

PROJECT

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

INTERN VERSLAG

PROEF

Biologische bestrijding larven lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) m.b.v. het insecteparasitaire schimmelpreparaat *Metarhizium anisopliae*\* (BIO 1020\*) bij verschillende temperaturen onder laboratorium omstandigheden. Boskoop 1992 (4102-9a).

M.J.M. Hubers (stagiair)

Proefstation voor de boomkwekerij (Boskoop)  
Mei 1992

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

Biologische bestrijding larven gegroefde lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) m.b.v. het insecteparasitaire schimmelpreparaat *Metarhizium anisopliae*\* (BIO 1020\*) bij verschillende temperaturen onder laboratorium omstandigheden.

Boskoop, 1992.

Intern verslag (4102-9a)

M.J.M. Hubers (stagiair)

In de boomkwekerij is voor de chemische bestrijding van de gegroefde lapsnuitkever alleen nog carbofuran toegelaten. Als biologische bestrijding kunnen insecteparasitaire aaltjes (*Heterorhabditis* spp.) een goed alternatief vormen. Een ander alternatief is het insecteparasitaire schimmelpreparaat *Metarhizium anisopliae*\* (Deuteromycetes). Dit schimmelpreparaat wordt geleverd als gedroogde myceliumkorreltjes die, na doormenging door de grond, water opnemen en sporen gaan vormen. Deze sporen kunnen de larven infecteren en doden.

De kieming van de sporen is sterk afhankelijk van de temperatuur. Proefjes bij de temperaturen 9°C, 12°C en 15°C laten dit zien. Bij 9°C is na 96 uur ca. 73% van de sporen gekiemd. bij 12°C en 15°C is na 96 uur 100% van de sporen gekiemd. Thuja en Acer remmen de kieming van de sporen. Dit kan twee redenen hebben nl.:

- \* Thuja en Acer maken bepaalde exudaten die de kieming remmen.
- \* De wortels van Thuja en Acer bevatten minder suikers.

Er is ook een proef uitgevoerd met larven van de kevers, maar door een tekort aan larven van de verschillende waardplanten kunnen er eigenlijk geen conclusies uit deze proef worden getrokken. Wel is duidelijk dat de minimum werkingstemperatuur onder laboratorium omstandigheden tussen de 9 en 12°C ligt

De met \* gemerkte middelen of behandelingen zijn voor het genoemde doel in de boomkwekerij niet toegelaten.

## INHOUD:

pag. nr.

|   |   |
|---|---|
| 1. Inleiding .....  | 1 |
| 2. Doel .....   | 1 |
| 3. Proefopzet .....   | 1 |
| 3.1 De invloed van temperatuur op de kieming<br>van <i>Metarhizium anisopliae</i> * .....   | 1 |
| 3.2 De invloed van wortelextracten en<br>temperatuur op de kieming van <i>Metarhizium</i><br><i>anisopliae</i> * .....  | 2 |
| 3.3 De invloed van waardplant en temperatuur op<br>de infectie van de larven van de gegroefde<br>lapsnuitkever ( <i>Otiorhynchus sulcatus</i> ) door<br><i>Metarhizium anisopliae</i> * ..... | 2 |
| 4. Waarnemingen .....   | 2 |
| 5. Resultaten en bespreking .....   | 3 |
| 5.1 De invloed van temperatuur op de kieming<br>van <i>Metarhizium anisopliae</i> * .....   | 3 |
| 5.2 De invloed van wortelextracten en<br>temperatuur op de kieming van <i>Metarhizium</i><br><i>anisopliae</i> * .....  | 3 |
| 5.3 De invloed van waardplant en temperatuur op<br>de infectie van de larven van de gegroefde<br>lapsnuitkever ( <i>Otiorhynchus sulcatus</i> ) door<br><i>Metarhizium anisopliae</i> * ..... | 5 |
| 6. Conclusie .....  | 6 |
| 7. Bijlagen:  |   |
| BIJLAGE 1: Bereiding van agars  |   |
| BIJLAGE 2: Grafiek: De invloed van de temperatuur op de kieming van<br><i>Metarhizium anisopliae</i> *  |   |
| BIJLAGE 3: Grafiek: De invloed van wortelextracten op de kieming van<br><i>M. anisopliae</i> * bij 9°C.   |   |
| BIJLAGE 4: Grafiek: De invloed van wortelextracten op de kieming van<br><i>M. anisopliae</i> * bij 12°C.  |   |
| BIJLAGE 5: Grafiek: De invloed van wortelextracten op de kieming van<br><i>M. anisopliae</i> * bij 15°C.  |   |
| BIJLAGE 6: Grafiek: De invloed van temperatuur en waardplant ( <i>Acer</i> ) op<br>de infectie van larven door <i>M. anisopliae</i> *   |   |

BIJLAGE 7: Grafiek: De invloed van temperatuur en waardplant (Thuja)  
op de infectie van larven door *M. anisopliae*\*

BIJLAGE 8: Grafiek: De invloed van waardplant (Azalea) op de infectie  
van larven door *M. anisopliae*\*

## 1. INLEIDING

De gegroefde lapsnuitkever is een plaag in veel boomkwekerijen. Zowel de larven als de kevers kunnen veel schade aanrichten. De kevers vreten aan de bladeren. De larven vreten aan de wortels en aan de bast rond de wortelhals, waardoor de sapstroom stagneert en het gewas verwelkt. De gewassen sterven af, of worden zodanig aangetast dat ze niet meer geschikt zijn voor de handel.

In de zomer en de vroege herfst leggen de kevers eieren op de grond. Na een paar weken komen ze uit. De larven vreten van de nazomer tot het voorjaar. Na een kort popstadium komen vanaf eind juni/ begin juli de kevers tevoorschijn.

Voor de chemische bestrijding van de larven is alleen nog maar Carbofuran toegelaten. Een alternatief voor dit middel zijn de insecteparasitaire aaltjes (*Heterorhabditis* sp.).

Een tweede alternatief is de schimmel *Metarhizium anisopliae*\* (Deuteromycetes). Deze schimmel wordt als gedroogde korrels mycelium geleverd en neemt, na menging door de grond, water op en kan dan sporen gaan vormen. Als deze sporen in contact komen met een larve kiemen ze en infecteren de larven.

De met \* gemerkte middelen of behandelingen zijn voor het genoemde doel in de boomkwekerij niet toegelaten.

