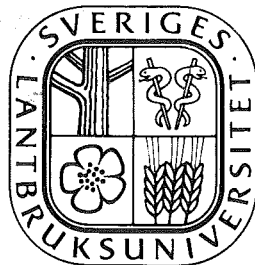
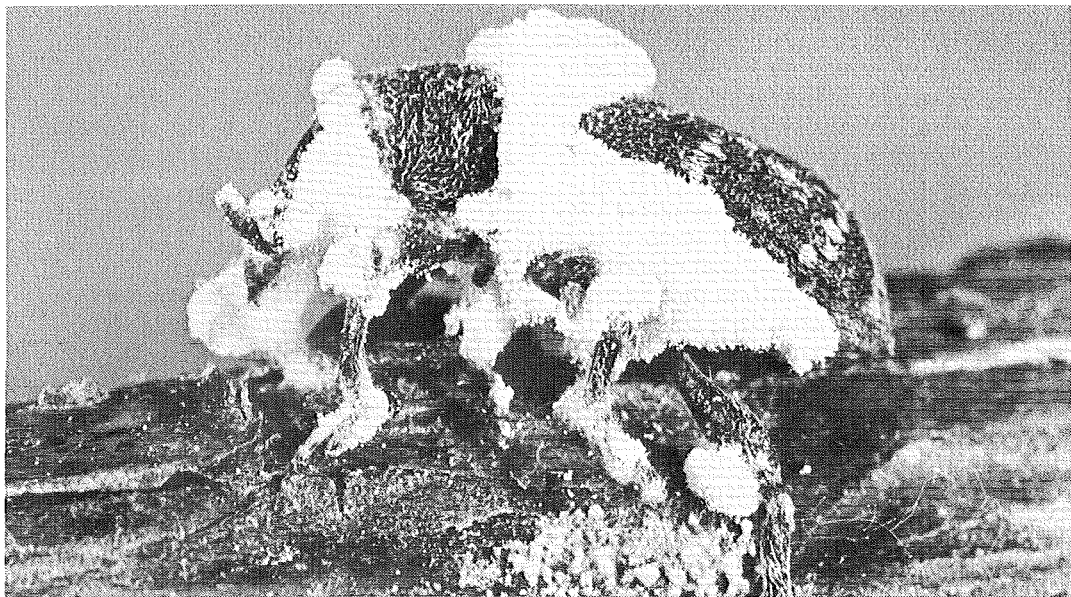


# Växt- skydds- notiser



Nr 6, 1980 — Årg. 44



Snytbagge som dödat av vitmykos (*Beauveria bassiana*). Foto Rune Axelsson.

## Temanummer: Biologisk bekämpning av skadedjur.

### INNEHÅLLSFÖRTECKNING:

<b>Barbara Ekbom:</b> Biologisk bekämpning: ett verkligt alternativ eller ett modeord? .....	130
<b>Barbro Nedstam:</b> Minerarflugor (Fam. <i>Agromyzidae</i> ) i växthus — <i>Liriomyza bryoniae</i> (Kaltenbach), <i>L. trifolii</i> (Burgess) och <i>Phytomyza syngenesiae</i> (Hardy) .....	135
<b>Reinhold Charpentier:</b> Bekämpning av jordflyn med hjälp av insektvirus — en slutrapport .....	138
<b>Hans-Börje Jansson:</b> Nematofaga svampar och biologisk kontroll av växtparasitära nematoder .....	146
<b>Einar Olofsson:</b> Biologisk bekämpning av skogsinsekter .....	152
<b>Ernesto Prado:</b> Försök med odling av de insektspatogena svamparna <i>Beauveria bassiana</i> (vitmögelsvamp), <i>Metarrhizium anisopliae</i> (grönmögelsvamp) och <i>Metarrhizium flavoviride</i> .....	156
<b>Ernesto Prado:</b> Bekämpning av örönvivelarver ( <i>Otiorrhynchus sulcatus</i> ) med hjälp av de insektspatogena svamparna <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarrhizium anisopliae</i> och <i>Metarrhizium flavoviride</i> .....	160

# Biologisk bekämpning: ett verkligt alternativ eller ett modeord?

Barbara Ekbohm, Inst. f. växt- o. skogsskydd, SLU, 750 07 Uppsala

Debatten förs på dagspressens familjesidor, politiska löften ges på Sergels torg och ropet hörs även i radio och TV — Sluta spruta på våra åkrar och skogar. Diskussionen är känsloladdad och den slutliga bedömningen av ekonomiska för- och nackdelar samt miljöaspekter måste därför bli ett politiskt beslut, som speglar de åsikter som råder i vårt samhälle. Men låt diskussionerna och besluten grunda sig på saklig information och en sansad vägning av alternativen och deras konsekvenser. Ett alternativ som ofta nämns när kravet på ett förbud mot kemiska bekämpningsmedel förs fram är användning av biologisk bekämpning. Men vad betyder dessa ord? Vad innebär genomförandet av ett biologiskt bekämpningsprogram? Är biologisk bekämpning en verklig lösning på bekämpningsmedelsproblematiken eller enbart det senaste i en lång rad obegripliga och meningslösa ord som vi använder för att slippa konkretisera? Min avsikt är inte att övertyga eller försvara. Jag vill definiera och analysera begreppet biologisk bekämpning för att kunna vidga dagens diskussion.

Biologisk bekämpning, om det kan betraktas som en godtagbar översättning av det engelska »biological control», betyder användning av naturliga fiender (parasiter, predatorer och mikroorganismer) för bekämpning av skadegörare. Begreppet som det används i boken *Biologisk bekämpning av skadedjur* (LT förlag 1979) omfattar däremot alla tänkbara alternativ till kemisk bekämpning. Andra termer som också strövs ut i besprutningsdiskussionen såsom integrerad

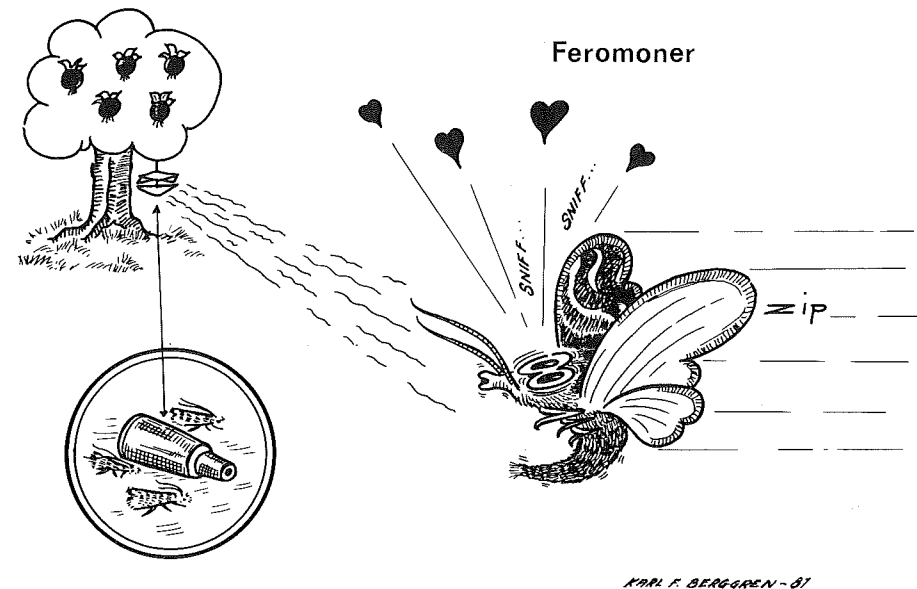
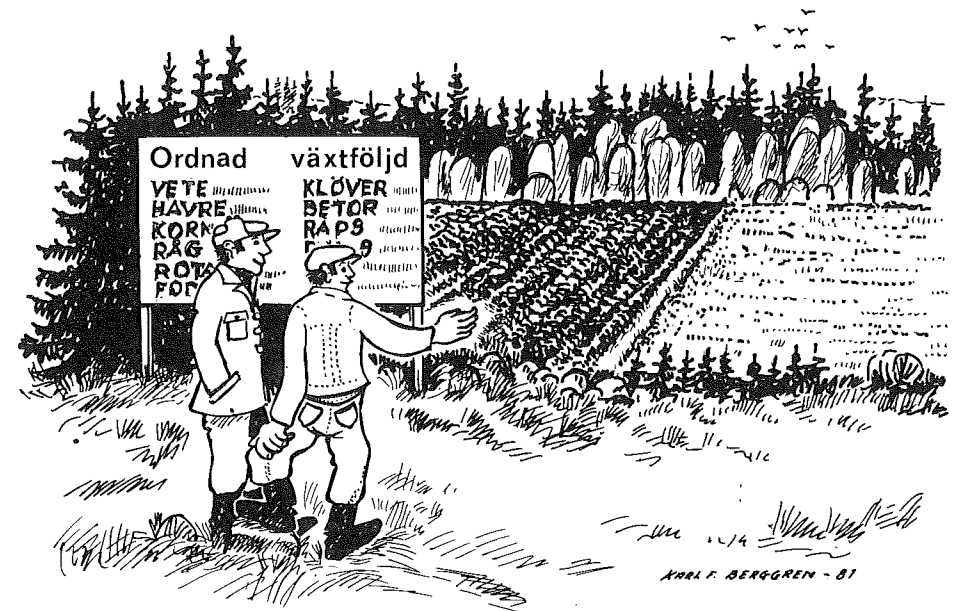
bekämpning, minimerad bekämpning och det engelska »pest management» accepterar kemisk bekämpning som något nödvändigt ont. Jag skall fortsättningsvis använda termen biologisk bekämpning i den vida bemärkelsen dvs. alla alternativ till kemisk bekämpning, medan klassisk biologisk bekämpning enbart står för användning av naturliga fiender för bekämpning av skadegörare.

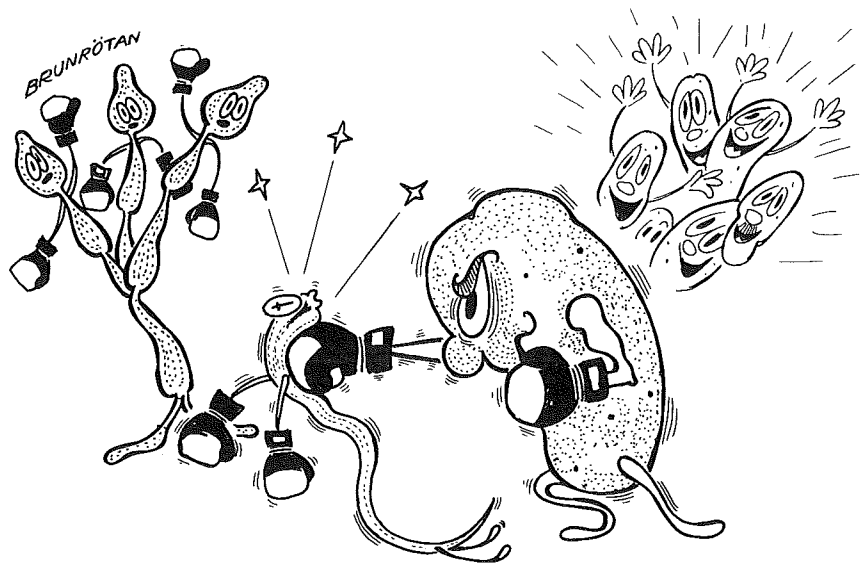
## Aktuella alternativ

Det finns många teoretiska alternativ till kemisk bekämpning och dessa finner man redovisade i en mängd olika skrifter (t.ex. *Theory and practice of biological control*, eds Huffaker och Messenger, Academic Press 1978). I följande sammanställning har jag tagit med de mest aktuella biologiska bekämpningsmetoderna.

1. Odlingstekniska åtgärder (t.ex. ändring av växtföljd, ändring av tiden för sådd alt. skörd).
2. Användning av kemiska analoger till naturligt förekommande substanser (ett mycket aktuellt exempel är doftämnen eller feromoner som insekter använder som kommunikationsmedel).

Man anser att dessa ämnen är användbara som bekämpningsmedel. Men i motsats till de andra exemplen på biologiska bekämpningsmetoder finns det inga klart lyckade försök med användning av kemiska analoger typ doftämnen (feromoner) för bekämpning. I många fall är även de kemiska kunskaperna om dessa ämnen mycket





### Resistens

mer utvecklade än kunskaperna om deras betydelse för insektens beteende.

3. Växtförädling, användning av resistens eller motståndsmekanismer hos värdväxter (ett lyckat och aktuellt exempel är resistenta potatissorter mot vissa skadegörare som potatiscystnematod och brunröta).
4. Klassisk biologisk bekämpning (t.ex. rovkvalstret *Phytoseiulus persimilis* brukas mot växthuspinnkvalstret och parasiten *Encarsia formosa* bekämpar växthusvita flygaren i många svenska växthus).

Däremot finns det inget lysande exempel på användning av mikroorganismer för bekämpning. Många försök har gjorts och det finns några preparat på de utländska marknaderna. Men det finns de som ställer sig tveksamma till dessa med hänsyn till miljöaspekten. Preparaten har vidare ej visat sig alldeles tillfredsställande ur bekämpningssynpunkt och allmän spridning av mikropatogener kan uppfattas som något riskfyllt.

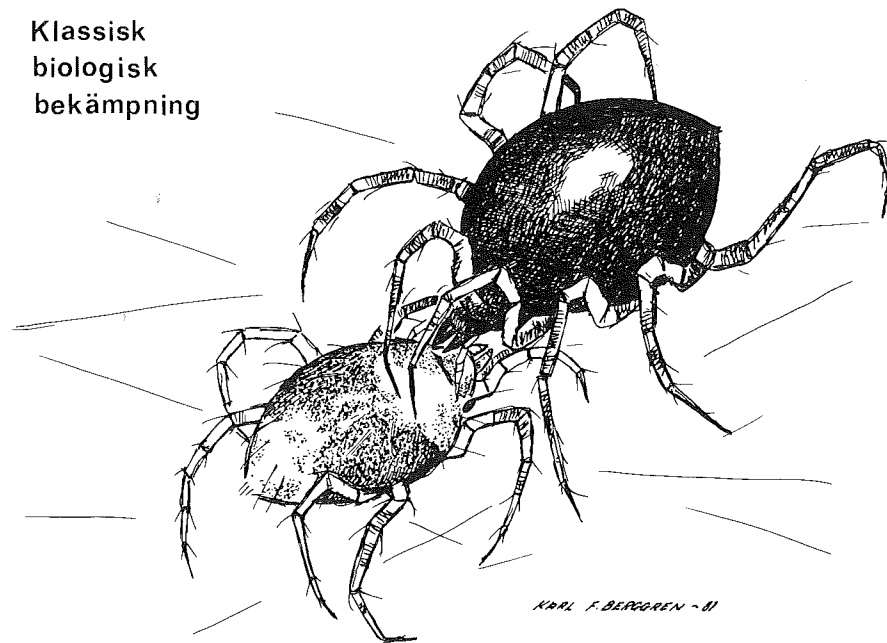
KARL F. BERGGREN - 81

### Dagsläget för biologisk bekämpning

Växtskyddsfolk har det inte lätt. Man sliter och drar åt alla håll. Miljökrav fordrar att de tar hänsyn till de långsiktiga effekterna av deras bekämpningsåtgärder, ekologer och andra grundforskare vill att de skall strukturera sina beslut och lösningar efter populationsdynamiska principer och själva vill de effektivt kunna bekämpa skadegörare.

