35.0

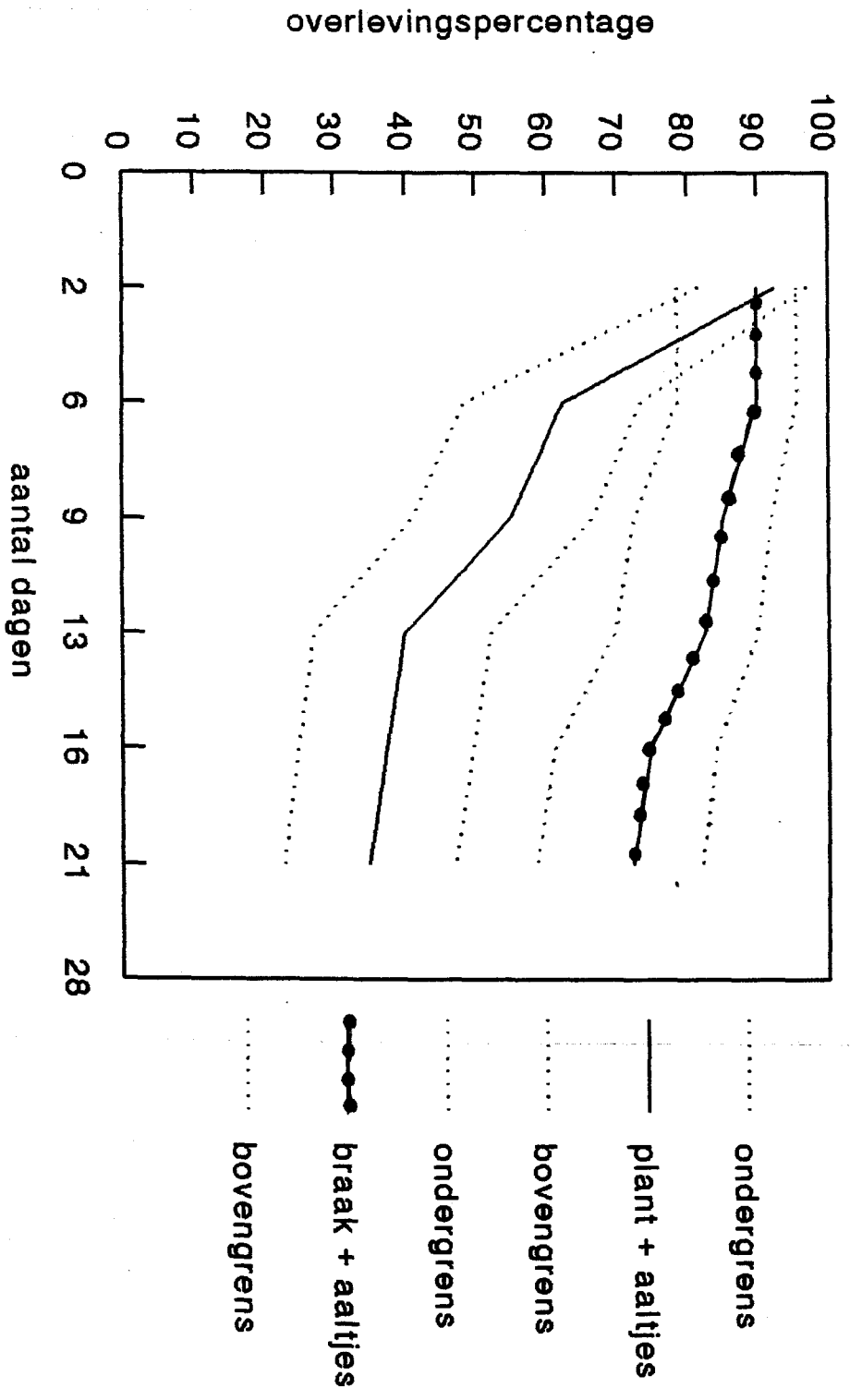
Als er bij 21 dagen na het toedienen van de aaltjes de verschillende behandelingen met elkaar vergeleken worden (zie tabel 2), is te zien dat bij 15°C plant + aaltjes (35.0 %) het percentage overleving duidelijk lager is dan bij de overige behandelingen. Ook is in de tabel te zien dat bij 15°C het percentage overleving gemiddeld lager is dan bij 12°C.

Van de resultaten zijn van elk van de behandelingscombinaties Kaplan-Meier overlevingsduurcurven berekend. Deze Kaplan-Meier-schatting stelt de kans voor dat een larve op het bijbehorende tijdstip nog in leven is.