## 2. DOEL

- a. Het bepalen van de invloed van waardplant en temperatuur op de infectie van larven van de gegroefde lapsnuitkever door *Metarhizium anisopliae*\*.
- b. Het bepalen van de invloed van waardplant en temperatuur op de kieming van de sporen van *Metarhizium anisopliae*.

## 3. PROEFOPZET

### 3.1 De invloed van temperatuur op de kieming van *Metarhizium anisopliae*\*

Een temperatuursproef met BIO 1020\* (granulaat van *Metarhizium anisopliae*) is ingezet op 17 februari. Op 12 februari werden de korrels BIO 1020\* geïncubeerd in 6 petrischalen met een vochtig filtreerpapiertje in de deksel. Deze schalen zijn 5 dagen weg gezet bij 24 °C om de schimmel te laten sporuleren. De sporen van 4 platen werden verzameld en vervolgens werd een suspensie gemaakt door de sporen in 100 ml steriel water over te brengen en ca. 20 minuten op een roermotor goed te mengen. Uit deze suspensie werden twee monsters genomen om, m.b.v. een haemocytometer, de exacte concentratie te bepalen. Door middel van een verdunning werd een suspensie gemaakt van ca. 10<sup>6</sup> sporen per ml. Per plaat met Sabouraud Dextrose Agar (SDA) werd er ca. 1 ml van deze suspensie uitgespoten m.b.v. een verstuiver (voor recept SDA zie bijlage 1).

### 3.2 De invloed van wortelextracten en temperatuur op de kieming van *Metarhizium anisopliae*\*.

Een platenproef met wortelmedia van Thuja, Azalea en Acer is ingezet op 16 maart. Ook hier werden er 20 platen met BIO 1020\* korrels 5 dagen van tevoren warm en vochtig weg gezet, om te sporuleren en werden er per plaat met wortelagar of SDA ca.  $10^6$  sporen uitgespoten (Zie ook 3.1). Voor het recept van de wortelmedia zie bijlage 1.

Op 30 maart werd er ook nog een proef ingezet met water agar (WA) en SDA. Voor alle overige handelingen zie 3.1.

### 3.3 De invloed van waardplanten en temperatuur op de infectie van de larven van de gegroefde lapsnuitkever (*Otiorhynchus sulcatus*) door *Metarhizium anisopliae*\*.

Op 4 maart zijn in 48 potjes (inhoud = 100 ml) 5 larven gedaan. De potjes waren gevuld met B-42 potgrond en wortelresten van de waardplanten Thuja, Acer en Azalea. In de helft van het aantal potjes is B-42 potgrond gedaan met korreltjes van BIO 1020\*. Deze korreltjes waren 2 weken van te voren door (20 liter) vochtige B-42 potgrond gemengd en bij 20°C weg gezet in donkere vuilniszakken om te sporuleren. Per liter potgrond werd 1 gram BIO 1020\* gemengd. De gebruikte larven waren opgekweekt op de desbetreffende waardplanten.

Alle proeven zijn uitgevoerd met Thuja occidentalis 'Brabant', Azalea mollis en Acer cappadocicum 'Rubrum'.

## 4. WAARNEMINGEN

De temperatuursproef (zie 3.1) werd tussen 18 en 21 februari beoordeeld. Per plaat werden 3 tellingen uitgevoerd. Per telling werden 100 sporen geteld die werden beoordeeld op kieming. De gegevens werden genoteerd op beoordelingsformulieren, deze staan in basisinformatie 1

De platenproef met de verschillende wortelmedia (zie 3.2) werd tussen 17 en 20 maart beoordeeld. Ook hier werden per plaat 3 tellingen van 100 sporen uitgevoerd. Verder is er een platenproef uitgevoerd met wateragar en SDA. Deze proef is beoordeeld tussen 31 maart en 3 april. De gegevens werden genoteerd op beoordelingsformulieren, deze staan in basisinformatie 2.

De proef met de larven (zie 3.3) is tussen 11 maart en 22 april één maal per week beoordeeld op infectie door *Metarhizium anisopliae*. Geïnfecteerde larven zijn hard. Alle dode larven werden wekelijks verwijderd en weggezet bij 24°C in een petrischaal met een vochtig filterpapierpapiertje in de deksel. Na ca. 2 dagen kan dan definitief beoordeeld worden of de larven door *Metarhizium anisopliae*\* zijn gedood of niet. Bij geïnfecteerde larven is dan duidelijk schimmelweefsel zichtbaar dat uit de larve groeit. De gegevens werden genoteerd op beoordelingsformulieren, deze staan in basisinformatie 3.

## 5. RESULTATEN EN BESPREKING

### 5.1 De invloed van de temperatuur op de kieming van *Metarhizium anisopliae*.

De gegevens zijn statistisch verwerkt met behulp van ANOVA (analysis of variance). Deze verwerking staat in basisinformatie 1. Het resultaat van de verwerking staat in tabel 1.

Tabel 1 - Gemiddelde kiemingspercentages per plaat (n=6) in de tijd bij 3 verschillende temperaturen.

| Temperatuur<br>(°C) | aantal uren |        |        |        |
|---------------------|-------------|--------|--------|--------|
|                     | 24          | 48     | 72     | 96     |
| 9                   | 0,96a       | 16,67a | 55,02a | 73,20a |
| 12                  | 19,33b      | 52,97b | 93,13b | 100,0b |
| 15                  | 50,30c      | 70,81c | 99,79c | 100,0b |

LSD = 2,13 (= Least Significant Difference)  
(Voor grafiek zie bijlage 2)

Uit deze resultaten blijkt dat 50% van de sporen van *M. anisopliae* al na 24 uur zijn gekiemd bij 15°C. Na ca. 72 uur zijn bij deze temperatuur alle sporen al gekiemd. Bij 12°C is na 48 uur 50% gekiemd, en na 96 uur zijn pas alle sporen gekiemd. Bij 9°C komt de kieming echter pas later op gang en volgens de hypothetische lijn in de grafiek (zie bijlage 2) is het niet waarschijnlijk dat de kieming de 100% zal benaderen.

### 5.2 De invloed van wortelextracten en temperatuur op de kieming van *Metarhizium anisopliae*\*.

De gegevens zijn statistisch verwerkt met behulp van ANOVA. De verwerking staat in basisinformatie 2. De resultaten van deze verwerking staat in tabel 2,3 en 4.