Klassisk biologisk bekämpning har lyckats i ungefär en fjärdedel av alla försök. Det kanske inte låter speciellt lysande, men jämför man med det faktum att för varje kemiskt bekämpningsmedel som kommer till användning har man testat ungefär 5.000 kandidater. Biologisk bekämpning är också en billig metod. Effektiviteten per satsad krona är cirka 6 gånger högre med biologisk bekämpning jämfört med kemisk bekämpning (Pimentel, D. 1965. Restoring the quality of our environment. I: Presidents

### Klassisk biologisk bekämpning



KARL F. BERGGREN - 81

Science Advisory Committee 1965).

Visst är biologisk bekämpning bra och billig när den väl fungerar. Men det är bara genom mångåriga erfarenheter som man har kunnat genomföra vissa odlingstekniska åtgärder som minskar en skadegörarens betydelse. Man har lyckats få den rätta genetiska kombinationen för värdväxtresistens mot en del skadegörare men enbart som resultat av en tids- och kostnadskrävande screening av många olika sorter och korsningar av växtmaterial.

Naturliga fiender till många skadedjur som har upptäckts efter ett mödosamt letande i många världsdelar har fungerat som utmärkta bekämpningsmedel. Men de flesta fall av lyckad biologisk bekämpning beror nog mer på tur och »trial and error» än på en precis vetenskaplig metod.

Men vad skall vi göra när tur, teori och hårt arbete inte har kunnat peka ut den rätta lösningen till ett aktuellt skadegörarproblem? Hur kan vi utnyttja eventuella lösningar till enskilda problem när situationen i fältet oftast

är ett komplicerat samspel av flera skadegörare? Sprutan finns som en lösning till många växtskyddsproblem av skilda typer, men att utnyttja flera olika naturliga fiender, växtsorter och odlingstekniska åtgärder kräver inte bara mera kunskaper men också en annorlunda attityd till växtskydd där rådgivning spelar en framträdande roll.

Vi måste veta mera om hur skadegörarna påverkar och påverkas av sin omgivning. Om det inte föreligger någon biologisk bekämpningsmetod att pröva, måste inträngande studier av skadegörarnas miljö och ekosystem göras. Om en biologisk bekämpningsmetod är tillgänglig är fleråriga studier nödvändiga för att utveckla och förfina utsläpps- och etableringsmetoder och därefter skall intensiv utbildning och rådgivning till för att metoden skall lyckas.

Vid bekämpning på fält av skadegörare på ettåriga grödor lämpar sig inte utsläpp av laboratorieodlade naturliga fiender lika väl som i växthus

med relativt begränsade arealer eller fleråriga kulturer såsom fruktträd där en långsiktig etablering av naturliga fiender kan ske.

Under fältförhållanden måste vi försöka reda ut de mekanismer som under en kort tid styr skadegörarens populationstillväxt. Vilka naturliga förekommande fiender och andra miljöfaktorer kontrollerar skadegöraren under naturliga förhållanden? Vilka faktorer hos själva skadegöraren, såsom fysiologiska mekanismer, eller i relationer mellan värdväxtskadegörare är viktiga för skadegörarens utveckling? Vad kan vi göra för att förutse gynnsamma situationer för skadegörarens tillväxt och omvandla dem till tillväxthämmande situationer? Svaren på dessa frågor innebär tids- och kostnadskrävande studier av ekosystemet. Biologiska baskunskaper saknas i många fall och ekologiska teorier har ännu inte på ett tillfredsställande sätt kunnat förklara hur skadegörarpopulationer utvecklas, vilket skulle kunna leda till mer konkreta undersökningar vad beträffar biologisk bekämpning. Tidsperspektivet för sådana ekologiska studier räknas i 10-tals år.

Växtskyddsfolk måste tänka kortsiktigt inför varje odlingssäsong, det är deras jobb att försöka minska den ekonomiska skadegörelsen. Men får de

möjlighet att i samarbete med forskare på alla nivåer utbyta kunskaper och erfarenheter om odlingsekosystemet kommer tillfredsställande, långsiktiga lösningar till växtskyddsproblemen växa fram och biologisk bekämpning kan bli en realitet.

Stödjer vi inte våra forskare och vårt växtskyddsfolk och har förståelse inför tidsperspektiven i deras ansträngningar att minska användningen av kemiska medel, blir biologisk bekämpning bara ett annat modeord som glöms bort när debatten väl har lagt sig.

Intryck från följande artiklar har varit kunskaps- och inspirationskällor inför dessa funderingar:

#### Litteratur

van Lenteren, J. C., 1980. Evaluation of control capacities of natural enemies: does art have to become science? *Netherlands Journal of Zoology* 30(2): 369—381.

Wellington, W. G., 1977. Returning the insect to insect ecology: some consequences for pest management. *Environmental Entomology* 6(1): 1—8.

Geier, P. W. & Clark, L. R., 1978/79. The nature and future of pest control: production process or applied ecology? *Protection Ecology* 1: 79—101.

(Manus inkom 27 oktober 1980)

EKBOM, B., 1980. Biological Control: a real alternative or a phrase in vogue. *Växtskyddsnotiser* 44(6), 130—134.

A discussion of pest control methods which present alternatives to chemical treatment has become an important part of the current debate on the use of chemicals in our environment. This article tries to define and analyze the concept of biological control and the feasibility of alternative methods in practice. The need for ecological studies of agroecosystems in developing new biological control programs is emphasized. The importance of an understanding of the time and money involved in such research is also discussed.

## Minerarflugor (Fam. *Agromyzidae*) i växthus — *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach), *L. trifolii* (Burgess) och *Phytomyza syngenesiae* (Hardy)

Barbro Nedstam, Inst. för växt- och skogsskydd, SLU, 230 53 Alnarp

Minerarflugpopulationer hålls normalt på en låg och ur växtproduktions-synpunkt obetydlig nivå av parasiterande steklar. Om parasiteringen av någon anledning uteblir under en odlingssäsong, orsakar flugornas stora reproduktionspotential att angreppet lätt överskrider den ekonomiska skadetröskeln. Sådana störningar kan uppkomma naturligt t.ex. av extrema klimatförhållanden vid övervintringen av steklarna, men vanligare är att stekelpopulationer slås ut av insekticider. Om dessa samtidigt har dålig effekt mot minerarflugorna kan angreppet vara ett faktum (Spencer, 1973). I engelsk växthusodling började man just av detta skäl få problem med *L. bryoniae* i tomat när DDT togs i bruk på 40-talet (Speyer and Parr, 1948).

I Sverige räknades av minerarflugorna endast *P. syngenesiae*, krysanthemumflugan, som skadedjur i växthus fram till 1976 då *L. bryoniae* orsakade svåra skador i flera gurk- och tomatkulturer (Gustafsson och Jönsson, 1977). Detta plötsliga uppträdande kan ha berott på att populationen utomhus var ovanligt stor vid mitten av 70-talet samtidigt som förhållandena inuti växthusen blivit gynnsamma — rutinen med ångning var så gott som försvunnen och biologisk bekämpning av vita flygare och spinnkvalster ökade kraftigt.

Sommaren 1980 noterades de första angreppen av *L. trifolii* i landet. Det gällde två krysanthemumodlingar som importerat sticklingar från Afrika



(Nedstam, 1980a). Denna art betraktas som det svåraste skadedjuret på krysanthemum i USA (Spencer, 1973), och kan även angripa ett flertal köksväxter (Miller, 1978).

#### Parasitering i växthus

*L. bryoniae* och *P. syngenesiae* är inhemska arter, som även när de uppträder i växthus lätt attackeras av parasitsteklar från omgivande vegetation, såvida inga besprutningar utförs. Minerarangrepp i köksväxter under glas som börjar först fram på sommaren kräver alltså normalt ingen åtgärd, förutsatt att biologisk bekämpning används mot övriga skadedjur (Hendrikse *et al*, 1980). I krysanthemum tolereras inte skador på bladen vid försälj-

ningen, varför kemisk bekämpning är oundvikligt.

Följande parasitsteklar har hittills påträffats vid insamlingar i sydsvenska växthus:

Parasiterande *L. brynoiae*, endoparasiter: *Dacnusa sibirica* Tel. och *Opius pallipes* Wesm. (Braconidae).

Ektoparasiter: *Diglyphus chabrias* (Walk.), *D. isaea* (Walk.) och *Pnigalio soemius* (Walk.) (Eulophidae).

Parasiterande *P. syngenesiae*, endoparasiter: *Dacnusa areolaris* (Nees), *D. sibirica* samt *Chrysocharis idyia* (Walk.) (Eulophidae).

Ektoparasiter: *Diglyphus isae* (Walk.), *Pnigalio soemius* (Walk.).

I odlingar av gurka och melon, där steklar uppträtt spontant och bringat ned angrepp av *L. bryoniae*, har nästan enbart *Dacnusa sibirica* förekommit. Några försök har utförts med introduktion av *D. sibirica* i växthus med tidiga minerarangrepp och i avsikt att avspontanera parasitering. Dessa utföll positivt i gurkodling men negativt i tomat (Nedstam, 1980b). I ett obehandlat tomatthus med egen stekelförekomst, övervägde en av de ektoparasitära, *Pnigalio soemius*.

### Biologisk bekämpning — ett alternativ för praktisk odling?

Redan på 60-talet provade man i England att använda *Diglyphus isaea* mot *Phytomyza syngenesiae* (Scopes and Gurney, 1969). I Canada pågår fleråriga undersökningar med olika parasitsteklars effekt på *Liriomyza sativae* Blanchard i tomatodling (Mc Clanahan, 1980). Nederländska försök ledde 1980 till att produktion och introduktioner av *Dacnusa sibirica* och *Opius pallipes* mot *L. bryoniae* togs upp i kommersiell skala av firma Koppert te Berkel. Steklarna levereras nu i

artblandning för bästa effekt. *O. pallipes* har befunnits äga bättre sökförmåga vid låg populationstäthet hos minerarflugan (begynnande angrepp), medan *D. sibirica* av flera anledningar är den effektivare vid högre populationstäthet (Hendrikse *et al.*, 1980). Dessa endoparasitära arter är väl lämpade för transport och övrig hantering då de ligger inneslutna i flygpuppariet. Ektoparasitära steklar vore ur denna aspekt mindre lämpade för biologisk bekämpning.

Angrepp av minerarflugor börjar ofta redan vid kulturstarten. Antingen kommer några minor med plantorna eller finns det övervintrande puppor i huset. I det första fallet kan man sällan räkna med att få parasitsteklar »på köpet», i det senare är det troligt att även steklarna övervintrat om minerarna varit parasiterade hösten innan. Kemisk sanering kan dock leda till att steklarna försvinner men enstaka flugor blir kvar. Deras avkomma hinner sedan under vårmånaderna orsaka så stora skador, att det blir praktiskt ogörligt att vänta på hjälp av steklar utifrån under sommaren. Det samma gäller givetvis om man råkat få angreppet med plantmaterialet. Tidiga utsättningar av blandningen *D. sibirica/O. pallipes* skulle i dessa fall vara en lösning, förhoppningsvis även för tomatodling. De goda nederländska erfarenheterna av denna form av biologisk bekämpning grundar sig ju enbart på försök i tomat. Det är endast i Sverige som det är vanligt att *L. bryoniae* skadar gurka och melon.

Användningen av parasitsteklar mot *L. bryoniae* i köksväxter är bara möjlig om inga insektsmedel används mot andra skadedjur. Även vissa acaricider (ex. dicofol) och fungicider (ex. pyrazofos) är skadliga för parasitsteklar (Franz *et al.*, 1980). Eftersom tomat på det hela taget är mindre utsatt för skadegörare än gurka, bör

biologisk bekämpning av minerare i tomatodling kunna bli ett bra alternativ.

För krysanthemumodlingens del är situationen annorlunda. Kemisk bekämpning kommer att vara allena-rådande tills man får problem med resistent skadedjur som inte kan lösas med nya preparat. Den relativt svår-bekämpade *L. trifolii* kan, om den blir etablerad här, komma att accelerera en sådan utveckling genom intensifierad insekticidanvändning. Risken finns att arten också sprider sig till tomat och andra köksväxter, vilket varit fallet i England, där man dock för tillfället verkar ha angreppen under kontroll (Royle, 1980).

Skulle det gå därhän att vi får *L. trifolii* som ytterligare ett skadedjur i köksväxtodling, så finns ju alltid möjligheten att prova biologisk bekämpning — antingen med parasitsteklar från våra inhemska minerarflugor eller med dess egna steklar importerade från USA.

### Litteratur

Franz, J. M., Bogenschütz, H., Hassan, S. A., Huang, P., Naton, E., Suter, H. & Viggiani, G., 1980. Results of a joint pesticide test programme by the working group: Pesticides and Beneficial Arthropods. *Entomophaga* 25(3): 231—236.

NEDSTAM, B., 1981. Leaf-miners (Diptera: *Agromyzidae*) in glasshouses. — *Växtskyddsnotiser* 44(6), 135—137.

Possibilities for biological control of leaf-miners in protected cultivation are discussed and species of parasitic wasps found on *Liriomyza bryoniae* and *Phytomyza syngenesiae* are mentioned. The first attacks of *L. trifolii* in Sweden have been registered 1980.

Gustafsson, I. & Jönsson, P., 1977. Gurka och tomat angrips av bladminerflugor. *Viola Trädgårdsvärlden* 10 november 1977.

Hendrikse, A., Zucchi, R., van Lenteren, J. C. & Woets, J., 1980. *Dacnusa sibirica* Telenga and *Opius pallipes* Wesm. (Hym. Braconidae) in the control of the tomato leaf-miner *Liriomyza bryoniae* Kalt. *Bull. S.R.O.P./W.P.R.S.* 1980 III/3: 83—98.

Mc Clanahan, R. J., 1980. Biological control of *Liriomyza sativae* on greenhouse tomatoes. *Ibid.*: 135—140.

