

JOLANTA KOWALSKA

Próba zastosowania nicieni owadobójczych oraz metody integrowanej w zwalczaniu pędraków chrabąszcza majowego *Melolontha melolontha* L. w uprawie leśnej*

An attempt to use insect-killing nematodes and an integrated method
to control May beetle *Melolontha melolontha* L. grubs
in a young forest culture

Wstęp

Chrabąszcze od kilkudziesięciu lat są przyczyną strat ekonomicznych. Ich glebowe stadia rozwojowe zwane pędrakami powodują straty na terenach zieleni, w szkółkach i uprawach, szczególnie groźne jest ich trzecie stadium rozwojowe, które jest wyjątkowo żarłoczne. Na dużych obszarach zieleni np. pola golfowe, straty są dodatkowo potęgowane przez żerujące ptactwo.

Największe zagrożenie stanowiły zawsze chrabąszcze: majowy i kasztanowiec oraz guniak czerwczyk. W ostatnich latach nastąpił wzrost powierzchni zagrożonych przez te szkodniki korzeni. Wiąże się to ze wzrostem terenów wyłączonych z użytkowania rolniczego zalesianych przez Lasy Państwowe. Na terenach ugorowanych gatunki te znalazły dla siebie korzystne warunki rozwoju, co wiąże się często z niepowodzeniami zalesień. W związku z tym, iż wskaźnik lesistości kraju (28,2%) jest nadal mniejszy od wskaźnika lesistości Europy (32%), szczególnie krajów o warunkach przyrodniczych zbliżonych do Polski (Niemcy – 30%, Austria – 46%) istnieje nadal potrzeba zalesienia kilkuset tysięcy hektarów gruntów porolnych, które nie poddawane żadnym zabiegom agrotechnicznym stały się dobrym siedliskiem dla patogenów glebowych, mogących stać się przyczyną strat. Według wyliczeń prof. Nunberga chrabąszcz majowy co 30-40 lat wyrządza w Polsce dotkliwe

*Referat wygłoszony na XXVII Sympozjum Naukowym pt. "Wpływ zabiegów gospodarczych na owady leśne i stan zdrowotny drzewostanów".

szkody i obecnie od kilku lat rozpoczyna się kolejny okres uciążliwej egzystencji tego gatunku (8).

Według rocznika statystycznego w roku 1998 zaobserwowano spadek zagrożenia ze strony foliofagów. Do podstawowych spośród zwalczanych gatunków należały boreczniki (34%) i chrabąszcze (15%). Na 70% objętego ochroną obszaru wykonano zabiegi ochronne stosując preparaty biologiczne i środki biotechniczne o małej szkodliwości dla środowiska.

W celu ograniczenia liczebności pędraków stosuje się rozmaite metody uzyskując nie zawsze pożądane efekty. Skuteczność metody mechanicznej jest ograniczona przez wysoką liczebność pędraków, natomiast metoda chemicznego zwalczania ingeruje w środowisko i często okazuje się niewystarczająco efektywna oraz kosztowna.

Od kilkadziesiątu lat prowadzi się badania nad możliwością biologicznego zwalczania szkodników glebowych, wykorzystując m.in. nicienie owadobójcze, które na skalę masową są produkowane od lat osiemdziesiątych. Larwy nicieni owadobójczych mają wiele cech korzystnych do zastosowania ich w ograniczaniu populacji szkodnika. Aktywnie odszukują gospodarza w glebie poprzez rozpoznawanie specyficznych i niespecyficznych sygnałów emitowanych przez owada, a następnie wnikają przez naturalne otwory do jego ciała, gdzie rozpoczynają rozwój i uwalniają bakterie symbiotyczne doprowadzając do septocemii owada. Zainfekowany owad staje się źródłem nowej generacji larw inwazyjnych, które ponownie przenikają do gleby i rozpoczynają aktywne poszukiwania następnego gospodarza. Nicienie nie mają specjalnych wymagań jeśli chodzi o warunki zewnętrzne, wymagają jedynie odpowiedniej wilgotności gleby w trakcie zabiegu.