Tabel 2 - Gemiddelde kiemingspercentages per plaat (n=6) in de tijd bij 6 verschillende voedingsmedia (SDA 1, SDA 2, WA en de wortelagars van: Azalea, Acer en Thuja) en bij 9°C.

| Media  | Aantal uren |          |         |         |
|--------|-------------|----------|---------|---------|
|        | 24          | 48       | 72      | 96      |
| SDA 1  | 0,72 a      | 14,67 bc | 56,83 a | 94,06 a |
| Azalea | 0,39 a      | 17,00 ab | 64,44 a | 90,56 a |
| Thuja  | 1,44 a      | 7,56 cd  | 38,67 b | 62,67 d |
| Acer   | 2,39 a      | 22,78 a  | 57,67 a | 73,00 c |
| SDA 2  | 0,06 a      | 3,33 d   | 27,56 c | 80,94 b |
| WA     | 0,11 a      | 1,11 d   | 5,06 d  | 13,17 e |

(LSD = 1,96)

(Voor de grafiek zie bijlage 3)

Uit deze resultaten blijkt dat er na 24 uur nog geen significante verschillen zijn opgetreden. Na 48 uur blijven WA, SDA(2) en Thuja iets



achter op de andere media. Na 72 uur blijft vooral WA ver achter en SDA(2) en Thuja iets minder. Na 96 uur zijn de verschillen het beste te zien. SDA(2) verschilt dan nog wel van SDA(1) maar minder dan na 24, 48 en 72 uur. De kieming bij Acer neemt na 96 uur nog maar weinig toe en volgens de hypothetische curve in de tijd zal de kieming de 100% waarschijnlijk niet halen evenals Thuja. De kieming bij WA begint pas na 96 uur op gang te komen maar blijft zeer laag. Opvallend is ook dat Azalea bij geen van de vier tijdstippen significant verschilt van SDA(1).

Tabel 3 - Gemiddelde kiemingspercentages per plaat (n=6) in de tijd bij 6 verschillende voedingsmedia (SDA 1, SDA 2, WA en de wortelagars van: Azalea, Acer en Thuja) bij 12°C.

| Media  | Aantal uren |         |         |         |
|--------|-------------|---------|---------|---------|
|        | 24          | 48      | 72      | 96      |
| SDA 1  | 15,61 a     | 84,94 a | 98,67 a | 100,0 a |
| Azalea | 13,00 a     | 86,33 a | 96,00 a | 100,0 a |
| Thuja  | 9,89 ab     | 53,17 c | 62,61 b | 69,17 c |
| Acer   | 11,83 a     | 50,83 c | 64,28 b | 75,17 c |
| SDA 2  | 2,39 bc     | 64,56 b | 97,67 a | 100,0 a |
| WA     | 0,89 c      | 12,33 d | 46,28 c | 85,56 b |

(LSD = 1,96)

(Voor grafiek zie bijlage 4)

Bij 12°C. blijkt dat er na 24 uur al verschillen optreden. WA en SDA(2) blijven achter vergeleken met de andere media. Na 48 uur echter, loopt SDA(2) in op de rest maar WA blijft duidelijk lager. Thuja en Acer blijven bij alle tijdstippen gelijk evenals SDA(1) en Azalea (zie ook bij 9°C.). Na 72 uur loopt ook SDA(2) gelijk met Azalea en SDA(1). De kieming bij WA is na 96 uur ook hoger dan bij Thuja en Acer, maar lager dan Azalea en SDA.

Tabel 4 - Gemiddelde kiemingspercentages per plaat (n = 6) in de tijd bij 6 verschillende voedingsmedia (SDA 1, SDA 2, WA en de wortelagars van: Azalea, Acer en Thuja) bij 15°C.

| Media  | Aantal uren |         |         |         |
|--------|-------------|---------|---------|---------|
|        | 24          | 48      | 72      | 96      |
| SDA 1  | 63,17 a     | 99,61 a | 100,0 a | 100,0 a |
| Azalea | 60,00 a     | 94,89 a | 100,0 a | 100,0 a |
| Thuja  | 29,50 b     | 49,94 b | 56,44 c | 67,72 c |
| Acer   | 32,67 b     | 50,67 b | 54,44 c | 74,06 c |
| SDA 2  | 28,28 b     | 95,72 a | 100,0 a | 100,0 a |
| WA     | 3,39 c      | 41,28 c | 69,17 b | 88,89 b |

(LSD = 1,96)

(Voor grafiek zie bijlage 5)

Ook bij 15°C. lopen Azalea en SDA(1) gelijk met elkaar op, evenals Thuja en Acer. Opvallend is de kieming op WA, deze blijft namelijk tot 48 uur lager dan bij Thuja en Acer, maar na 72 uur liggen de kiemingspercentages hoger dan bij Thuja en Acer.

Duidelijk is te zien dat er een temperatuurseffect is. Bij 15°C is het kiemingspercentage bij alle tijdstippen het hoogst en bij 9°C het laagst. Ook is er een duidelijk waardplanteffect. Thuja en Acer remmen de kieming duidelijk en Azalea blijft ongeveer gelijk aan SDA.

5.3 De invloed van waardplanten en temperatuur op de infectie van de larven van de gegroefde lapsnuitkever (Otiorhynchus sulcatus) door Metarhizium anisopliae\*.

Door een tekort aan larven konden de gegevens niet statistisch worden verwerkt. De verzamelde gegevens staan in tabel 5.

Tabel 5 - Percentages dode larven door infectie met M. anisopliae\* en natuurlijke sterfte in de tijd bij verschillende waardplantwortels en bij verschillende temperaturen.

| Waardplant | Temp.<br>(°C) |    | Aantal weken |     |      |      |      |      |      |
|------------|---------------|----|--------------|-----|------|------|------|------|------|
|            |               |    | 1            | 2   | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    |
| Acer       | 9             | I  | 0            | 0   | 0    | 5    | 5    | 5    | 6    |
|            |               | N  | 5            | 5   | 5    | 20   | 20   | 20   | 20   |
|            | 12            | I  | 0            | 0   | 0    | 21   | 62   | 82   | -    |
|            |               | N  | 5            | 5   | 5    | 5    | 25   | 45   | -    |
|            | 15            | I  | 0            | 0   | 80   | 95   | 100  | -    | -    |
|            |               | N  | 0            | 5   | 5    | 30   | 55   | -    | -    |
| Thuja      | 9             | I  | 0            | 0   | 0    | 0    | 11,8 | 18,8 | 21,4 |
|            |               | N  | 0            | 0   | 0    | 10   | 10   | 10   | 10   |
|            | 12            | I  | 0            | 0   | 0    | 0    | 46,7 | 100  | -    |
|            |               | N  | 0            | 0   | 0    | 5    | 10   | 10   | -    |
|            | Azalea        | 12 | I            | 0   | 0    | 66,7 | 100  | -    | -    |
|            |               |    | N            | 5,5 | 22,2 | 27,8 | 27,8 | -    | -    |