Miller, G. M., 1978. *Liriomyza* spp and other American leafminer pests associated with chrysanthemums. *EPPO Publications, series C* No 57: 28—33.

Nedstam, B., 1980a. Farlig insekt nu i Sverige. *Viola Trädgårdsvärlden* 20 november 1980.

Nedstam, B., 1980b. Biologisk bekämpning av minerarflugor med parasitsteklar i växthus. *Nord. Plantevern Konf.* 1980: 123—126.

Royle, D., 1980. Now *Liriomyza* moves in on vegetable crops. *Grower*, Nov. 6 1980, p. 7.

Scopes, N. E. A. & Gurney, B., 1969. Biological control of chrysanthemum leaf-miner. In *Ann. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.* 1969: 107—108.

Spencer, K. A., 1973. *Agromyzidae* (Diptera) of Economic Importance. *Series Entomologica Vol. 9.* Dr W. Junk B. V., Haag.

Speyer, E. R. & Parr, W. J., 1948. Tomato Leaf-miner (*Liriomyza solani* Her.). *Rep. Exp. Res. Stn, Cheshunt* 1948, 34: 43—51.

(Manus inkom 2 januari 1981)

# Bekämpning av jordflyn med hjälp av insektvirus — en slutrapport

Reinhold Charpentier<sup>1)</sup>, Zoologiska institutionen, Lunds universitet, 223 62 Lund

## Bakgrund

Jordflylarver åsamkar vissa år mycket svåra skador inom den sydsvenska grönsaksodlingen. Den ekonomiskt mest betydelsefulla arten torde vara sädesbroddflyet, *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum*. I hela Gamla Världen är denna art den kanske allra skadligaste noctuiden — 1975 orsakade den skador för minst 35 miljoner kr enbart i Danmark. Den bekämpas vanligtvis med bredverkande kemiska insekticider (t.ex. parathion). Med hänsyn till nyttofaunan och till förgiftningsriskerna är detta olämpligt, och alternativa metoder är därför i hög grad önskvärda. Av särskilt intresse är därvid biologisk bekämpning med hjälp av insektvirus.

Såväl flera granulärvirus som kärnpolyedervirus och cytoplasmapolyedervirus har beskrivits från sädesbroddflyet. Dessutom kan insekten angripas av mikrosporidier, bakterier och svamp. Parasitsteklar synes däremot vara mindre betydelsefulla som fiender till sädesbroddflyet, åtminstone i de nordiska länderna.

Föreliggande projekt avsåg att närmare belysa möjligheterna att bekämpa sädesbroddflyet med dess egna värdespecifika virus.

## Beskrivning av projektarbetet, metodik

Ursprungligen planerades undersökningarna inkludera såväl *S. segetum* som den närstående *S. exclamationis*

(åkerjordflyet). Det visade sig emellertid snart fördelaktigast att begränsa arbetet till endast en art, varvid den viktigaste skadegöraren valdes (*S. segetum*).

En nödvändig förutsättning var utvecklingen av en teknik för kontinuerlig massodling av sädesbroddflyet på laboratoriet. En lämplig artificiell diet måste utarbetas, och vissa grundläggande data om insektens biologi måste insamlas. Först därefter kunde patogenitetstester påbörjas för att klarlägga effektiviteten hos virus, eventuella subletala effekter, betydelsen av dosering, temperatur, larvstadium m.m.

Jämsides med odlings- och prövningsarbetet utfördes fältförsök med granulärvirus samt försök att etablera cellkulturer från *S. segetum*. Dessutom inventerades ett antal vilda *S. segetum*-populationer med avseende på såväl den naturliga tarmfloran hos larverna som förekomsten av patogener.

Projektet bedrevs vid det insektpatologiska laboratoriet vid Lund universitets zoologiska institution. Under 1975 och 1976 ägnade sig två doktorander åt försök att odla jordflyn på artificiellt substrat respektive försök att etablera cellkulturer från jordflyn i vävnadsodling. Då de båda doktoranderna därefter erhöll tjänster på annat håll, måste cellodlingssidan läggas ner, och jag kom att ensam bedriva forskningsarbetet inom samtliga delprojekt med hjälp av två deltidsanställda laboratorieassistenter. Det planerade samarbetet med Lantbrukshögskolan i Köpenhamn (Charpentier m.fl. 1975,

Zethner och Charpentier 1975) blev tyvärr tämligen obetydligt, men jag passar här på att tacka agr. lic. O. Zethner för erhållna *S. segetum*-ägg och -granulärvirus, samt för *S. segetum*-larver i samband med en undersökning över tarmfloran (se Resultat: pkt 5).

Totalt har projektet kostat 916.316 kr. SNV har därvid bidragit med kr 519.236:— (anslag nr 7—5/76, 77, 78, dnr 500-649-75-F, 500-812-76-F, 500-727-77-F, 500-380-78-F), medan kr 397.080:— har erhållits från SJFR (dnr A 4222/B 3346; A 4879/B 3442, B 3576; A 4997/B 3569).

## Resultat

I det följande har endast sådana resultat medtagits, som baserar sig på statistiskt signifikanta skillnader (oftast  $P < 0,001$ ). De lineära sambanden har beräknats; för närmare uppgifter hänvisas till originalartiklarna.

### 1. Odling av *S. segetum*

Odling på konstgjorda dieter som utarbetats för andra fjärilar visade sig visserligen vara fullt möjlig (Sohm-Ekbom, 1977), men mortaliteten var mycket hög, utvecklingstiden för larver och puppor var lång och varierande, och äggproduktionen blev allt sämre. Genom införandet av dels en helt ny artificiell diet, baserad på potatis, dels en annorlunda odlingsteknik, eliminerades dessa olägenheter, så att sädesbroddflyet nu kan odlas nästan lika enkelt som bananflugor (Charpentier, 1980a). På den bästa dieten utvecklades 95% av tredjestadies-larverna till puppor, och vid 26°C inträffade förpuppningen  $29,20 \pm 2,95$  dygn efter äggkläckningen.

Totala antalet larvstadium var antingen 6, 7 eller 8. Antalet var förutbestämt redan i ägget (och varierar sannolikt geografiskt), men kunde påverkas av trängsel, diet och virus.

Förhållandet mellan huvudets bredd och larvstadiet följde enkla exponentialfunktioner.

Utvecklingen av varje larvstadium varierade med kön och totala antalet larvstadium, samt påverkades även av temperatur, diet och trängsel. Larverna attraherades av dieter med vitamin E men undvek dieter med invertsocker eller lecithin.

Pupptidens längd varierade med kön, diet, virusinfektion och temperatur; puppornas vikt med kön, diet, larvtidens längd och virusinfektion. Mängden kolesterol samt förhållandet mellan mängden askorbinsyra och linolja påverkade såväl puppornas antal och vikt, som pupptidens längd.

Hanfjärilar utvecklades oftast något snabbare än honfjärilar. Könskvoten var direkt proportionell mot pupptidens längd. Trängsel, hög temperatur och honung eller sukros i stället för glykos i fjärilsdieten minskade antalet fertila ägg. Under optimala förhållanden erhöles  $1198 \pm 478$  ägg per hona (max. 2738 ägg).

Fjärilarna odlades i mer än 30 generationer utan några påvisbara sjukdomssymptom.

### 2. Vävnadsodling

Preliminära försök ledde fram till ett medium där fibroblastliknande jordflyceller (från ovarialväv i puppora och från embryoner ur äggen) kunde hållas levande i upp till tre månader, dock utan mitoser.

### 3. Patogenitetstester

Av tillgängliga jordflyvirus har hittills endast ett västtyskt granulärvirus kunnat undersökas närmare (Charpentier, 1980b).

Metoder för renframställning och för laboratorieprövning av virus utarbetades.

Försök med förstastadies-larver visade, att mortaliteten var direkt och

<sup>1)</sup> Nuvarande adress:

Inst. för växt- och skogsskydd, SLU,  
230 53 Alnarp

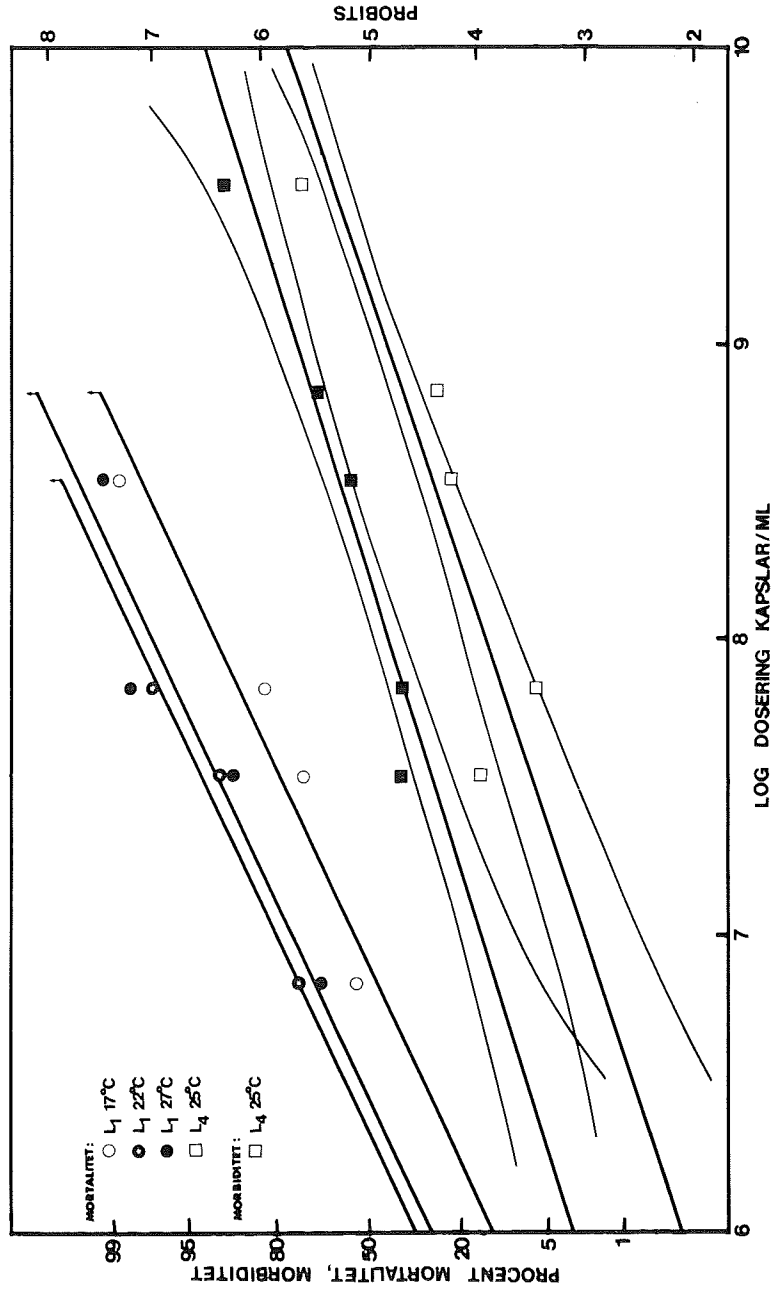


Fig. 1. *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum* som utsatts för olika koncentrationer av granulärvirus: Mortaliteten hos första-stadies-larver vid 17, 22 och 27°C (efter matning med virus); samt mortaliteten och morbiditeten hos fjärde-stadies-larver vid 25°C (efter doppning i virus). De kurvböjda linjerna anger 95% konfidsensgränser för de beräknade mortalitets- och morbiditetslinjerna för fjärde-stadies-larver. Pilarna anger 100% mortalitet. »Morbidityten» = antalet döda larver, döda puppor och kortvingade adulten i procent av det totala antalet insekter.

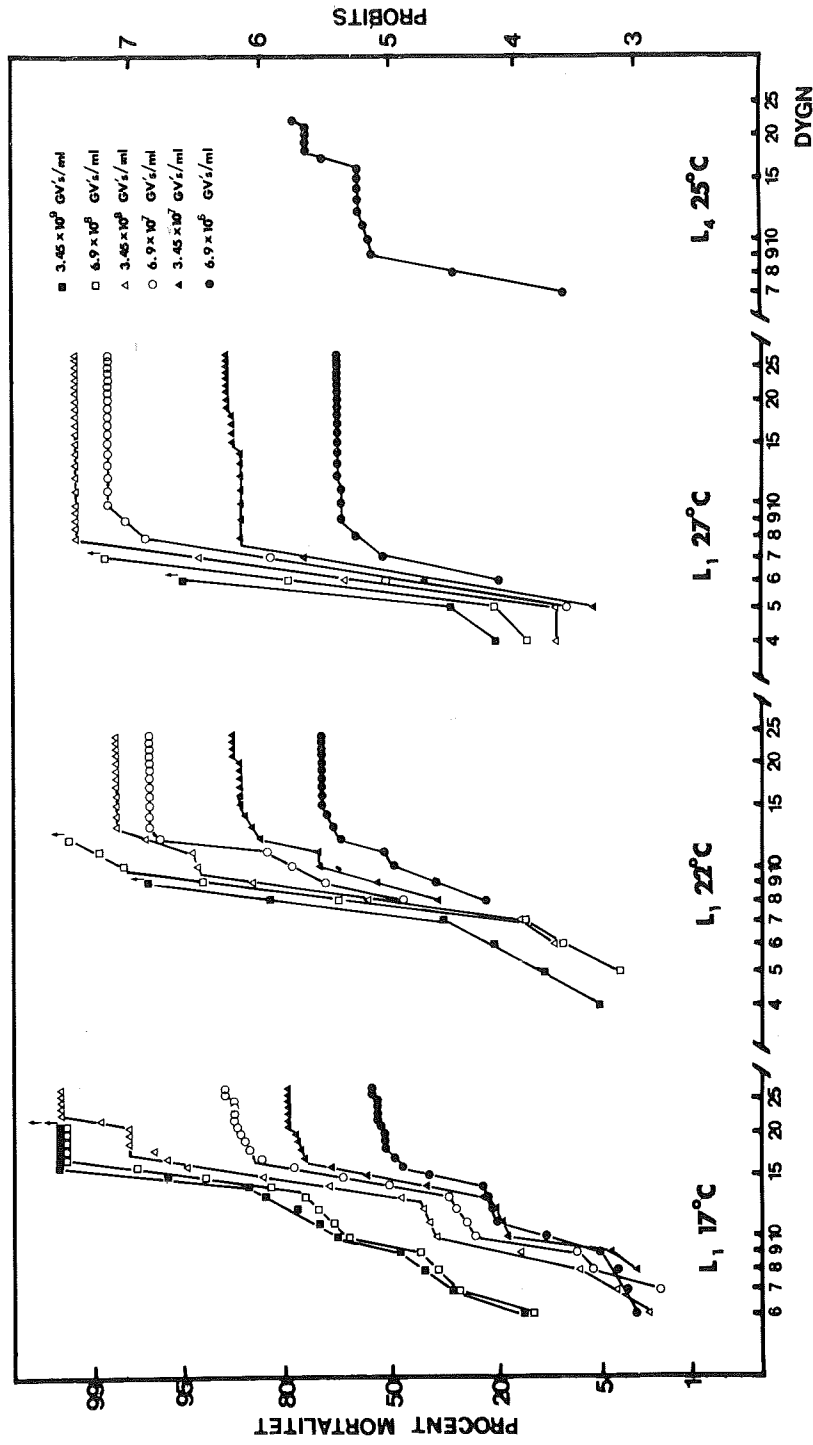


Fig. 2. Mortaliteten som funktion av tiden hos *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum*: Första-stadies-larver vid 17, 22 och 27°C efter matning med olika koncentrationer av granulärvirus; samt fjärde-stadies-larver vid 25°C efter doppning i virus. Pilarna anger 100% mortalitet.

letaltiden omvänt proportionell mot mängden av virus och mot temperaturen (Fig. 1 och 2). Vid höga temperaturer avtog dock mortaliteten: för 95% konfidensintervall låg den relativa aktiviteten hos virus vid 22 och 27°C 2,5—5,3 respektive 1,9—3,8 gånger högre än vid 17°C. Långvarig virus-exponering (liksom vid fältbruk) gav högre dödlighet än 48 timmars exponering.