Zastosowanie nicieni, jak każdego innego czynnika biologicznego, do zwalczania glebowych stadiów larwalnych polega głównie na rozproszeniu populacji szkodnika i doprowadzeniu do obniżenia poziomu jego szkodliwości. Stwierdzono (2, 3, 5) że introdukcja do gleby nicieni owadobójczych ogranicza liczebność populacji szkodnika w latach następnych. Na podstawie badań laboratoryjnych ustalono, że około 250 gatunków owadów z 10 rzędów było wrażliwych na nicienie owadobójcze z rodzaju *Steinernema* i *Heterorhabditis*, tym niemniej stosowanie nicieni dawało rozmaite wyniki. Najwięcej badań nad zastosowaniem nicieni wykonano z *Popillia japonica* i uzyskano zadawalające wyniki. Stosowano również nicienie przeciwko *Phyllopertha horticola* i *Amphimallon solstitiale*, przy czym ten ostatni był bardzo oporny na infekcje nicieniowe(10).

Rozwiązaniem zasługującym na uwagę wśród metod zwalczania może być metoda integrowana, która definiowana jest jako wykorzystanie wszystkich dostępnych sposobów i metod w celu skutecznego, bezpiecznego i opłacalnego zmniejszenia nasilenia szkodnika poniżej progu szkodliwości (7). Stwierdzono, że śmiertelność pędraków *Scarabaeidae* wzrasta po zastosowaniu jednocześnie metody chemicznej i biologicznej, dowiedzono bowiem efektu synergizmu nicieni owadobójczych i insektycydów (6, 9).

Głównym celem prezentowanych badań była ocena możliwości zastosowania metody biologicznej i integrowanej do ograniczenia liczebności pędraków.

Materiał i metody

Terenowe badania pilotażowe realizowane były na przełomie sierpnia i września, w Nadleśnictwie Gniezno, w uprawie mieszanej pięcioletniej na siedlisku lasu świeżego, zasiedlonej przez populację jednorocznych pędraków *Melolontha melolontha*. Na planowanej do zabiegu powierzchni wykopano 3 doły 0,5x1m o głębokości 25 cm w celu określenia wstępnego zapędrczenia terenu. Temperatura otoczenia w momencie zabiegu wynosiła 22°C, pH gleby oznaczono jako 6,9. Przed zabiegiem zarejestrowano obfite opady, w związku z tym nie wykonano dodatkowego nawodnienia poletek po zastosowaniu nicieni. W trakcie trwania doświadczenia występowały liczne opady.

Jako czynnik biologicznego zwalczania zastosowano larwy inwazyjne *Heterorhabditis megidis*. Jako czynnik chemiczny zastosowano preparat karbaminianowy o substancji czynnej karbosulfan w dawce 10g/kg CG (preparat o nazwie handlowej Marshal suSCon 10 CG). Nicienie owadobójcze były aplikowane na powierzchnię w zawiesinie wodnej, 1 litr/ 1 m² w dawkach 100, 50 oraz 25 larw inwazyjnych na cm², natomiast Marshal stosowano w dawce zalecanej, tj. 80 kg/ha oraz w dawce 10-krotnie obniżonej. Zabiegi wykonano w następujących kombinacjach:

- A – dawka zalecana (z) Marshal + 100 larw nicieni/cm²,
- B – dawka zalecana (z) Marshal + 50 larw nicieni/cm²,
- C – dawka zalecana (z) Marshal + 25 larw nicieni/cm²,
- D – dawka obniżona (o) Marshal + 100 larw nicieni/cm²,
- E – dawka obniżona (o) Marshal + 50 larw nicieni/cm²,
- F – dawka obniżona (o) Marshal + 25 larw nicieni/cm²,
- G – 100 larw nicieni/cm²,
- H – 50 larw nicieni/cm²,
- I – kontrola, woda (1 litr wody).