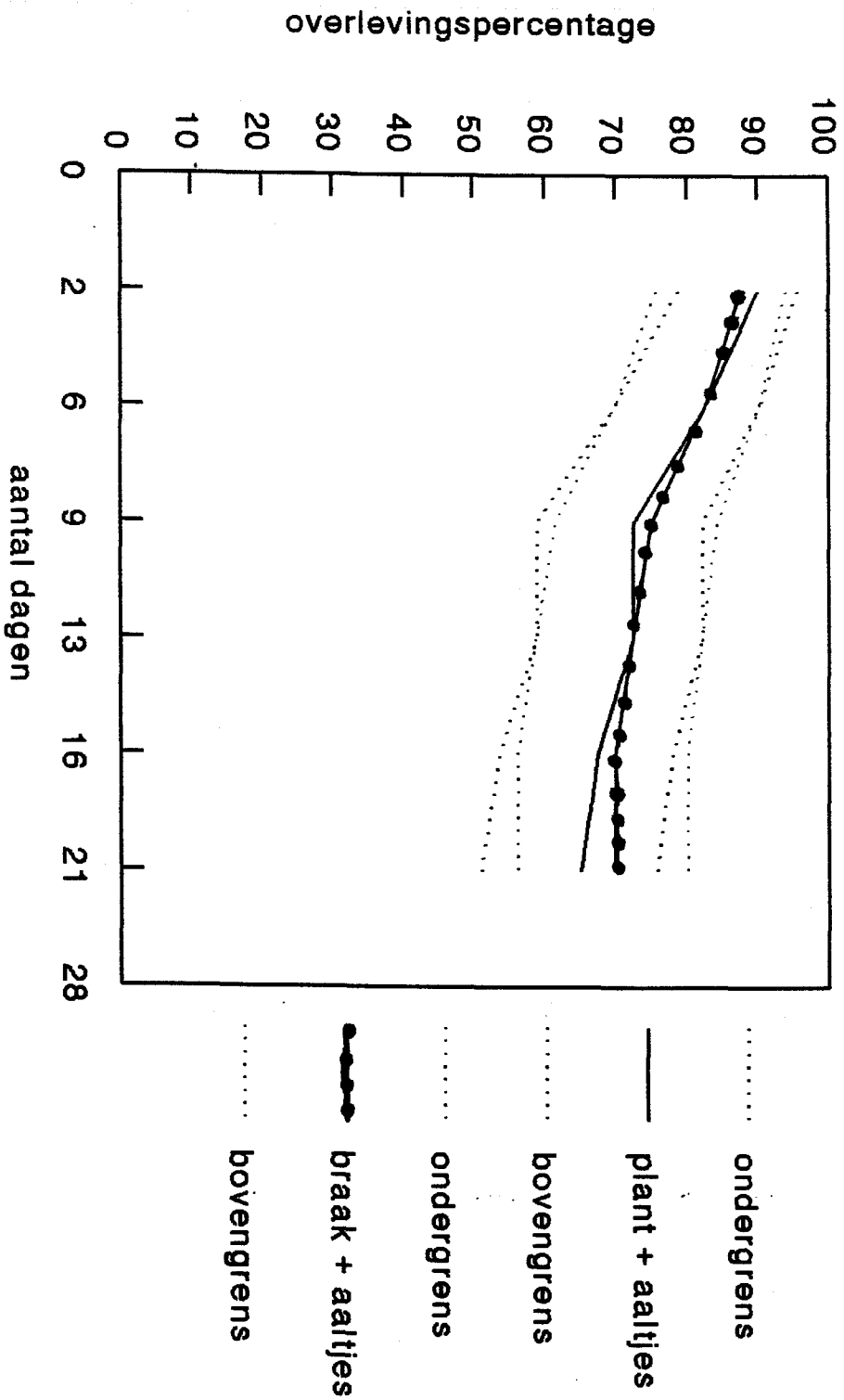
Het is erg moeilijk om iets over deze resultaten te zeggen omdat in de systematiek de infectie moeilijk te scheiden is van de natuurlijke mortaliteit. De natuurlijke mortaliteit is in deze proef erg hoog. Daarom zijn de verschillen tussen de behandelingen niet duidelijk te zien. Tevens is het ook zo dat wanneer larven op een natuurlijke wijze dood gaan ze op hetzelfde moment geïnfecteerd kunnen worden, en dit is niet te achterhalen. Je hebt dus een interactie tussen deze twee, waarvan niet bekend is hoe groot deel elkaar overlapt. Om deze reden is er bij de berekeningen van de resultaten geen rekening gehouden met het aantal geparasiteerde larven. Er is alleen gekeken naar het totale aantal dode larven.

Het % overleving van de behandelingen met aaltjes is uitgezet in een grafiek (zie bladzijde 26 en 27), met bijbehorende boven- en ondergrenzen behorend bij een 2-zijdig 95%-betrouwbaarheidsinterval. Er is te zien dat bij de behandeling 15°C plant + aaltjes het % overleving significant lager is dan de behandeling 15°C braak + aaltjes. De aanwezigheid van de plant in combinatie met aaltjes heeft effect op de overlevingsduur van de larven. Bij 12°C is er geen verschil tussen de behandelingen met of zonder plant.

percentage overlevenden 15 C plant + aaltjes, braak + aaltjes



percentage overlevenden 12 C plant + aaltjes, braak + aaltjes



ARCHIEFNUMMERS BEELDMATERIAAL:**VOORLOPIGE CONCLUSIE**

Omdat de natuurlijke mortaliteit in deze proef erg hoog is, zijn er geen duidelijke verschillen tussen de behandelingen te zien. Alleen bij 15°C bij de behandeling plant + aaltjes is te zien dat het % overleving significant lager is dan bij de behandeling braak + aaltjes. De aanwezigheid van de plant, in combinatie met aaltjes heeft hier effect op de overlevingsduur van de larven. Aaltjes hebben wortels van planten nodig om zich te verplaatsen in de grond en zo de larven te vinden. Bij de behandelingen zonder plant werd geen enkele larve geïnfecteerd.

Het is raadzaam om deze proef nog een keer te herhalen. Voor zo'n vervolgonderzoek is het belangrijk dat de verschillende behandelingen over meerdere klimaatkasten verspreid worden, omdat deze kasten afwijkingen kunnen hebben.