Letaltiderna antydde heterogen reaktion hos larverna, vilken sannolikt berodde på att larverna var predestinerade för olika antal larvstadier (jfr pkt 1). De döda larvernas ålder (utvecklingsstadium) var omvänt korrelerad med virusmängden.

Försök med fjärdestadies-larver visade att larvernas utvecklingstid, harnarnas pupptid, puppornas vikt och kläckningsförmåga, samt antalet kortvingade fjärilar påverkades av subtala virusinfektioner.

#### 4. Fältförsök

Även i fält (rödbetor) var granulärvirus verksamt mot smålarver av sädesbroddflyn (Charpentier, 1978a, 1978b). Antalet gnagskador minskade signifikant vid samtliga prövade virus-koncentrationer.

#### 5. Inventering av mikroorganismer, associerade med *S. segetum*-larver

Av patogener påträffades bl.a. ett cytoplasmapolyedervirus, som möjligen hade en viss populationsreglerande effekt i fält (en giftfri salladsodling utanför Ängelholm). Preliminära laboratorieundersökningar visade också, att virusdrabbade larver utvecklades betydligt långsammare, genomgick 8 larvstadier (mot normalt 6 eller 7), och i allmänhet dog antingen som små larver eller vid förpuppningen.

Den naturliga bakteriefloran i mellantarmen hos friska larver från Dan-

mark undersöktes och gav följande resultat (Charpentier m.fl. 1978). Det totala antalet levande mikroorganismer i mellantarmen varierade mellan  $1,0 \times 10^4$  och  $4,0 \times 10^5$ . Larver från selleri (Själland) innehöll alltid *Streptococcus faecalis* tillsammans med sex Enterobacteriaceae-arter, nämligen *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris* och *Erwinia amylovora*. Larver från potatis (Jylland) innehöll genomgående *Streptococcus faecalis* och fyra arter Enterobacteriaceae, nämligen *Escherichia coli*, *Erwinia amylovora*, *E. carotovora* var. *atroseptica* samt ytterligare en *Erwinia*-art, troligen tillhörande *E. carotovora*-gruppen. *Streptococcus faecalis* har också rapporterats från två ryska undersökningar och tycks alltså vara konstant associerad med *S. segetum*.

### Slutsatser

#### 1. Odling av *S. segetum*

Projektet ledde till att ett behändigt system för odling av sjukdomsfria sädesbroddflyn nu finns tillgängligt. Det har sitt stora värde som testsystem inte bara för virus och insektpatogena svampar, rickettsier, bakterier och protozoer, utan också för nematoder och parasitinsekter. Även för t.ex. nutritiva och fysiologiska studier samt för insekticidforskning och feromonundersökningar torde det vara av stort värde. Sådana patogener, parasiter och predatorer som är beroende av jordflyn för sin utveckling kan nu massföroakas på ett enkelt sätt. Det är också möjligt, att vissa organismer (t.ex. bland protozoer, virus och parasitinsekter), vilka normalt angriper andra insekter som är småvuxna eller svårödlade, i stället lämpligen kan massframställas i de stora *S. segetum*-larverna. För vissa noggranna patogenitetsundersökningar kan det dock

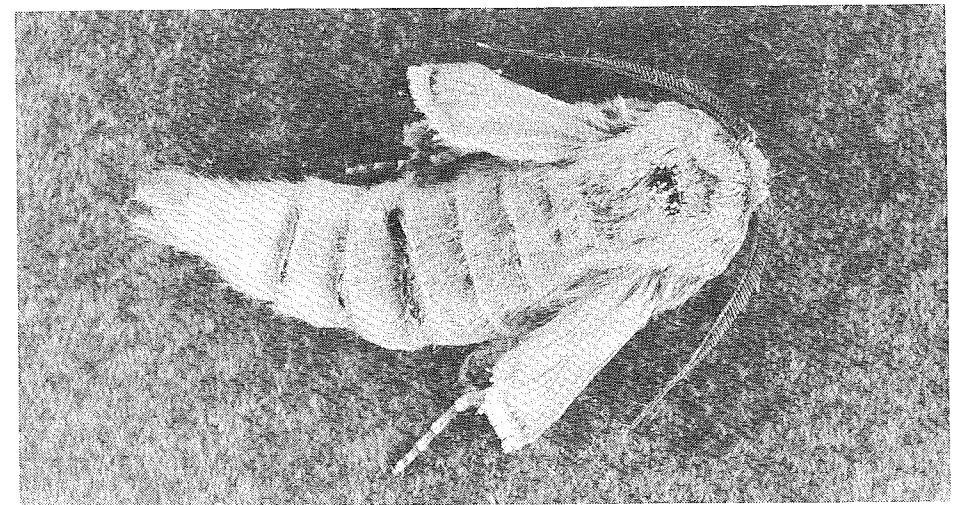


Fig. 3. Kortvingad hane av sädesbroddflyet, *Scotia* (= *Agrotis*) *segetum*, som överlevt behandling med granulärvirus under fjärdestadiet. Upp till 83% av överlevande fjärilar hade dylika missbildningar, vilket givetvis ytterligare ökar värdet av granulärvirus som bekämpningsmedel.

visa sig nödvändigt att renodla *S. segetum*-stammar med endast ett bestämt avtal larvstadier.

Troligen kan de artificiella dieterna utan att försämrings göras billigare (t.ex. genom att ersätta den dyra agarn med billigare produkter för solidifieringen). Detta kräver dock ytterligare forsknings- och utvecklingsarbete.

Erhållna data kring sädesbroddflyets biologi och näringskrav torde vara av särskilt intresse i samband med forskning kring bekämpning av skadeinsekten.

#### 2. Vävnadsodling

Försöken var endast preliminära och resulterade i ett vävnadsodlingssystem, som sannolikt kan användas för att på levande *S. segetum*-celler studera mera kortvariga intracellulära infektionsförlopp, eller testa inverkan av kemiska substanser. Då cellerna ej förökar sig, är det emellertid ej fråga om vävnadskulturer i traditionell bemärkelse (cellinjer), och systemet kan tyvärr ej användas för t.ex. massframställning av *S. segetum*-virus.

#### 3. Patogenitetstester

Försöken visade tydligt, att granulärvirus är verksamt mot *S. segetum*, även vid förhållandevis låga temperaturer. Smålarver dör jämförelsevis snabbt (efter 5,3—17,3 dygn, beroende på temperatur och virusmängd). Vid tillräckliga viruskoncentrationer dör 100% av larverna efter högst en hudömsning — dvs. utan att hinna skada grödorna. Äldre larver är mera motståndskraftiga — främst beroende på att de är större — men påverkas ändå av virus. Bland annat ger många överlevande larver upphov till missbildade (kortvingade) fjärilar, (åtminstone på artificiell diet) vilket måste leda till minskad parningsfrekvens och därmed begränsad förökning. Som biologiskt bekämpningsmedel är sädesbroddflyets granulärvirus därför av värde inte bara genom att direkt döda larverna, utan även genom att leda till reproduktionsstörningar.

Målet med patogenitetsundersökningarna var att i ett första steg utreda vilken av alla tillgängliga virusstammar som är den mest effektiva, och om



eventuella kombinationer kan vara överlägsna. Först därefter kan en satsning på bekämpning med virus vara ekonomiskt försvarbar.

I brist på anslag efter budgetåret 1978/79 har jag emellertid tvingats överge projektet, och därmed hänger de utförda testerna i luften. Projektets begränsade tidsram gjorde det nödvändigt att använda en infektionsteknik som bäst lämpar sig för jämförande studier mellan olika virus. Kvantitativa data, som t.ex. minsta mängden förtärt virus som kan döda en larv, skulle krävt en betydligt mer långvarig undersökningsteknik.

För renframställning av virus användes en tämligen komplicerad laboratorieteknik. För framställning i större skala behövs en enklare teknik. En sådan skulle säkert också kunna utvecklas, t.ex. genom införande av zonalcentrifugering, vissa kemiska fällningsprocesser, baktericider m.m. En industriell virusprodukt för insektbekämpning får naturligtvis inte innehålla några humanpatogener, men den behöver knappast heller ha lika stor renhetsgrad som eftersträvat i laboratorieundersökningarna.

#### 4. Fältförsök

Utomhusförsöken visade klart att granulärvirus kan ge god bekämpningseffekt även i fält. Emellertid var det en laboratoriestam av sädesbroddflyet som testades, och undersökningarna bör därför kompletteras med mera traditionella fältförsök i naturligt infesterade grödor.

#### 5. Inventering av mikroorganismer, associerade med *S. segetum*-larver

Förekomsten av cytoplasmapolydervirus hos *S. segetum* i Sverige är intressant. Patogenitetstester borde utföras på detta virus, och eventuell synergistisk verkan i samband med bekämp-

ning med granulärvirus borde undersökas.

Den konstanta förekomsten av *Streptococcus faecalis* i tarmfloran hos *S. segetum*-larver antyder, att bakterien har en symbiontisk funktion. Troligen är det dess bakteriolytiska verkan gentemot gram-positiva bakterier som är till fördel för sädesbroddflyet. Förekomsten av *S. faecalis* kan därför vara en av orsakerna till sädesbroddflyets resistens mot gram-positiven *Bacillus thuringiensis* (ett välkänt biologiskt bekämpningsmedel mot fjärilar).

Förekomsten av *Erwinia amylovora* i marklevande jordflylarver från både Jylland och Själland har sitt intresse därför att bakterien orsakar s.k. fire blight («påronbränna») på bl.a. påron, en sjukdom som nyligen spritt sig till Danmark.

#### Slutord

Man kunde tycka, att det i vår miljömedvetna tid vore en självklarhet, att vi satsade rejält på forskning kring alternativa bekämpningsmetoder. Tack vare bidrag från främst SJFR, SNV och NFR i samband med olika insektpatologiska forskningsprojekt har under den gångna 10-årsperioden också ett insektpatologiskt laboratorium kunnat upprustas vid Lunds universitets zoologiska institution. Det är det enda i sitt slag i Norden. Kostnaden för nyanskaffning av den där befintliga utrustningen torde i dag uppgå till närmare 1 miljon kronor. Det har emellertid visat sig omöjligt att tillskapa några fasta forskartjänster. Denna omständighet samt det faktum att ingen av de anslagsbeviljande myndigheterna ansett sig kunna stödja fortsatt insektpatologisk forskning under innevarande budgetår har medfört, att det insektpatologiska laboratoriet nu måste läggas ner, och att jag själv tvingas övergå till annan verksamhet. Förhållandet är desto mera att be-

klaga, som det drabbar ett dynamiskt forskningsområde, där de tillämpade aspekterna inte bara berör den svenska miljön, utan kan vara av globalt intresse för livsmedelsförsörjningen.

#### Litteratur

- Charpentier, R., Ekbohm, B. och Zethner, O., 1975: Mikrobiologisk bekämpning av jordflyn — ett gemensamt dansk-svenskt forskningsprojekt. *Växtskyddsnotiser* 39: 18—21.
- Charpentier, R., 1978 a. Virus mot jordflylarver (*Scotia segetum*) — ett laboratorieförsök i fält. *Växtskyddsnotiser* 42: 34—40. — 1978 b: Granulosis virus against turnip moth larvae (*Scotia segetum*) — a laboratory trial in the field. *Abstr. XIth Ann. Meet. Soc. Invertebr. Pathol., Prague*: 18.

Charpentier, R., Charpentier, B. och Zethner, O., 1978: The bacterial flora of the midgut of two Danish populations of the turnip moth, *Scotia segetum*. *J. Invertebr. Pathol.* 32: 59—63.

Charpentier, R., 1980a: Rearing and biology of *Scotia (= Agrotis) segetum* Schiff. (Lepidoptera: (Noctuidae) on artificial diets. *Zoon* 7(2). — 1980b: Bioassay of a granulosis virus of the turnip moth, *Scotia (= Agrotis) segetum*. Manuskript för *Invertebr. Pathol.*

Sohm-Ekbohm, B., 1977: A method for rearing *Agrotis (Scotia) segetum* Schiff. and *Agrotis (Scotia) exclamationis* L. (Lep., Noctuidae) on an artificial diet. *Ent. Tidskr.* 98: 103—106.

Zethner, O. och Charpentier, R., 1975: Mikrobiologisk bekaempelse af knoporme — et dansk-svensk forskningssamarbejde. *Ugeskr. f. Agronomer og Hortonomer* 1975 nr 4: 60—62.

(Manus inkom i januari 1980)

CHARPENTIER, R., 1980. Cut worm control with insect virus — a final report. *Växtskyddsnotiser* 44(6), 138—145.

The purpose of the project was to develop methods for virological control of the turnip moth, *Scotia (= Agrotis) segetum*. First, a method was developed for rearing the insect on artificial diets, and several biological, biometrical and nutritional investigations were performed. Preliminary assays with tissue cultures showed that fibroblast like cells could be kept alive for up to three months (without mitoses). A cytoplasmic polyhedrosis virus was isolated, and its influence on the larvae was preliminary studied. The normal gut flora of two Danish larval populations always contained *Streptococcus faecalis* (mutualist) and *Erwinia amylovora*. Methods for propagation, purification and bioassay of a granulosis virus were developed. Mortality was directly and lethal time was inversely related to virus concentration and to temperature. Virus was active even at 17°C (the lowest temperature tested). Larval period to population, duration of male pupal period, weight of pupae, moth emergence from surviving pupae and number of malformed adults were all affected by virus. The efficiency of the virus was confirmed by field tests. Granulosis virus against the turnip moth is recommended for biological control, because it kills early-instar larvae rapidly (LT<sub>50</sub> = 5—17 days, depending on temperature and virus dosage), and sublethal doses lead to reduced reproduction of the moths.