Poletka zabiegowe o wymiarach 2x2 m oddzielone były od siebie dwumetrowym pasem izolacyjnym. W celu uniknięcia efektu brzegowego zabiegom poddawano centralnie położony 1 m², który po 24 dniach był przekopany. Skuteczność zabiegów oceniano na podstawie liczby znalezionych żywych pędraków. Każdą kombinację wykonano w pięciu powtórzeniach. Wyniki opracowano stosując test t-Studenta. Średnie ze wszystkich kombinacji istotnie różnych od kontroli porównano między sobą testem jednostronnym.

Wstępne wyniki i dyskusja

Średnią liczbę znalezionych żywych pędraków z poszczególnych kombinacji przedstawiono w tabeli.

Uzyskane wyniki w badanych kombinacjach zabiegów, z wyłączeniem kombinacji C, F, i H istotnie różniły się od wyników kontroli. Porównanie między sobą istotnie różnych od kontroli danych wykazało brak istotnych różnic.

TABELA

Średnia liczba \pm odchylenie standardowe żywych pędraków dla poszczególnych kombinacji zabiegów.
Istotność różnic oznaczono na podstawie testu t-Studenta

Kombinacja	Średnia \pm odch.stand.
A – Marshal (z) + 100 larw/cm ²	10,8 \pm 5,07 **
B – Marshal (z) + 50 larw/cm ²	15,6 \pm 6,35 *
C – Marshal (z) + 25 larw/cm ²	22,8 \pm 10,06
D – Marshal (o) + 100 larw/cm ²	13,0 \pm 3,08 **
E – Marshal (o) + 50 larw/cm ²	12,0 \pm 3,39 **
F – Marshal (o) + 25 larw/cm ²	19,4 \pm 7,73
G – 100 larw/cm ²	9,8 \pm 4,21 **
H – 50 larw/cm ²	21,4 \pm 5,94
I – kontrola	23,6 \pm 4,67

** różnice wysoce istotne na poziomie $p < 0,05$

* różnice istotne na poziomie $p < 0,05$

Zaskoczeniem okazały się wyniki kombinacji C w której stosowano Marshal w dawce zalecanej, a mimo tego uzyskane średnie nie są istotnie różne od kontroli. Można przypuszczać, że znaczny wpływ na uzyskane wyniki miała dawka zastosowanych nicieni. W przypadku kombinacji C zastosowanie nicieni w dawce 25 larw na cm² okazało się niewystarczające, aby móc ograniczyć populację szkodnika.

Dawka obniżona preparatu Marshal stosowanego łącznie z nicieniami w dawkach 100 i 50 larw na cm² (kombinacje D i E) przyniosły wyniki bardziej zadowalające. Jednak wyniki, po zastosowaniu Marshalu w dawce obniżonej łącznie z larwami nicieni w dawce 100 cm² larw (D), nie różnią się od wyników po zastosowaniu 50 larw / cm² (E). Można więc próbować stosować jedynie kombinację E z obniżoną liczbą larw w stosunku do standardowo zalecanej.

Stosowanie natomiast jedynie metody biologicznej wymaga już zastosowania dawki standardowej (G), bowiem dawka 50 larw / cm² jest niewystarczająca. Wynik ten jest zgodny z opinią innych badaczy według których samodzielne zastosowanie nicieni w dawkach 25 i 50 larw / cm² jest nie skuteczne.

Zaskakujące są słabe wyniki działania środka chemicznego, tym bardziej że w trakcie doświadczenia miały miejsce opady, które powinny przyspieszyć uwalnianie karbosulfanu. Być może wykonanie wiosną ponownej oceny zapędrczenia poletek pozwoli oszacować długoterminową skuteczność stopniowo uwalnianej substancji czynnej z którą pędrak powinien się kontaktować całym ciałem, a następnie systemicznie. Może to być szczególnie trudne jeśli środek zastosowano w dawce obniżonej i pędraki pobiorą dawkę letalną dopiero po okresie dłuższym, niż czas trwania tego eksperymentu. Nie bez znaczenia jest stan fizjologiczny pędraka, jak wskazują badania laboratoryjne pędraki będące przed okresem diapauzy są trudniejsze do zwalczania niż po niej. Mogło to mieć wpływ na stosunkowo słabą skuteczność zastosowanych w tym eksperymencie metod.