I - Dood door infectie

N - Natuurlijke mortaliteit

(Voor grafieken zie bijlagen 6, 7, 8)

Als correctie is er een berekening uitgevoerd om de natuurlijke mortaliteit te bereken (zgn. Abbot-correctie). Hiervoor zijn de gegevens van de controles gebruikt. De gebruikte formule is:  $(N+O) \cdot 100\% / N+O+L$ . Om het percentage geïnfecteerde larven te bereken is ook een Abbot-correctie uitgevoerd met de gegevens van de behandelingen. De gebruikte formule is:  $(I+N+O) \cdot 100\% / I+N+O+L$ .

N - Aantal larven door natuurlijke dood gestorven

O - Aantal vermiste larven

L - Aantal levende larven

I - Aantal geïnfecteerde larven

Al deze waarden moeten als fractie in de formule worden ingevuld.

Uit deze gegevens blijkt dat er bij 9°C weinig kans op infectie is. Bij 12°C is er duidelijk een verschil te zien in gewas. Bij Azalea zijn na 3 weken 66,7% van de larven geïnfecteerd, en na 4 weken is er een infectiepercentage van 100% bereikt. Bij Acer komt de infectie na 4 weken op gang en bij Thuja na 5 weken. Opvallend is ook dat bij de

Acer de 100% niet bereikt wordt. Bij 15°C is dit wel het geval en wel na 5 weken. De infectie van de larven begint al na 3 weken. Er moet echter wel worden opgemerkt dat de larven bij Azalea kleiner waren (stadium 2 en 3) dan bij Thuja en Acer (stadium 4 en 5).

## 6. CONCLUSIE

Er is een duidelijk effect van de temperatuur op de kieming van de sporen van *M. anisopliae*\*. Bij een temperatuur van 12 of 15°C kiemt 100% van de sporen na respectievelijk 72 en 96 uur. Bij 9°C is na 96 uur ca. 75% gekiemd en wordt de 100% volgens een hypothetische curve in de tijd niet bereikt (zie bijlage 2).

Ook is er een effect van de wortelextracten op de kieming van *M. anisopliae*\*. De kieming wordt door Thuja en Acer duidelijk geremd terwijl dit bij Azalea niet het geval is. Dit verschil is het duidelijkst bij hogere temperaturen. Hieruit kunnen we echter nog niet concluderen dat er remming optreedt door exudaten van deze planten, de remming zou namelijk ook veroorzaakt kunnen worden door een verschillend gehalte aan suikers in de wortelextracten. Het is bekend dat Thuja voor een aantal schimmelziekten resistent is, waarmee de remming van de kieming bij deze plantesoort misschien wel te verklaren is. In de literatuur is ook gevonden dat plantesappen van Acers een remmende werking hebben op *Verticillium* waarmee de remming bij deze plant te verklaren zou zijn.

Bij de larvenproef moeten voorzichtige conclusies worden genomen aangezien er niet voldoende gegevens zijn. De larven bij Azalea werden weliswaar sneller geïnfecteerd door *M. anisopliae*\* dan bij Thuja en Acer, maar de larven bij Azalea waren kleiner dan bij Thuja en Acer. Kleinere larven worden mogelijk sneller geïnfecteerd dan grotere. Het is echter wel duidelijk dat de temperatuur invloed heeft op de infectie van de larven. Bij 9°C treedt er weinig tot geen infectie op. Dit zou aan de hand van de gegevens uit de platenproeven wel te verklaren zijn. De minimum werkingstemperatuur ligt dus tussen de 9 en 12°C.

## 7. BIJLAGEN

### BIJLAGE 1:

#### Bereiding van de agars.

##### Sabouraud Dextrose Agar:

10 gram Bacto-peptone  
40 gram Dextrose  
15 gram Agar  
1 liter demi water

Steriliseren door 20 minuten te autoclaveren bij 120°C.

#### Wortelagars:

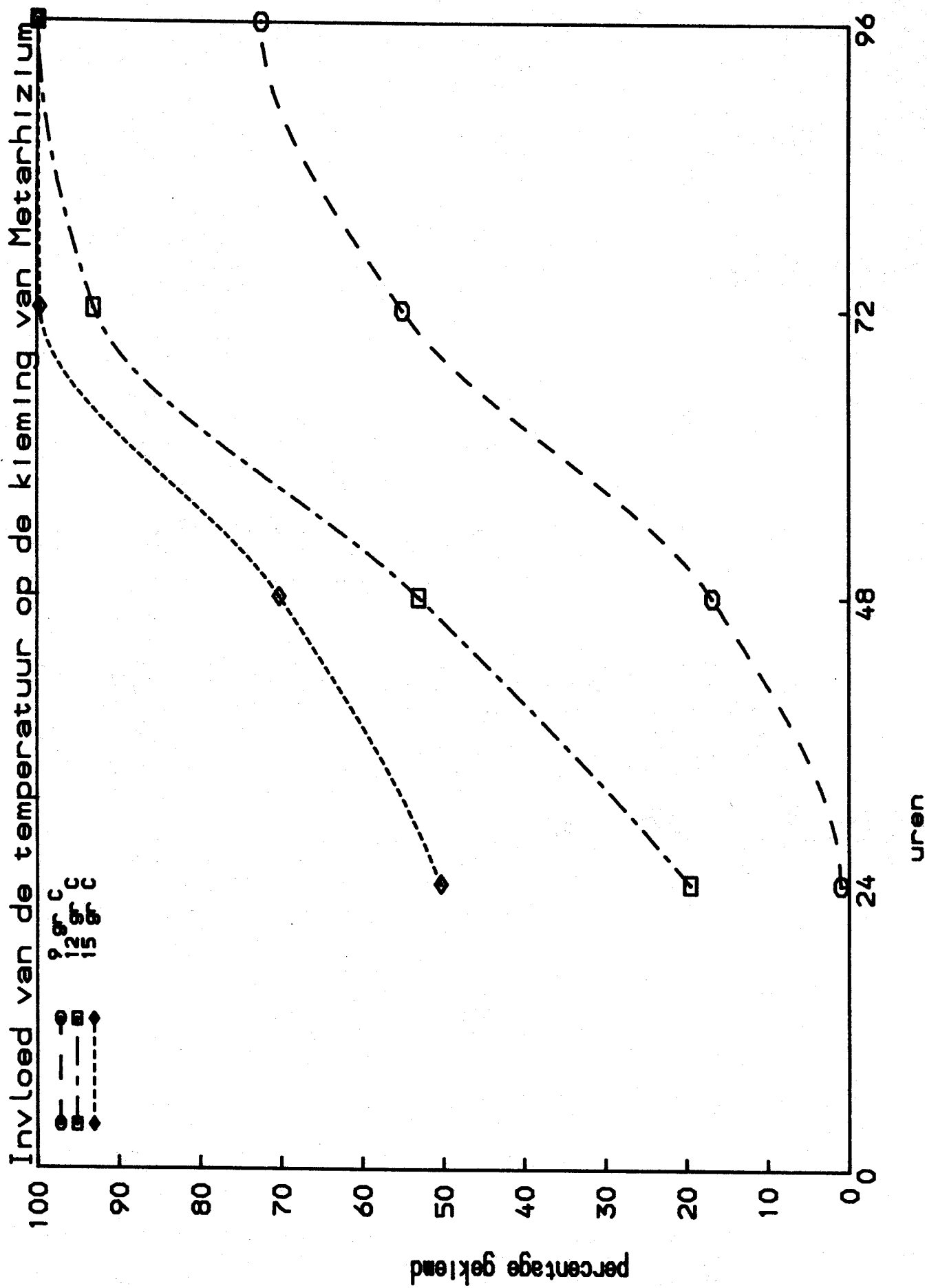
##### Benodigdheden:

20 gram wortels  
20 gram agar  
1 liter demi water

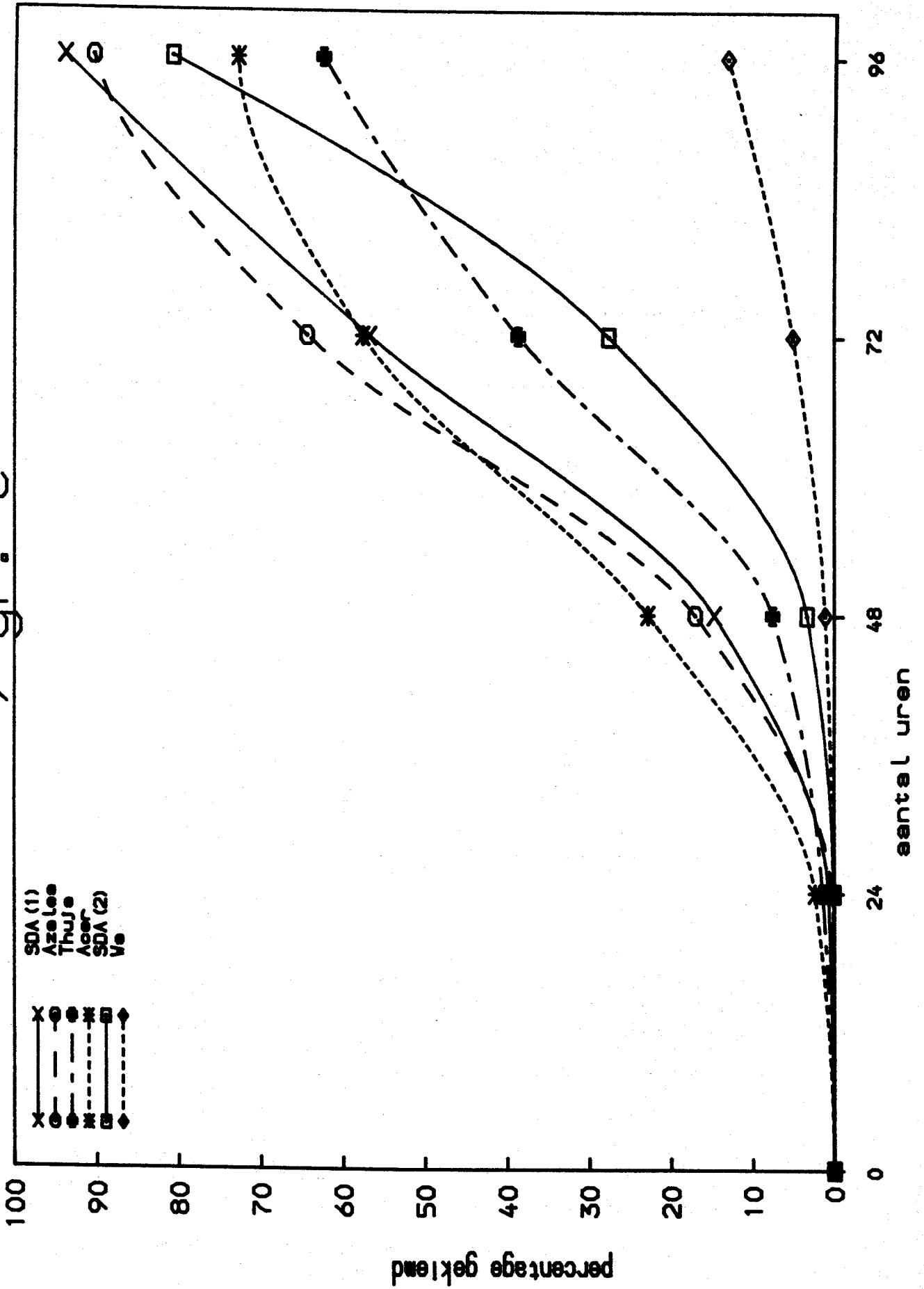
##### Bereiding:

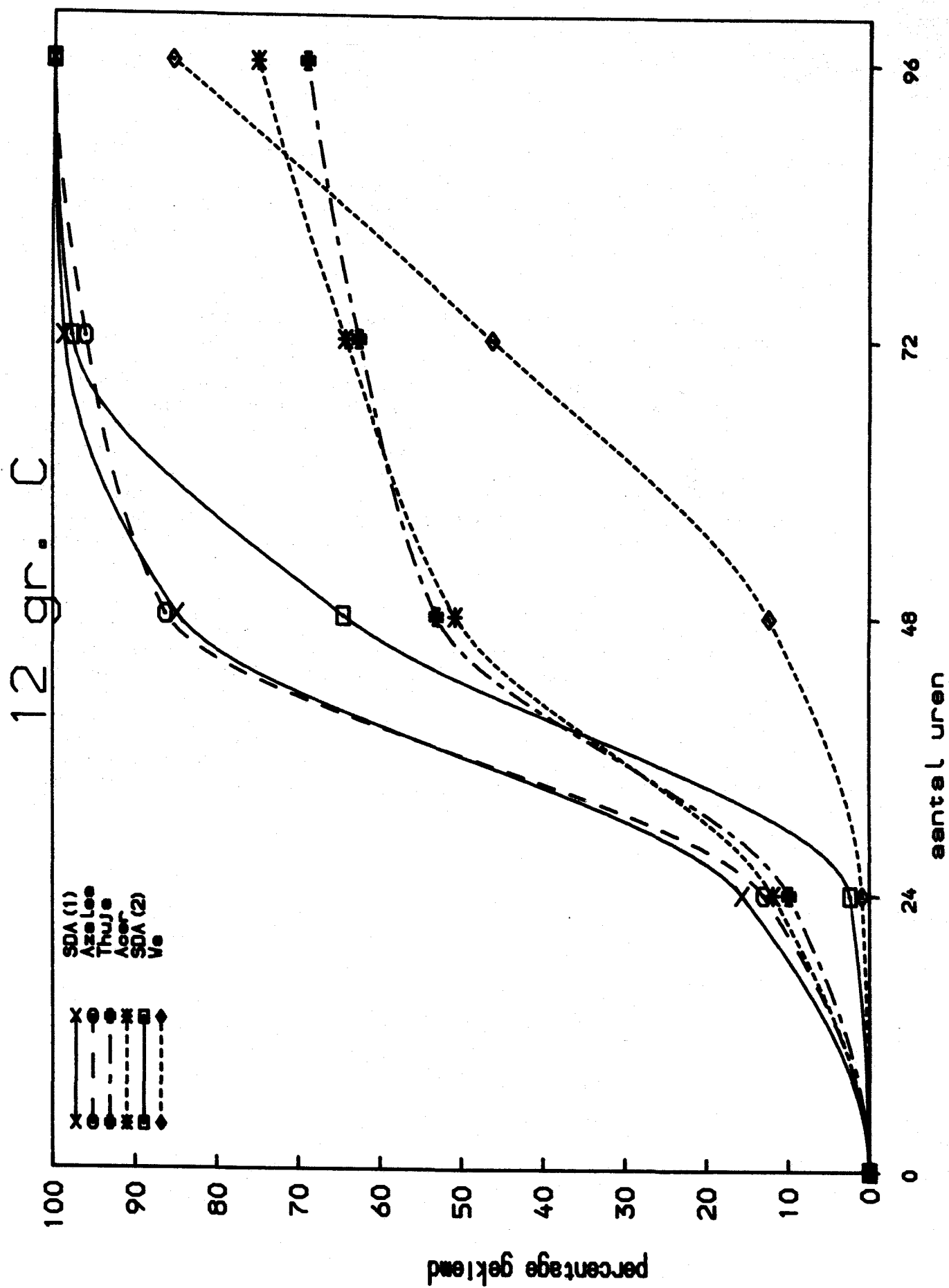
Weeg ca. 20 g fijngeknipte wortels af en maal deze fijn (in 1 liter water) in een blender. Laat de wortels minimaal 1 uur weken. Kook de wortels hierna ca. 5 minuten en filtreer over een Whatman 91 filter. Voeg per liter filtraat 20 g agar toe.

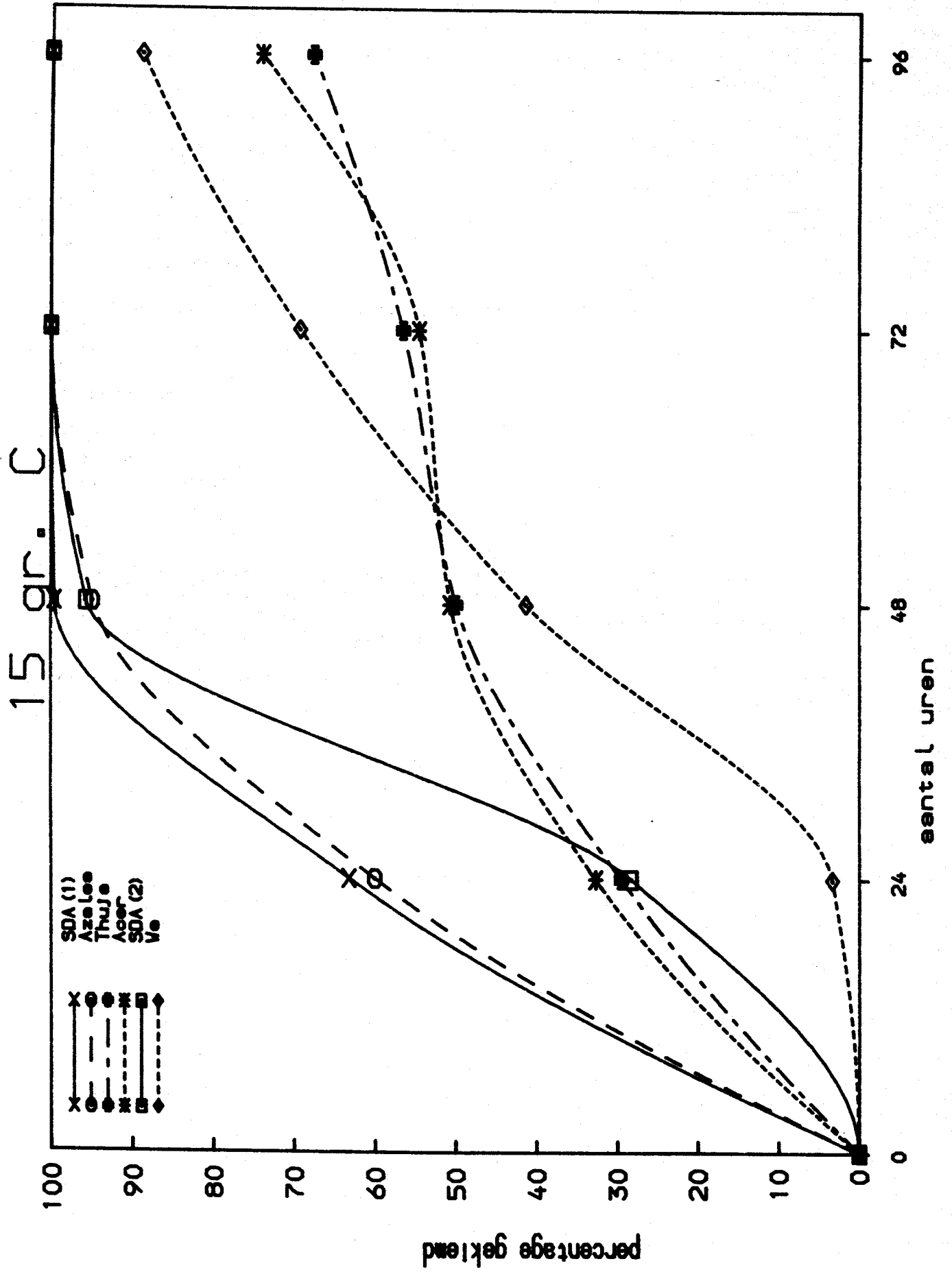
Steriliseren door 20 minuten te autoclaveren bij 120°C.