# Nematofaga svampar och biologisk kontroll av växtparasitära nematoder

Hans-Börje Jansson, Lunds universitet, Avdelningen för Mikrobiologisk ekologi, Ekologihuset, Helgonavägen 5, 223 62 Lund

Nematoder hör till de vanligast förekommande markdjuren, även om de flesta nematodarter lever i vatten. Det stora flertalet jordnematoder lever på bakterier och organiskt material i marken. Några hundra arter är dock växtparasitära och många av dessa orsakar stora skador i lantbruk och trädgårdsnäring. Exakta uppgifter om storleken av nemtodskador på växter är svåra att finna. En drygt 10 år gammal amerikansk undersökning visade på en genomsnittlig skördeförlust på ca 10% för 30 växtslag i amerikanskt jordbruk. I Sverige orsakar nematoder säkerligen skador för åtskilliga miljoner kronor årligen.

Man har sedan flera årtionden tillbaka undersökt möjligheten att använda nematodernas naturliga fiender för att kontrollera de växtparasitära arterna. De mest kända av dessa nematodantagonister är de nematofaga (nematodätande) svamparna.

## Nematofaga svampar

De nematofaga svamparna är mikrosvampar och förekommer allmänt i de flesta jordar. Man har funnit dessa svampar i såväl åkerjordar, som i skogs- och trädgårdsjordar. Idag känner man till cirka 150 olika arter av nematofaga svampar. De kan delas upp i två grupper, baserat på sättet att angripa nematoder: *nematodfångande* och *endoparasitära* (Barron 1977, Nordbring-Hertz & Jansson 1978).

De nematodfångande svamparna har speciella fångstorgan med vilka nematoder fångas (se fig. 1 och 2).

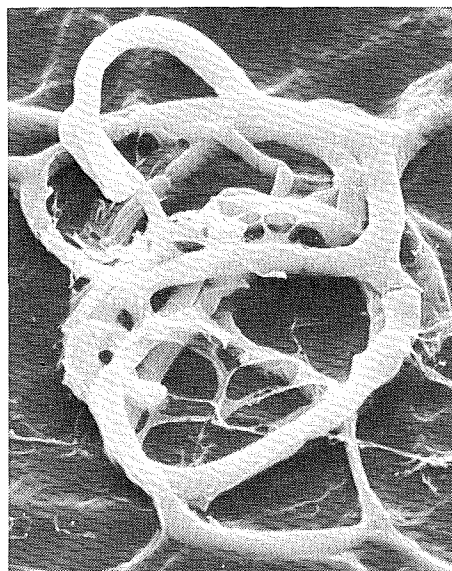


Fig. 1. Fångstorgan av typen »sticky network» hos den nematofaga svampen *Arthrobotrys oligospora*. Så snart en nematod vidrör ett fångstorgan fastnar den i ett »klistre» och efter någon timme börjar svampen växa in i nematoden och konsumera den. Fångstorganet är ca 40  $\mu$ m. Bild: B. Nordbring-Hertz och F. Larsson.

Fångstorganen kan vara av den klibbiga typen där nematoderna fastnar i ett »klistre» så snart de vidrör fångstorganet. Det förekommer även fångstorgan med mekanisk funktion, t.ex. små ringar som, när en nematod kommer in i ringen, mycket snabbt sväller och klämmer fast nematoden. Efter att nematoden fångats, sitter den obönhörligt fast och kämpar en kort stund innan den dör. Inom en timme efter fångsten har svampen via fångst-

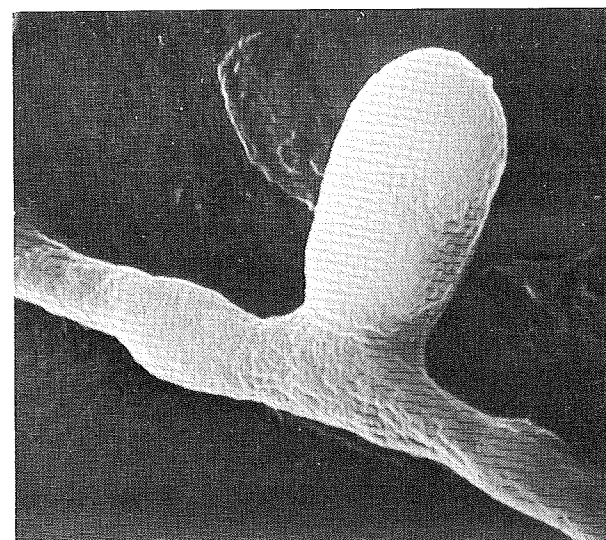


Fig. 2. Fångstorgan av typen »sticky branches» hos den nematofaga svampen *Monacrosporium cionopagum*. Fångstorganet är ca 6  $\mu$ m långt. Bild: B. Nordbring-Hertz och F. Larsson.

organet trängt in i nematoden och konsumerat den genom att svamphyfer växer inne i nematoden. Efter ett dygn är nematoden helt fylld av svamphyfer.

De nematodfångande svamparna är relativt goda saprofyter och klarar sig ganska bra utan nematoder som näringskälla. För att kunna tillgodogöra sig nematoder som föda krävs att svamparna bildat fångstorgan. Nematoderna själva stimulerar bildningen av fångstorgan. Det finns inom den här gruppen stora variationer med avseende på behovet av nematoder både för bildningen av fångstorgan och som näringskälla. Bland de vanligast förekommande arterna kan nämnas: *Arthrobotrys oligospora*, *A. dactyloides*, *Monacrosporium cionopagum* och *Dactylaria candida*.

De endoparasitära nematofaga svamparna (fig. 3 och 4) är till skillnad från de nematodfångande arterna i allmänhet obligata parasiter, dvs. de är

beroende av nematoder för att genomföra sin livscykel. De här svamparna bildar inga fångstorgan, utan svamparnas konidier (sporer) har övertagit fångstfunktionen. Vissa svampar har konidier med en klibbig del och dessa fastnar på nematoden. Andra har sär eget formade konidier som sväljes av nematoderna och enkelt uttryckt fastnar i halsen. Denna svamptyp kan inte angripa de stilettförsedda växtparasitära nematoderna eftersom dessa inte kan svälja konidierna. Förloppet efter det att sporer fastnat på eller i en nematod liknar det som sker hos de nematodfångande svamparna: efter något dygn är nematoden fylld av svamphyfer. Det enda av svampen som förekommer utanför nematodkroppen är konidioforer med konidier, som kan infektera nya nematoder (fig. 4). Vanliga svampar inom den här gruppen är *Harposporium anguillulae*, *Nematocionus leiosporus*, *Meria coniospora*.

Vid sidan av de båda huvudgrup-

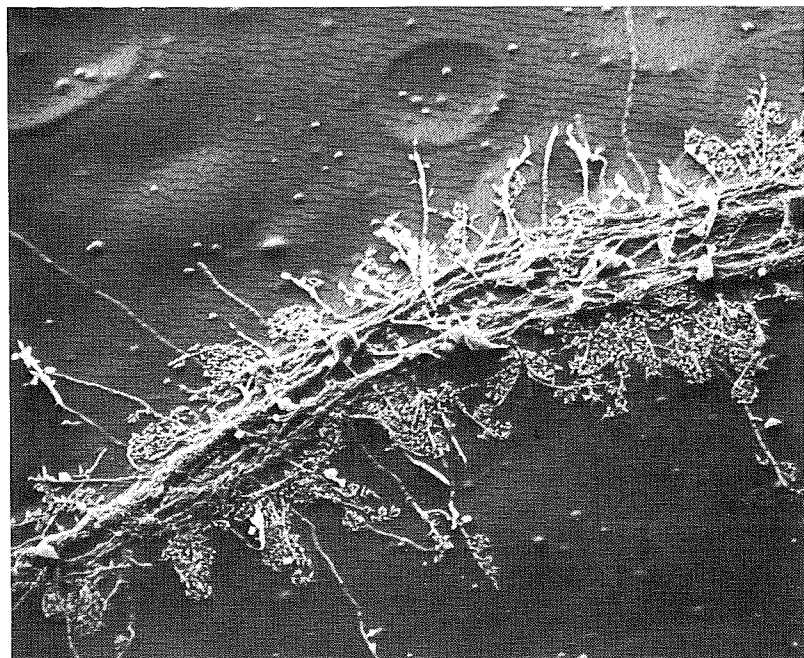


Fig. 3. Nematod konsumerad av den endoparasitära nematofaga svampen *Meria coniospora*. Hela nematoden är fylld av svamphyfer, ut sticker endast konidioforer med konidier, som kan infektera nya nematoder. Nematoden är ca 1 mm lång. Bild: förf. och F. Larsson.

perna förekommer svamparter som parasiterar på nematodägg och som inte har uppmärksammats speciellt mycket förrän under de senaste åren.

### Några försök till biologisk kontroll

De första som gjorde allvarliga försök att använda nematofaga svampar för kontroll av växtparasitära nematoder i jorden var Linford och hans medarbetare på Hawaii under slutet av 1930-talet (Duddington 1962). I de första experimenten inympades olika nematodfångande svampar i krukor med jord som infekterats med rotgallnematoder (*Meloidogyne* sp) och planterats med ananasplantor. Man fick relativt nedslående resultat i de inledande försöken. I senare experiment skedde ingen inympning av svampar, utan man försökte stimulera den be-

fintliga floran av nematofaga svampar genom att blanda grönmassa från ananasplantor och även andra växter i jorden. Härigenom stimulerade man bl.a. bakteriefloran, vilket i sin tur ökade mängden bakterieätande nematoder i marken. Genom den ökade mängden bakterieätande nematoder ökade bl.a. också bildningen av fångstorgan hos de nematodfångande svamparna. Mängden nematoder, både frilevande och växtparasitära, reducerades, vilket resulterade i en sänkt skadefrekvens hos växten. En allvarlig anmärkning mot dessa försök är att man inte kunnat bevisa att de nematofaga svamparna varit den direkta orsaken till minskningen av de parasitära nematoderna.

Enligt samma linjer har flera efterföljare till Linford arbetat med växlande resultat. Bland dessa kan

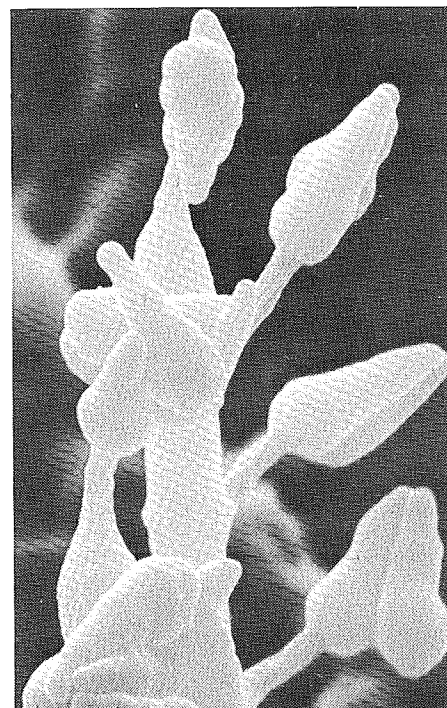


Fig. 4. Konidiofor med konidier hos *Meria coniospora*. Konidierna är klibbiga i spetsen och fastnar på nematodens yta. Därefter växer svampen in i nematoden och konsumerar den, se fig. 3. En konidie är ca 4  $\mu$  m lång. Bild: förf. och F. Larsson.

nämnas Duddington i England under 1950-talet.

Under de senaste åren har undersökningar av annat slag rapporterats av bl.a. Stirling och Mankau i Kalifornien. De har studerat angrepp av rotgallnematoden (*Meloidogyne* sp) på bl.a. persikoodlingar (t.ex. Sterling *et al.* 1979). I vissa fall fann de att icke-resistenta persikoträd var i det närmaste oangripna av nematoder. De började då undersöka om någon form av naturlig biologisk kontroll ägde rum. Man fann en svamp, *Dactylella oviparasitica*, som parasiterade på *Meloidogyne*-ägg och på så sätt reducerade rotangreppen. I laboratorie- och växthusförsök fann man att svampen

hade en hög förmåga att parasitera nematodägg och minska skadorna av rotgallnematoden. Stirling och medarbetare konstaterade att *D. oviparasitica* har många av de egenskaper en god antagonist, användbar för biologisk kontroll, bör ha: 1) den kan parasitera *Meloidogyne*-ägg som är känsligare för svampangrepp än t.ex. larver, 2) den har förmåga att parasitera även *Meloidogyne*-honor, 3) den förekommer i rotzonen hos växten, och 4) den kan överleva perioder utan värdnematod genom förmåga att leva saprofytiskt på döda växtdelar eller parasitera på ägg från andra nematoder.

Undersökningar liknande dessa har rapporterats även från England, där man funnit en svamp, *Nematophthora gynophila*, som parasiterar på cystor av bl.a. havrecystnematoden *Heterodera avenae* (Kerry & Crump 1977, 1980). I både den amerikanska och den engelska undersökningen har man utgått från att studera naturligt förekommande biokontroll.

I Sverige har Mari Pääsuke under många år arbetat med praktisk tillämpning av biologisk kontroll av nematoder.

### Framtidsutsikter

En av de främsta orsakerna till att man erhållit växlande resultat, vid försök till biologisk kontroll med nematofaga svampar, torde vara att man har liten kännedom om dessa svampars ekologi. Vid fältstudier har man i allmänhet bara kunnat konstatera att olika arter av nematofaga svampar förekommer i jorden. P.g.a. metodologiska problem har man svårt att få kvantitativa mått på mängden svamp liksom svamparnas reella funktion i den naturliga miljön.