Na uzyskane wyniki miał ogromny wpływ zastosowany gatunek nicieni owadobójczych, *Heterorhabditis megidis*. Na podstawie badań laboratoryjnych gatunek ten został wskazany jako jeden z najbardziej obiecujących, możliwych do zastosowania w biologicznym zwalczaniu pędraków (1). W chwili obecnej jest on dostępny w sprzedaży w Polsce, ale zalecany przeciwko innemu szkodnikowi. Prawdopodobnie lepsze efekty zwalczania pędraków uzyskano by przy zastosowaniu *Steinernema glaseri*. Jednak ze względu na trudności jego hodowli *in vitro* i przechowywania nie jest on dostępny w Polsce. Być może w laboratorium podejmie się próby jego hodowli, aby móc zastosować go w doświadczeniu terenowym.

Pędraki są szczególnie trudne do zwalczania biologicznego, gdyż mają bardzo dobrze rozwinięty system immunologiczny powodujący reakcję melanizacji nicieni, a szczecinki pokrywające ciało pędraka utrudniają nicieniom wniknięcie do jego ciała. Jelito natomiast wyścielone jest membraną plejotroficzną będącą przeszkodą w przenikaniu nicieni do jamy ciała. Właśnie te mechanizmy obronne są przyczyną słabych efektów zwalczania pędraków. Pomimo tego do zwalczania wielu ważnych ekonomicznie gatunków (*Popillia japonica*, *Phyllopertha horticola*) znaleziono szczepy o dużej skuteczności i są one szeroko stosowane w praktyce (trawniki, pola golfowe, szkółki).

Niepowodzenia w odpowiednio efektywnym stosowaniu nicieni w zwalczaniu pędraków niektórzy badacze wiążą z persystencją nicieni po ich aplikacji. Według P.Smitsa (11) przeżywalność nicieni bardzo znacznie spada w ciągu dwóch tygodni po zabiegu, a kolejny wzrost liczebności nicieni następuje średnio co trzydzieści kilka dni. Należy jednak zaznaczyć, że raz introdukowane do środowiska nicienie mogą w nim egzystować przez kilka lat i ograniczać populację szkodnika w latach następnych (2, 3, 5). Są one bezpieczne dla organizmów stałocieplnych i dla organizmów zasiedlających mikrośrodowisko.

Wnioski

- Łączne zastosowanie insektycydu z larwami nicieni w dawkach 100 lub 50 larw/cm² powoduje statystycznie istotne różnice w stosunku do kontroli.
- Dziesięciokrotne obniżenie dawki insektycydu przy zastosowaniu obniżonej dawki larw *Heterorhabditis megidis* również powoduje statystycznie istotne obniżenie populacji szkodnika.
- Przy stosowaniu jedynie larw nicieni owadobójczych wymagana jest dawka standardowo zalecana, tj. 100 larw/cm².
- Dawka 25 larw/cm² jest zdecydowanie nieefektywna, nawet jeśli jest stosowana w metodzie integrowanej.
- Wstępne wyniki badań terenowych wskazują, że nicienie mogą stanowić alternatywę dla insektycydów chemicznych.
- Należy pamiętać, że w przypadku dużej liczby pędraków metoda biologiczna może się okazać niewystarczająca, aby obniżyć próg ekonomicznej szkodliwości. Również ze względu na jej kosztowność może być zalecana do stosowania na niewielkich powierzchniach lub na takich, na których nie można stosować środków chemicznych.

- Istnieje potrzeba dalszych badań terenowych w celu określenia w jakim stopniu można obniżyć dawkę insektycydu oraz oceny liczebności szkodnika w roku następnym po zastosowaniu nicieni.