9 gr. C

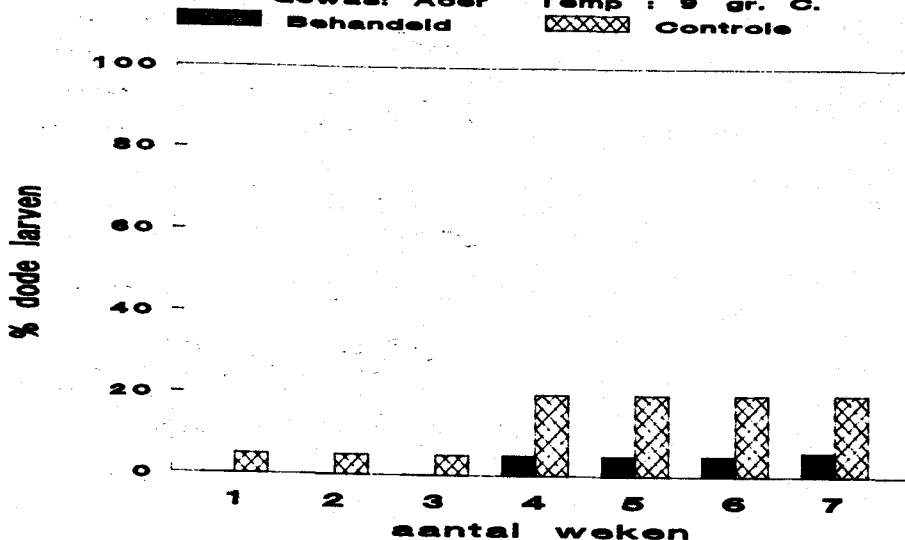




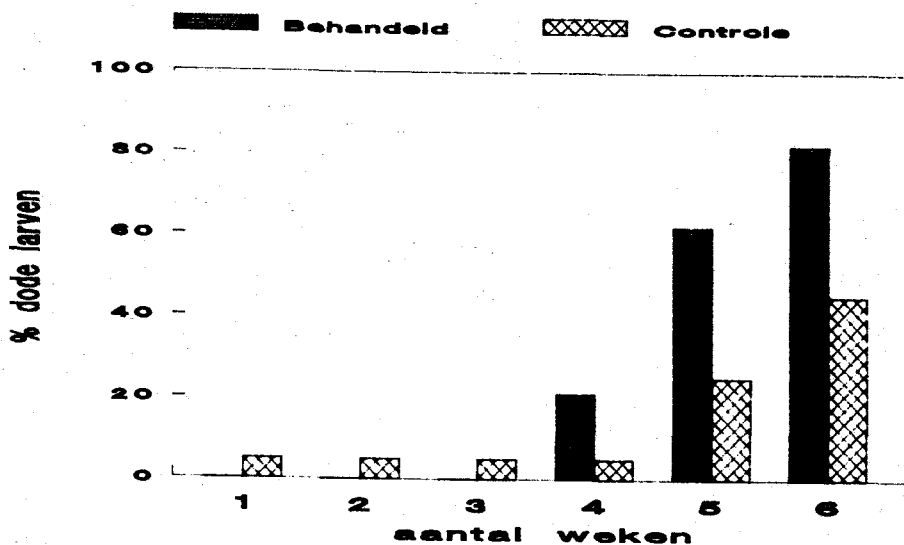




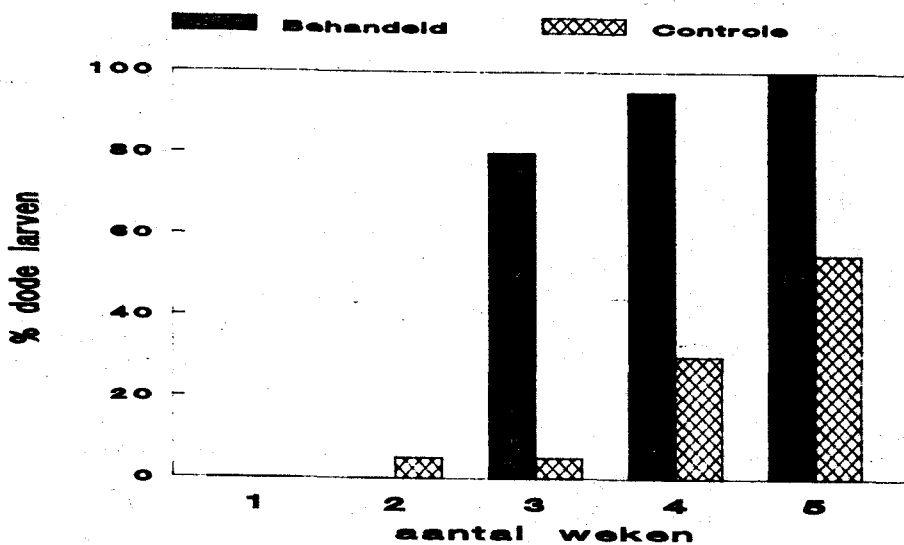
Bestrijding van larven met *M. anisopliae*  
 Gewas: Aoor Temp : 9 gr. C.