Vid Avdelningen för mikrobiologisk ekologi i Lund har de senaste åren förekomsten av nematofaga svampar i

jorden ägnats ett allt större intresse (Nordbring-Hertz & Jansson 1978). Vi har utarbetat metodik som gör det möjligt att kvantitativt uppskatta mängden av dessa svampar i den naturliga miljön. Vi undersöker även olika svampars förmåga att oskadliggöra nematoder i jordsystem i laboratorieskala. Huvuddelen av forskningen rörande nematofaga svampar vid avdelningen rör sig kring studiet av fundamentala interaktionsmekanismer mellan nematoder och dess antagonistiska svampar. Vi är för närvarande intresserade av att undersöka svamparnas specificitet vid val av nematoder som näring. Ett led i denna forskning är att studera hur nematoderna rör sig i förhållande till svamparna. Det har visat sig att svamparna lockar nematoder till sig med hjälp av kemiska substanser, och att olika nematoder attraheras till olika svampar. Ett genomgående resultat är att de mest parasitära svamparna attraherar nematoder starkast (Jansson & Nordbring-Hertz 1979). En annan aspekt som också har att göra med specificiteten i fångstvalet är frågan om varför och vilka nematoder som fångas i det »klistret» som förekommer på fångstorganen. Det har visats att en bidragande orsak till adhesionen av nematoder är ett lektin-kolhydrat-komplex. (Lektiner kan kort karakteriseras som proteiner som binder till bestämda sockerarter). Lektinet sitter i detta fall på fångstorganen och en sockermolekyl (N-acetyl-galaktosamin) sitter på nematoden (Nordbring-Hertz & Mattiasson 1979). Undersökningen pågår för att karakterisera lektinet och att studera andra nematod-svamp-komplex i avsikt att finna eventuell specificitet hos de nematofaga svamparna.

Grundläggande kunskaper om de nematofaga svamparnas relationer till nematoder och svamparnas funktion i den naturliga miljön är nödvändiga för

att utröna möjligheterna till biologisk kontroll. Man bör också koncentrera sina undersökningar till en bestämd växtsjukdom och studera den angripande nematodens livscykel för att finna den lämpligaste tidpunkten för en biologisk kontrollinsats. Denna kan då bestå i inympning av en lämplig antagonist och/eller stimulering av en befintlig sådan. En framkomlig väg kan vara att liksom Stirling och Mankau studera förhållanden med naturligt förekommande biologisk kontroll och överföra de nyvunna kunskaperna till områden med hög skadefrekvens.

De nematofaga svamparna har i laboratorieförsök en enorm kapacitet att oskadliggöra nematoder. Med ökade kunskaper om dessa svampar bör de betraktas som en potentiell biologisk metod för kontroll av växtparasitära nematoder.

#### Litteratur

- Barron, G. L., 1977: *The nematode-destroying fungi*. Topics in mycobiology, No 1. Canadian Biological Publications Ltd., Guelph, Canada.
- Duddington, C. L., 1962: Predacious fungi and the control of eelworms. I *Viewpoints in biology* 1. 151—200. J. D. Carthy & C. L. Duddington, (eds), Butterworths, London.
- Jansson, H.-B. & Nordbring-Hertz, B., 1979: Attraction of nematodes to living mycelium of nematophagous fungi. *J. Gen. Microbiol.* 112, 89—93.
- Kerry, B. R. & Cump, D. H., 1977: Observations on fungal parasites of females and eggs of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*, and other cyst nematodes. *Nematologica* 23, 193—201.
- Kerry, B. R. & Crump, D. H., 1980: Two fungi parasitic on females of cyst-nematodes (*Heterodera* spp). *Trans. Br. mycol. Soc.* 74, 119—125.
- Nematoder på växter*, 1971: LT's förlag. LTK.
- Nordbring-Hertz, B. & Jansson, H.-B., 1978: Nematodätande svampar — kuriositet eller ekologisk balansfaktor. *Svensk Bot. Tidskr.* 72, 271—277.

Nordbring-Hertz, B. & Mattiasson, B., 1979: Action of a nematode-trapping fungus shows lectin-mediated host-microorganism interaction. *Nature* 281, 477—479.

Stirling, G. R., McKenry, M. V. & Mankau, R., 1979: Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp) on peach. *Phytopath.* 69, 806—809.

(Manus inkom i juni 1980)

JANSSON, H.-B., 1980. Nematophagous fungi and biological control of plantparasitic nematodes. *Växtskyddsnotiser* 44(6), 146—151.

The nematode-destroying (nematophagous) fungi can be divided into two groups, the nematode-trapping and the endoparasitic fungi, depending on their mode of attacking nematodes. The nematode-trapping fungi capture nematodes in specialized hyphal traps of either adhesive or mechanical function. These fungi can also grow saprophytically in soil on dead organic matter. The endoparasitic fungi are obligate parasites and attack their prey with conidia, which stick to the nematode surface or are ingested by the nematodes. There also exist fungi which attack nematode eggs and cysts.

The nematophagous fungi have been interesting subjects for biological control of plant-parasitic nematodes since the 1930's. Some good results were obtained by adding green manure to the soil and thereby obtaining a general stimulation of soil organisms, including bacteria, bacterial-feeding nematodes and nematophagous fungi. This resulted in a reduction of both free-living and plant-parasitic nematodes. Several other investigations after these early tests have been presented with varying results. Lately, other types of investigations have been presented, using nematode egg or cyst parasitic fungi. In these investigations naturally occurring biological control was studied. Good results have been obtained in laboratory and green house tests and the results so far presented seem promising.

In the Dept of microbial ecology at the University of Lund we study interactions between nematodes and nematophagous fungi, i.e. attraction of nematodes to fungi and adhesion of nematodes to the traps. We also study the ecology of these fungi in soil.

The nematophagous fungi have an extraordinary capacity to destroy nematodes in laboratory experiments. With increasing knowledge of the nematophagous fungi in their natural environment, they should be regarded as potential biological control agents.

## Biologisk bekämpning av skogsinsekter

Einar Olofsson, Inst. för växt- och skogsskydd, 750 07 Uppsala

Biologisk bekämpning används ofta som beteckning på en rad olika bekämpningsmetoder som är alternativ till användning av kemiska medel. Här kommer huvudsakligen att behandlas möjligheterna att utnyttja parasiter, predatorer (rovdjur) och patogener (sjukdomsalstrare) för direkta bekämpningsåtgärder, vilket är den ursprungliga innebörden av begreppet biologisk bekämpning.

Individtätheten hos en insekt påverkas av en mängd olika faktorer. De naturliga fienderna kan minska sannolikheten för insektsangrepp i skogen och bidra till att pågående angrepp upphör men de kan inte alltid förhindra massförökningar. Tillgång på lämplig föda, yngelträd eller andra liknande faktorer har ofta avgörande betydelse. Detta gäller i hög grad de insekter som för närvarande orsakar de största skadorna i skogen till vilka granbarkborren, mörghornarna och snytbaggen hör. Förebyggande skogsvårdsåtgärder kan på olika sätt minska tillgången på sådana resurser som dessa insekter behöver för sin utveckling och är därför en väsentlig del i skyddet mot dem. Bekämpning med kemiska medel har en mycket begränsad omfattning inom skogsbruket och används främst för behandling av plantor och i viss utsträckning för skydd av lagrat virke. Feromonfällor provas i stor skala för bekämpning av granbarkborren i vissa län. Försök pågår också med att få fram effektiva metoder för att förhindra snytbaggens skadegörelse på plantor, vilket har fått ökad betydelse sedan dispensen för dopping av plantor i DDT upphörde. Bland de egentliga biologiska bekämpningsmetoderna är det främst insekt-

sjukdomarna som är aktuella. Hittills har dock inga mikrobiologiska bekämpningsmetoder kommit till användning annat än i samband med försök.

När en skadeinsekt spritt sig till områden där den tidigare inte förekommit har man i många fall uppnått goda resultat genom att odla och sprida ut parasiter eller predatorer som hämtats från artens ursprungsområde. I Sverige har vi för närvarande inga problem med importerade skadeinsekter inom skogsbruket och metoden har endast provats vid ett tillfälle. I planteringar av silvergran på Omberg och Visingsö har man haft upprepade angrepp av silvergranlusen. I ett försök att bekämpa denna importerades från Tyskland 19.000 exemplar av en nyckelpiga, *Pullus impexus*, som släpptes ut i de angripna bestånden. Det är svårt att bedöma vilken effekt detta har haft. Nyckelpigan har etablerat sig och även spritt sig till nya områden. Några ytterligare massförökningar av silvergranlusen har inte rapporterats.

Att använda massförökade inhemska parasiter eller predatorer för bekämpning är förenat med stora kostnader i förhållande till de resultat man kan vänta sig och kan knappast komma ifråga inom skogsbruket. Med patogener förhåller det sig annorlunda eftersom de i många fall är betydligt lättare att massföra och sprida.

Alla insektarter drabbas vid något tillfälle av sjukdomar orsakade av mikroorganismer. Det finns många olika typer med helt skilda egenskaper. Sjukdomsförloppet varierar från obetydliga störningar av insektens normala funktioner till att insekten dör

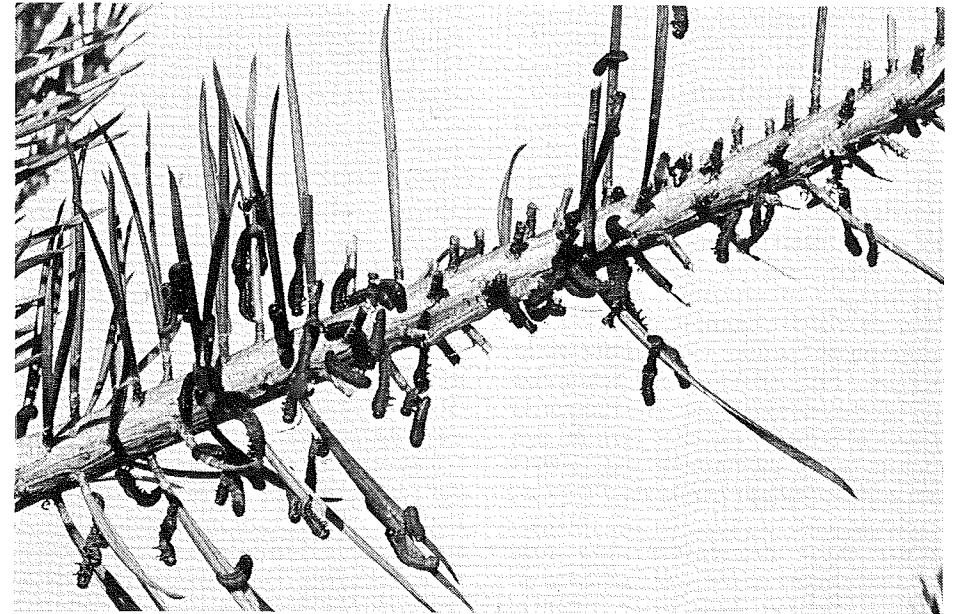


Fig. 1. Virusangripna larver av röda tallstekeln. Foto Rune Axelsson.

inom några dagar. Patogener som är lämpade för mikrobiologisk bekämpning påträffas framför allt hos insekter som lever så att patogenen har goda möjligheter att spridas på naturlig väg, exempelvis hos larver som lever öppet på barr och blad. Patogener hos insekter som utvecklas mera isolerat, exempelvis under bark, är ofta hänvisade till att spridas från en generation till nästa via föräldradjuren. Som en anpassning till ett sådant spridningssätt utvecklas de i allmänhet långsamt utan att döda sitt värdjur och är därför sällan användbara för mikrobiologisk bekämpning.

Viktiga grupper av insektsjukdomar är virus, bakterier, svampar, protozoer (encelliga djur) och nematoder. De organismer som fått störst användning för bekämpning är olika kärnpolyedervirus och några bakterier men det finns även inom de andra grupperna exempel på framgångsrika bekämpningsförsök.

I Sverige har ett kärnpolyedervirus provats i fältförsök mot röda tallstekeln och ett annat mot barrskogsnunnan. Röda tallstekelns virus är i många avseenden ett idealiskt bekämpningsmedel. Det förekommer naturligt i landet och är vitt utbredd. Det är helt artspecifikt och angriper inte ens våra övriga tallstekelarter. Uppförökning av viruset måste ske i levande larver. Virus från ett hundratal sjuka larver är dock tillräckligt för behandling av ett hektar skog. Hittills har viruset endast använts i försök främst av två orsaker. För det första har vi inga mikrobiologiska preparat godkända som bekämpningsmedel och således får de ej användas i praktisk skala. Detta beror delvis på att det inte har funnits något lämpligt mikrobiologiskt bekämpningsmedel mot någon viktig skadegörare, men också på att det saknats tillräckliga erfarenheter för att ta ställning till en eventuell registrering av sådana preparat. I USA är tre kärn-

polyedervirus och två bakterier registrerade som bekämpningsmedel. Efterhand som fler mikrobiologiska preparat blir registrerade i USA och i andra länder bör det bli möjligt att få sådana medel godkända också i Sverige, förutsatt att det går att få fram lämpliga patogener mot några av våra viktigare skadeinsekter. Den andra anledningen till att tallstekelviruset inte kommit till användning är att det råder en viss tveksamhet om en sådan bekämpning skulle vara ekonomiskt lönsam. För närvarande bekämpas inte tallstekelangreppen. Härjningarna varar i allmänhet tre eller fyra år och upphör sedan på naturlig väg. Eftersom endast trädens gamla barr angrips överlever tallarna, trots en viss tillväxtförlust. Med den information som finns tillgänglig är det svårt att göra en realistisk kalkyl över dessa tillväxtförluster, och det är även mycket svårt att beräkna vad en utbredd virusanvändning skulle kosta. En grov uppskattning pekar på att kostnaderna för en bekämpning skulle bli av samma storleksordning som värdet av tillväxtförlusterna vid ett tallstekelangrepp.

Även barrskogsnunnan har ett artspecifikt virus. Detta provades i Skåne 1970. Resultatet var inte helt tillfredsställande, men det är möjligt att metoden är utvecklingsbar. Barrskogsnunnan är dock ett besvärligt försöksobjekt hos oss eftersom angreppen förekommer oregelbundet med ibland mycket långa tidsintervaller. Däremot är arten vanligare i Mellaneuropa och om man där lyckas utveckla en effektiv metod att använda viruset för bekämpning kan det bli aktuellt att göra nya försök.

Bland de insekter som för närvarande har störst betydelse inom skogsbruket är det främst röda tallstekeln som kan komma ifråga för mikrobiologisk bekämpning inom den närmaste framtiden. Även om det inte är

aktuellt med omfattande bekämpningsaktioner mot denna art kan det bli möjligt att utföra bekämpning i speciellt skyddsvärda bestånd eller där man riskerar följdskador. Det finns flera andra skogsinsekter som för närvarande inte orsakar nämnvärda skador mot vilka det vid behov kan vara möjligt att utveckla mikrobiologiska metoder. Ett sådant exempel är tallflyet som vållar stora skador på planteringar av contortatallen i Skottland. Ett annat område där det kan bli aktuellt att undersöka möjligheterna till mikrobiologisk bekämpning är energiskogsbruket.