Zakład Metod Biologicznych i Kwarantanny
Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu
ul. Mieczurina 20
e-mail: J.Kowalska@ior.poznan.pl

Dziękuję pracownikom RDLP Poznań oraz Leśnictwa Wólka za pomoc
w realizacji doświadczenia terenowego.
Osobne podziękowania kieruję do firmy ROL-EKO w Warszawie
za udostępnienie preparatu biologicznego.

Literatura

1. **Bednarek A.**, 1999. Nowe możliwości zwalczania pędraków chrabąszczy (*Melolonthinae*) w uprawach lesnych, Sylwan, 4:107-113.
2. **Ehlers R., A., Sulistyanto D.**, 1996. Efficacy of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis megidis* and *Heterorhabditis bacteriophora* for the control of grubs (*Phyllopertha horticola* and *Aphodius contaminatus*) in golf course turf. Biocontrol Science and Technology. 6:247-250.
3. **Georgis R., Gaugler G.**, 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. J. Econom.Ent., 84:713-720.
4. **Grewal P.,S., Tomalak M., Keil C.B.O., Gaugler R.**, 1993. Evaluation of genetically selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom sciarid *Lycoriella mali*. Ann.appl.Biol., 123:695-702.
5. **Klieg MFG, Georgis R.**, 1992. Persistence of control of Japanese beetle (*Coleoptera, Scarabaeidae*) larvae with steinernematid and heterorhabditid nematodes. J. Econom.Ent., 85:727-730.
6. **Koppenhofer A., M., Kaya H., K.**, 1998. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematodes: a novel approach to white grub (*Coleoptera, Scarabaeidae*) control in turfgrass. J. Econom. Ent., 91(3):618-623.
7. **Malinowski H.**, 1998. Podstawy ochrony szkótek i upraw leśnych i rolniczych przed szkodnikami korzeni.
8. **Mierzejewska E.**, 1999. Z doświadczeń nad biologicznym zwalczaniem pędraków w Lubelskiem. Ochrona Roślin, 35-36.
9. **Rovesti L., Deseo K.V.**, 1991. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis heliothidis*. Nematologica, 37:113-116.

10. **Smits P.,H.**, 1992. Control of white grubs, (*Phyllopertha horticola* and *Amphimallon solstitialis* in grass with Heterorhabditid nematodes. In Use of pathogens in scarab pest management. Glare, Jackson (eds.).
11. **Smits P.**, 1996. Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6:379-388.

Summary

An attempt to use insect-killing nematodes and an integrated method to control May beetle *Melolontha melolontha* L. grubs in a young forest culture

May beetles and their soil living developmental stages are since several years the cause of economic losses. On odd land, without any agrochemical measures, they found very good conditions of development. Population outbreak of this pest compels forest service to undertake control measures. Many methods can be used, but no one warrants satisfactory efficacy.

The report presents the outcome of a pilot research carried out at the turn of August to September in a mixed culture with a considerable share of five-year-old pine on fresh-soil broadleaved forest site.

Invasive larvae of *Heterorhabditis megidis* were used as the control agent, while carbamian preparation of Marshal SuSCon 10CG trademark was used as chemical factor. The nematode larvae were applied over-surface in a water suspension of stable volume 1l/m². Doses of 100, 50, or 25 IJs/cm² were used. The chemical preparation was applied in a recommended dose, i.e. 80 kg/ha and in a dose abated ten times. The biological preparation was used either separately or jointly with chemical preparation. Each combination of the measure was carried out in five repetitions; the significance was found using t-Student test.

Statistically significant differences of compared to the control were obtained using the chemical preparation jointly with the nematodes in doses 100 or 50 Ijs/cm².

Ten-time abatement of insecticide dose at using 50 Ijs/cm² causes also a significant suppression of pest population, whereas 25 Ijs/cm² dose is not efficient. The outcome presented may point out to a conclusion that nematodes can become an alternative for insecticides. They are able to disperse the pest population and abate the threshold of its harmfulness.