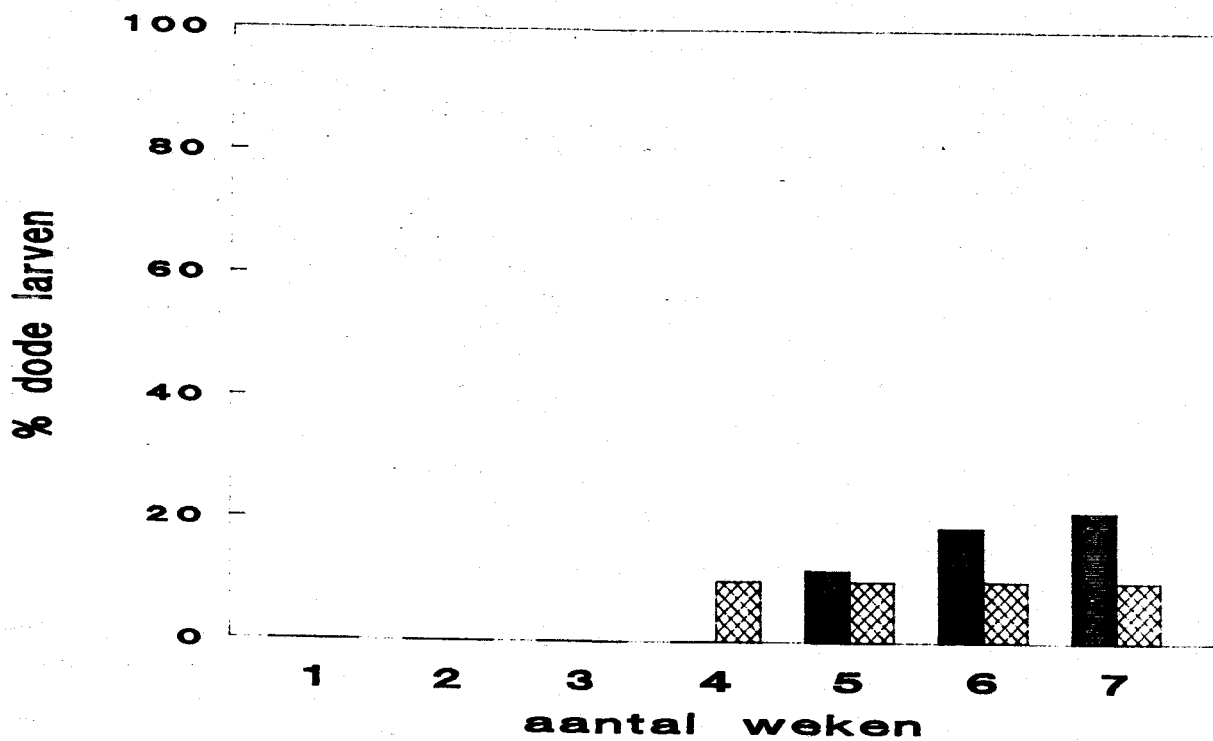
Temp : 12 gr. C.



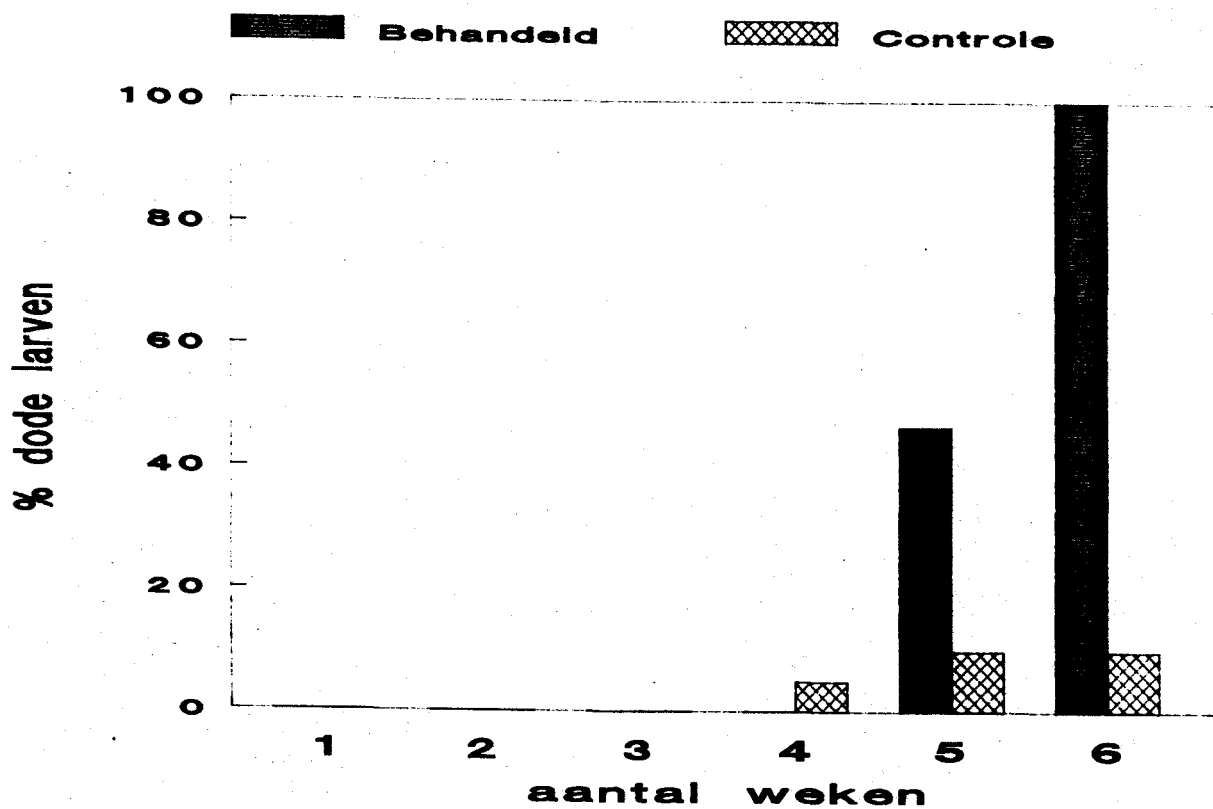
Temp : 15 gr. C.



Bestrijding van larven met *M. anisopliae*  
 Gewas: Thuja Temp : 9 gr. C.



Temp : 12 gr. C



**Bestrijding van larven met *M. anisopliae***  
**Gewas: Azalea Temp : 12 gr. C.**

**■ Behandeld      ▨ Controle**