Däremot är det mindre sannolikt att det skulle gå att utveckla mikrobiologiska bekämpningsmetoder mot snytbaggen, granbarkborren eller märgborrarna. Det förekommer vissa typer av patogener hos dessa insekter, främst nematoder och svampar, men de är mycket svåra att utnyttja praktiskt eftersom de kräver speciella miljöbetingelser för att vara effektiva. Dessutom utvecklas snytbaggelarverna i rötter och barkborrarnas larver under bark, vilket gör dem mycket svåra att nå med en bekämpning. Det är alltså knappast realistiskt i dagens läge att vänta sig att en stor del av våra insektproblem skall kunna lösas med biologisk bekämpning, men i vissa fall kan det vara en framkomlig väg.

## Litteratur

- Eidmann, H. H., 1970. Virus mot insekter. Skogsägaren 12: 7—9.
- Eidmann, H. H. och B. Ehnström, 1975. Einbürgerung von *Scymnus impexus* Muls. (Col. Coccinellidae) in Sweden. Ent. Tidskr. 96: 14—16.

Eidmann, H. H., 1976. Aspects of biological control of forest insects in Sweden. *Ambio*, 5: 23—26.

(Manus inkom i november 1980)

OLOFSSON, E., 1980. Biological control of forest insects. — *Växtskyddsnotiser* 44(6), 152—155.

Chemical insecticides are used on a very limited scale in Swedish forestry. A number of other methods, including various preventive measures are in use or being developed. At present no biological control methods are used.

Mass rearing and release of predators or parasites are not considered to hold much promise as methods of solving any current forest entomology problems. Two pathogens, both nuclear polyhedrosis viruses, have been tested. Outbreaks of the nun moth (*Lymantria monacha*) are infrequent and a few trials with a virus disease have not produced acceptable results. The virus of the European pine sawfly (*Neodiprion sertifer*) has been used successfully on many occasions. It has not come into widespread use partly because it is only rarely considered to be economically justified to control this insect but also because there are no registered microbial control agents in Sweden so they can only be used experimentally.

Bark beetles (*Ips typographus*, *Tomicus piniperda* and *T. minor*) and the pine weevil (*Hylobius abietis*) are among the economically most important forest insect. Their biology and the nature of the pathogens they harbour makes it less likely that microbial control methods can be developed. Therefore, it is not considered realistic to expect that biological control methods will play a major role in controlling forest within the immediate future. However, attempts will be made to develop and use such methods when possible.

# Försök med odling av de insektspatogena svamparna *Beauveria bassiana* (vitmögelsvamp), *Metarrhizium anisopliae* (grönmögelsvamp) och *Metarrhizium flavoviride*

Ernesto Prado, Inst. för växt- och skogsskydd, SLU, 750 07 Uppsala

## Inledning

Svamparna *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill och *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. har sedan länge varit kända som insektspatogener med en relativt hög patogenitet mot olika insekter. Det finns emellertid endast få exempel där de kommit till praktisk användning, men bekämpning av äppelvecklare och koloradoskalbagge med hjälp av *B. bassiana* kan nämnas. Preparatet i fråga kallas »Boverin» och har utvecklats av sovjetiska forskare (Ferron, 1978). Även i Brasilien har ett preparat kallat »Metaquino» tillverkats, vilket innehåller *M. anisopliae*, för bekämpning av *Mahanarva posticata* (Homoptera, Cercopidae) (Aquino *et al.*, 1977).

*B. bassiana* och *M. anisopliae* kan förökas ganska lätt på fasta och steriliserade substrat, och man får då konidiosporer. Den metoden har emellertid varit svår att använda i industriell skala. Båda svamparna växer visserligen bra på flytande substrat, men de alstrar blastosporer vilka har kortare livslängd än konidierna (Ferron, 1978). På grund av dessa svårigheter har metoden därför övergivits.

Syftet med vårt arbete har varit att försöka utveckla en enkel metod att odla svamparna och att producera tillräckligt med sporer för att möjliggöra laboratorie- och fältförsök. Några bekämpningsförsök med öronvivlar under laboratorie- och växthusförhål-

landen kommer att redovisas i separat uppsats.

Undersökningen har stötts med anslag från Statens råd för skogs- och jordbruksforskning.

## 1. Ursprung

*B. bassiana*-kulturer erhöles av doc. Magnus Gustafsson, Uppsala. Den stam av *M. anisopliae* som använts är isolerad från sjuka öronvivlar (*Otiorrhynchus sulcatus*) vilka påträffades i våra odlingar i växthuset. Den tillhör typen »major» dvs. sporenlängden är 9–14  $\mu$ .

*Metarrhizium flavoviride* har erhållits från »Station de Lutte Microbiologique La Minière», Frankrike, och har som beteckning No. 88. Svampen har orsakat en endemisk epidemi hos *O. sulcatus* i jordgubbsodlingar i Bretagne.

## 2. Isolering

Isolering av *M. anisopliae* utfördes på Sabouraudmaltosagar tillsatt med Streptomycine (500 mg/l). Antibiotikan tillsattes den autoklaverade agarn när temperaturen sjunkit till ca +40–+50°C. Denna behandling räckte för att få odlingen ren och helt fri från bakterier.

## 3. Odlingmetodik

*B. bassiana* testades på fyra olika substrat, nämligen vetekli, krossat vete, havre och havregryn. Endast od-

TABELL 1. Sporproduktion av *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* och *Metarrhizium flavoviride*.

<i>B. bassiana</i> Antal sporer per gram vetekli	<i>M. anisopliae</i> Antal sporer per gram ris	<i>M. flavoviridae</i> Antal sporer per gram ris
$1,02 \times 10^7$	$3,04 \times 10^7$ (1)	$5,06 \times 10^6$
$8,18 \times 10^7$	$3,83 \times 10^7$ (1)	$3,28 \times 10^6$
$4,29 \times 10^7$	$3,28 \times 10^7$ (1)	$6,88 \times 10^6$
$4,27 \times 10^7$	$1,30 \times 10^8$ (1)	
$2,14 \times 10^7$	$1,47 \times 10^8$ (1)	
$4,02 \times 10^7$	$9,34 \times 10^7$ (1)	
$4,94 \times 10^7$	$2,34 \times 10^8$ (2)	
$\times = 4,12 \times 10^7 \pm 2,26 \times 10^7$	$10,08 \times 10^7 \pm 7,56 \times 10^7$	$5,07 \times 10^6 \pm 1,8 \times 10^6$

(1) Odlat i kokt ris.

(2) Odlat i råris + kranvatten (2:1).

lingarna på vetekli visade en påtaglig tillväxt, och därför har endast dessa redovisats i tabell 1. 30 g av substratet plus 45 ml kranvatten hällades i petriskålar med 14 cm diameter. Därefter skedde autoklivering i 30 minuter vid 120°C och under trycket 1 kg/cm<sup>2</sup>. Substratet ympades sedan med sporer från agarplattor och kulturerna odlades i termostatskåp vid 25  $\pm$  1°C och ca 75% RH. Trots den långa autokliveringstiden och trots alla åtgärder för att arbetet skulle kunna ske sterilt, förekom ändå ofta föroreningar, vilket tvingade oss att kassera ett stort antal odlingar.

*M. anisopliae* testades på ris och vetekli. På vetekli förekom återigen föroreningar, och ingen avräkning kunde ske. Riset gav emellertid bra resultat och kunde användas i alla följande odlingar. Kulturerna odlades i 1-liters Roux-flaskor. Riset kokades i 10 minuter och tömdes i flaskorna. Därefter autoklaverades det hela i 15 minuter under 120°C och trycket 1 kg/cm<sup>2</sup>. Efter ympningen placerades flaskorna i termostatskåp vid 25  $\pm$  1°C och 75% RH.

Andra kulturer odlades i plastpåsar

av typen »stekpåse», vilka finns att köpa på allmänna marknaden. 300 g kokt ris fördes in i påsen som hade en syntetisk svamp i öppningen för att luftväxling skulle kunna ske. Autoklivering ägde rum två gånger med två dagars mellanrum, under lika lång tid och samma temperatur-, tryck- och luftfuktighetsförhållanden som angivits ovan. Därefter ympades riset med hjälp av en engångsspruta. Sporererna togs från agarkulturer. Det är viktigt att först fästa en bit plasttape på påsen där man injicerar, eftersom påsen annars lätt kan spricka, och hålet som återstår efter ympningen måste också täckas med tape för att förhindra kontaminering. När sporuleringen verkade vara färdig (efter ca 15–20 dagar) öppnades påsarna och torkades i värmeskåp vid +30°C och 30% RH under ca 78 timmar. Efter denna behandling skall odlingar kunna förvaras i kylskåp i ca +8°C i väntan på avräkning och användning. Någon grobarhetstest utfördes inte, men enligt utländsk litteratur sker inte någon minskning av grobarhet och virulens vid nämnda temperatur (Ferron, 1978; Aquino *et al.*, 1977).

#### 4. Framställning av infektionsmaterial i form av pulver

Detta utfördes på följande sätt:

a) Sterilt vatten plus vätningsmedel Tween 80 i en dos av 0,02% tillsattes odlingen.

b) Blandningen hälldes över till en tvåliters Erlenmeyerflaska för att underlätta skakning.

c) Flaskan skakades med hjälp av skakapparat i 30 minuter.

d) Suspensionen filtrerades genom tyg.

e) Spornlösningen centrifugerades i 15 minuter vid 1.500 varv/minut.

f) Vattnet hälldes av, och sporer torkades i värmeskåp i 24—48 timmar (beroende på spormängden) vid +35°C.

g) Pulvret skrapades loss och förvarades i kylskåp vid +8°C.

Fyra olika avräkningar av sporpulvret gav följande siffror:

$4,18 \times 10^9$  sporer/g pulver

$3,90 \times 10^9$  sporer/g pulver

$2,56 \times 10^9$  sporer/g pulver

$3,55 \times 10^9$  sporer/g pulver

$\bar{x} = 3,55 \times 10^9 \pm 0,71 \times 10^9$  sp./g pulv.

Sporräkningarna genomfördes med hjälp av s.k. Bürkerkammare.

#### 5. Diskussion

Även om odling av *B. bassiana* visade sig vara genomförbar på vetekli, var infektioner av främmande svampar ett ständigt problem som vi inte kunde komma ifrån. *B. bassiana* har en relativt långsam tillväxttakt, och blir lätt övervuxen av andra svampar. Detta betyder att arbetet måste utföras under strikt sterila förhållanden. Sporproduktionen presenteras i tab. 1. Möjligen kan produktionen förbättras, eftersom vår stam av *B. bassiana* har odlats upprepade gånger på agar-substrat, och en viss minskning i sporuleringsförmågan kan ha skett.

*M. anisopliae* var däremot betydligt

lättare att odla. Odlingen på ris mötte inga större svårigheter och kontamineringar kunde i de flesta fall undvikas på grund av svampens snabba tillväxt. Tab. 1 visar att *M. anisopliae* hade mer än två gånger större sporproduktion än *B. bassiana*.

Odling i plastpåsar visade sig vara en mycket praktisk och lätthanterlig metod, även om påsarna måste hanteras med försiktighet för att undvika sprickor. Påsarna tillåter också en jämn fördelning av mycelet, eftersom man genom att skaka påsarna lätt kan föra över mycel från en plats till en annan. Odling i flaskor hade emellertid den fördelen att arbetet kunde genomföras helt aseptiskt. Ympningen skedde nämligen direkt från agarplattorna till flaskorna. I de fall där plastpåsar användes måste man först göra en sporsuspension i vatten, och sedan använda engångsspruta enligt ovan beskriven metod. Detta förfarande ökar emellertid risken för förorening.

Senare prover har visat att det är möjligt att undvika kokning av riset. En blandning av råris och kranvatten i proportionerna 2:1 är efter autoklavering tillräcklig för att få en bra tillväxt och sporulering (tab. 1). Dessutom blir spornlösningen nästan helt fri från risrester, vilket underlättar torkningen av sporer. Tab. 1 visar också att sådana kulturer hade den högsta sporproduktionen per gram ris.

Ytterligare försök (ej avslutade) pekar mot att en fortsatt förökning av svampen är möjlig även efter det att sporer filtrerats. Föroreningsrisken minskar kraftigt i detta fall på grund av att svampen utsöndrar toxiner mot främmande organismer, och eftersom svampen redan är etablerad i substraten.

Pulverframställningen av sporer lyckades endast när vi fick en ren spornlösning av rispartiklar. Dessa partiklar utnyttjades annars som substrat av

främmande svampar. Utfyllning med torra och inerta substanser som sand, kaolin eller talk kan underlätta hanteringen av pulvret. Lagring av blandningen sporer/ris är också möjlig.

*M. flavoviride* kunde odlas på samma sätt som *M. anisopliae* även om sporproduktionen blev mindre. Antalet odlingar var dock för litet för att man skall kunna dra några definitiva slutsatser.

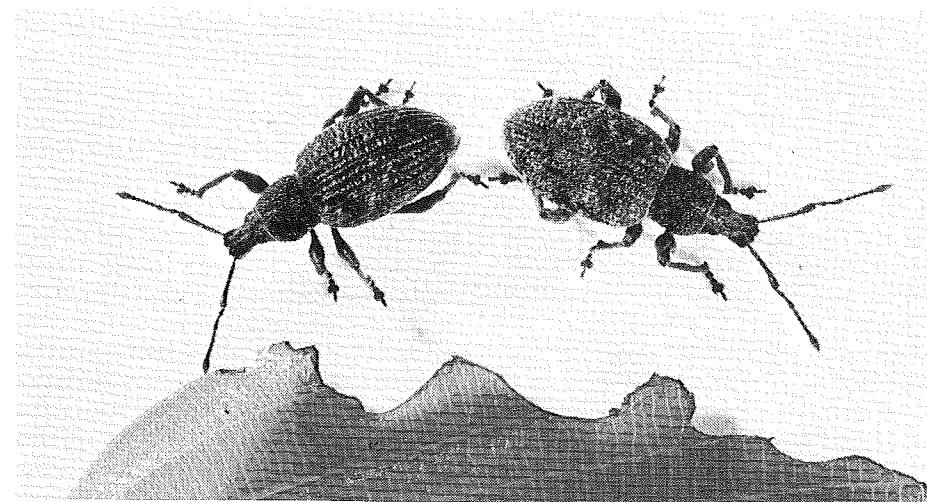
#### Litteratur

1. Aquino, M. de L. N., Vital, A. F., Cavalcanti, V. L. B., Nascimento, M. G., 1977. Cultura de *Metarrhizium anisopliae* en sacos de polipropileno. Boletim Técnico de Comissão Executiva de Defesa Fitossanitária da Lavoura Canavieira de Pernambuco. No. 5, 11 pp. Instituto de Pesquisas Agronomicas, Recife, Pernambuco, Brazil.
2. Ferron, P., 1978. Biological Control of Insects Pests by Entomogenous Fungi. Ann. Rev. Entomol. 23:409—442.

(Manus inkom i november 1979)

PRADO, E., 1979. Experiments with culture methods for the insect pathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* and *Metarrhizium flavoviride*. Växtskyddsnotiser 44(6), 156—159.

Different solid substrates were tested. *B. bassiana* could only be grown successfully on wheat bran, although contamination with molds were rather frequent. *M. anisopliae* and *M. flavoviride* were best grown on rice. The use of heat resistant plastic bags for fungal cultures was investigated, with promising results. Finally, a method for obtaining spores in powder form is described.



— Om vi går åt varsitt håll kanske vi ses på baksidan.  
— Det vivlar jag på!



# Bekämpning av öronvivellarver (*Otiorrhynchus sulcatus*) med hjälp av de insektspatogena svamparna *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* och *Metarrhizium flavoviride*

Ernesto Prado, Inst. för växt- och skogsskydd, SLU, 750 07 Uppsala

## Inledning

Svamparna *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill och *Metarrhizium anisopliae* (Metsch) Sorok är två insektspatogena svampar som ofta förorsakar epizootier hos insekterna och i vissa fall kraftigt begränsar populationerna.

Svamparna är mycket beroende av omgivningens fuktighet, strålning, temperatur m.m., och många försök har misslyckats på grund av dålig kännedom om dessa ekologiska faktorer och om patogenerna själva (Barnes *et al*, 1975). Det kan vara mera lovande att använda svampar mot jordinsekter än mot sådana som lever ovan jord, eftersom man vid och under jordytan ofta har en stabilare miljö, med relativt hög fuktighet, jämnare temperatur m.m. Exempel på försök som gett lovande resultat är bekämpning av *Curculio caryae* med *B. bassiana* (Teddars *et al*, 1973), användning av *M. anisopliae* mot *Sitona lineatus* (Müller-Kögler, 1976) och *Oryctes rhinoceros* samt bekämpning av ollonborren (*Melolontha melolontha*) med *B. brongniartii* (= *tenella*) (Ferron, 1978). Kombinationer av svamp och reducerade doser av insekticider är ett annat alternativ som redan används i Sovjetunionen (Hurpin, 1973, Fargues, 1975).

Tidigare undersökningar (Giege och Ödarp, 1973) har visat att svampen *B. bassiana* är patogen mot öronvivellarver när de infekteras genom direkt

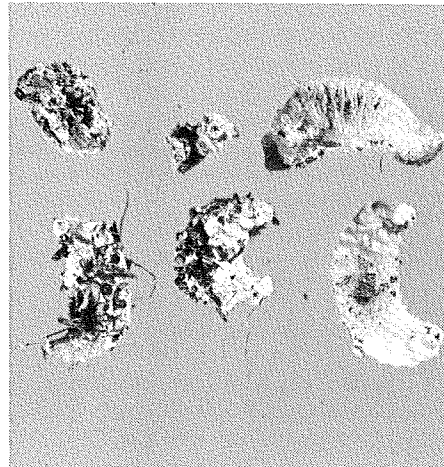


Bild 1. Öronvivellarver angripna av *M. anisopliae*.

applicering av en sporsuspension. Marchal (1977) fann både larver och fullbildade vivlar som var infekterade av *B. bassiana* i en fältpopulation av *O. sulcatus*, men svampen hade relativt liten betydelse i öronvivelns mortalitet. Däremot visade sig *M. anisopliae* oftast ha patogen effekt på öronvivlar. *M. anisopliae* förekommer också naturligt i vår odling av öronvivlar där den kraftigt begränsar populationen. Försök genomförda av Notini och Mathlein (1944) med *M. anisopliae* mot *Otiorrhynchus singularis* gav inte några entydiga resultat, men varken dosering eller använd metodik i dessa studier har beskrivits.

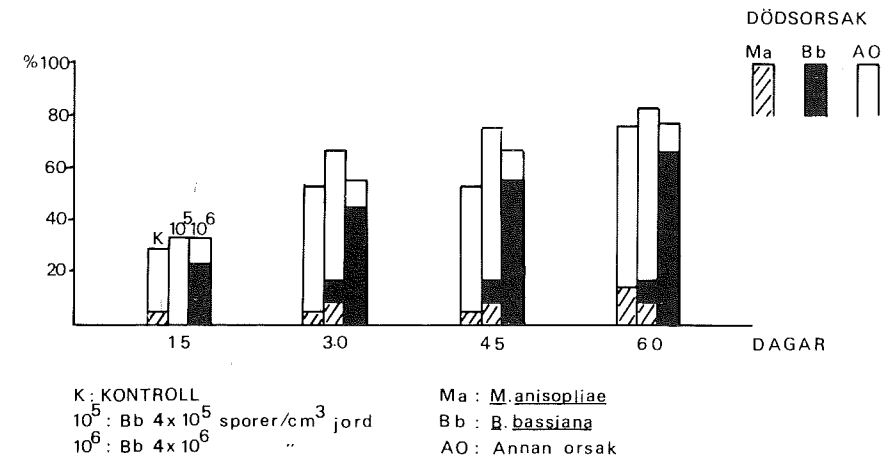


Fig. 1. Mortalitet i procent hos öronvivellarver i försök med *Beauveria bassiana*.

*M. flavoviride* är en ny art, beskriven av Gams and Rožypal (1973), vars betydelse som biologiskt bekämpningsmedel mot öronvivlar återstår att undersöka. I de naturliga infekterade vivlar vi undersökt har svampen ej påträffats.

Syftet med vårt arbete har varit att testa svamparna på öronvivlar under laboratorie- och växthusförhållanden. I en tidigare uppsats redovisas försök med olika odlingsmetoder för svamparna.

Undersökningen har stötts med anslag från Statens råd för skogs- och jordbruksforskning.

## *B. bassiana* mot larver av öronvivlar

Eftersom det förelåg brist på larver och spormaterial, utfördes försöken vid två tillfällen med ett begränsat antal larver i varje försök. I första omgången ingick 12 larver per försöksled och i den andra endast 9 larver per led. En sporsuspension av *B. bassiana* blandades med jord i doserna  $4 \times 10^5$  och  $4 \times 10^6$  sporer per  $\text{cm}^3$  jord. Därefter fördelades jorden i plastburkar i

var och en av vilka tre larver placerades tillsammans med rötter från jordgubbsplantor. Granskningen av larverna skedde två gånger i veckan. Varje död larv togs ut ur burken och lades i petriskål med fuktig bomull. Skålen sattes sedan i värmeskap och efter några dagar undersöktes den för att kontrollera om någon svamputveckling skett. Diagnosen utfördes visuellt.

En sammanställning av bägge försöken i fig. 1 visar mortaliteten i procent vid fyra tidpunkter. Fram till 15 dagar efter försöksstart var mortaliteten i behandlad och obehandlad jord ungefär densamma. Svampens betydelse för mortaliteten var större vid den högre dosen, en tendens som blev tydligare vid senare tidpunkter. Däremot visade sig *B. bassiana* ha liten betydelse för larvmortaliteten i doser om  $4 \times 10^5$  sporer/ $\text{cm}^3$ . Det måste dock understrykas att det här gäller ett begränsat antal larver.

## *M. anisopliae* mot öronvivellarver

Försöksmetodiken var densamma

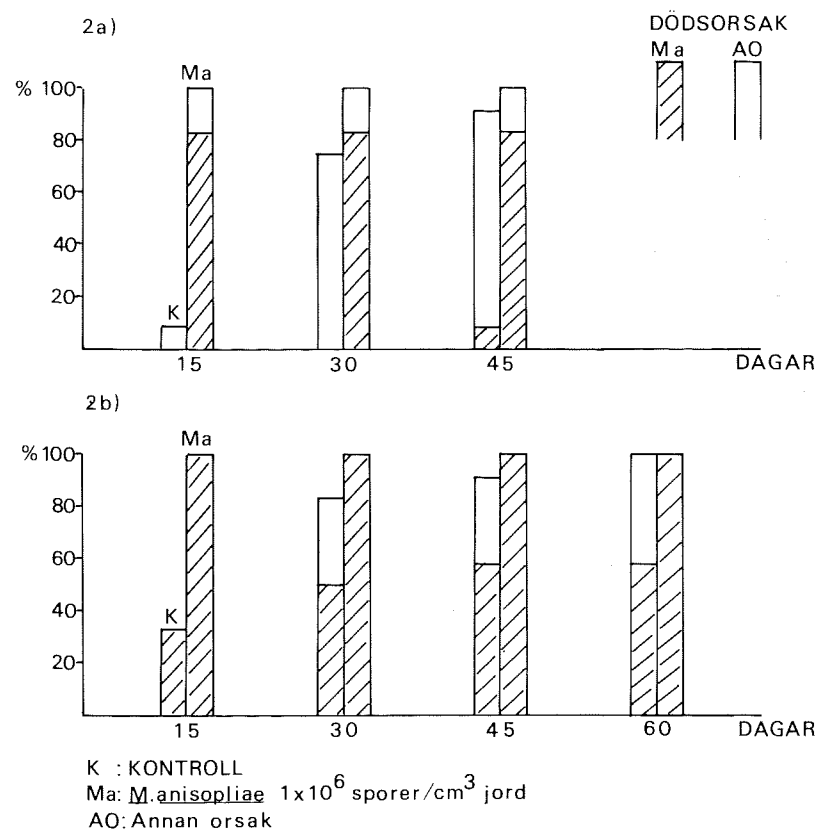


Fig. 2. Mortalitet i procent hos örönvivelarver i jord behandlad med *M. anisopliae*.

som beskrivits ovan, dock med 12 larver i varje försöksled. Vättningsmedel (Tween 80) i en dos om 0,02% tillsattes sporsuspensionen för att få en homogen lösning. Eftersom försöken var beroende av tillgången på larver, genomfördes försöken i flera omgångar. Mortaliteten hos örönvivelarver, utsatta för *M. anisopliae* i dosen  $1 \times 10^6$  sporer per cm<sup>3</sup> jord, visas i fig. 2a. I behandlad jord uppnåddes 100% dödlighet inom 15 dagar. Vid granskningen av döda larver som inkuberats framkom att över 80% av mortaliteten orsakats av svampen. Den höga dödligheten hos larverna i den obehand-

lade jorden orsakades av uttorkning. Fig. 2b visar dödligheten i det andra försöket. Resultatet överensstämmer med det tidigare försöket. Den höga dödligheten hos larver i obehandlad jord berodde även den på *M. anisopliae* (ca 60%). Troligen har larverna i kontrolleret tidigare smittats av *M. anisopliae* eftersom svampen finns naturligt i växthuset. Larverna i burkarna undersöktes två gånger i veckan, vilket förmodligen medförde en viss störning i deras utveckling som i viss mån kan förklara den höga dödligheten. I den tredje omgången (fig. 3) testades tre olika sporkon-

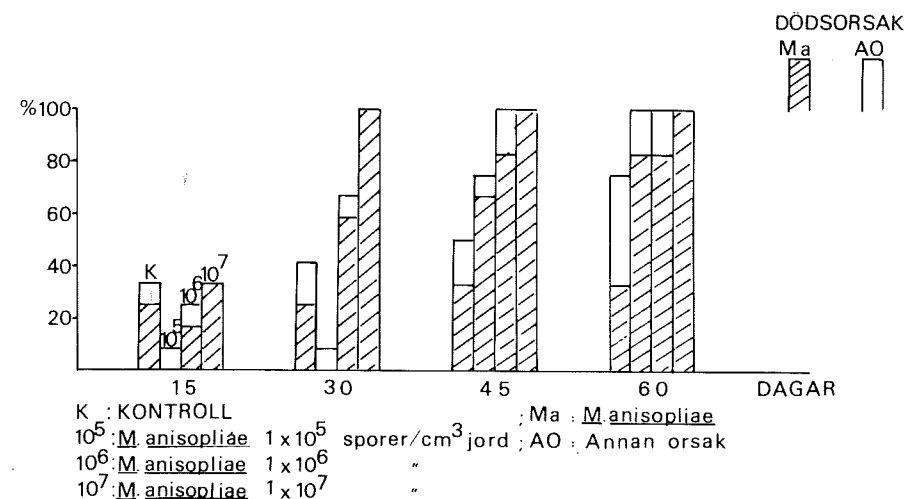


Fig. 3. Mortalitet i procent hos örönvivelarver i jord behandlad med *M. anisopliae* i tre olika doser.

centrationer,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ , och  $1 \times 10^7$  sporer per cm<sup>3</sup> jord. Femton dagar efter behandlingen var mortaliteten på en relativt låg nivå, även om *M. anisopliae*'s patogena effekt redan började göra sig gällande. Efter 30 dagar nådde mortaliteten 100% vid den högsta dosen, och svampen var där dödsorsaken för samtliga larver. Med koncentrationen  $1 \times 10^6$  blev mortaliteten över 60% på en månad och 100% dödlighet uppnåddes efter 45 dagar. Svampens påverkan tog längre tid vid koncentrationen  $1 \times 10^5$  sporer/cm<sup>3</sup>, men 100% mortalitet uppnåddes två månader efter behandlingen. Återigen förorsakade *M. anisopliae* en stor dödlighet hos larver i den obehandlade jorden. I ett fjärde försök (fig. 4) med doserna  $1 \times 10^5$  och  $1 \times 10^6$  sporer per cm<sup>3</sup> jord hade svampen snabbare effekt på örönvivelarna. I detta försök förorsakade också sporkoncentrationen  $1 \times 10^5$  sporer/cm<sup>3</sup> hög dödlighet de två första veckorna.

## Diskussion

*B. bassiana* visade sig vara patogen mot örönvivelarver vid en dos av  $4 \times 10^6$  sporer/cm<sup>3</sup> jord. Emellertid är det svårt att dra några egentliga slutsatser på grund av det ringa antal larver som ingick i försöket. *M. anisopliae* visar däremot en tydlig och hög patogen effekt mot örönvivelarver, vilket gör att den, enligt våra resultat, är att föredra framför *B. bassiana*. Den stam av *M. anisopliae* som vi har använt härstammar direkt från örönvivelar, vilket kan betyda att det är en stam väl anpassad till värddjuret. Detta är inte fallet med *B. bassiana*-kulturen vars ursprung är okänt för oss.

Dosen  $1 \times 10^6$  sporer/cm<sup>3</sup> jord hade en snabb effekt men även med  $1 \times 10^5$  sporer/cm<sup>3</sup> nåddes en fullständig kontroll av larverna vilket pekar mot att en minskning av sporkoncentrationen är möjlig. Vid ett försök som presenteras

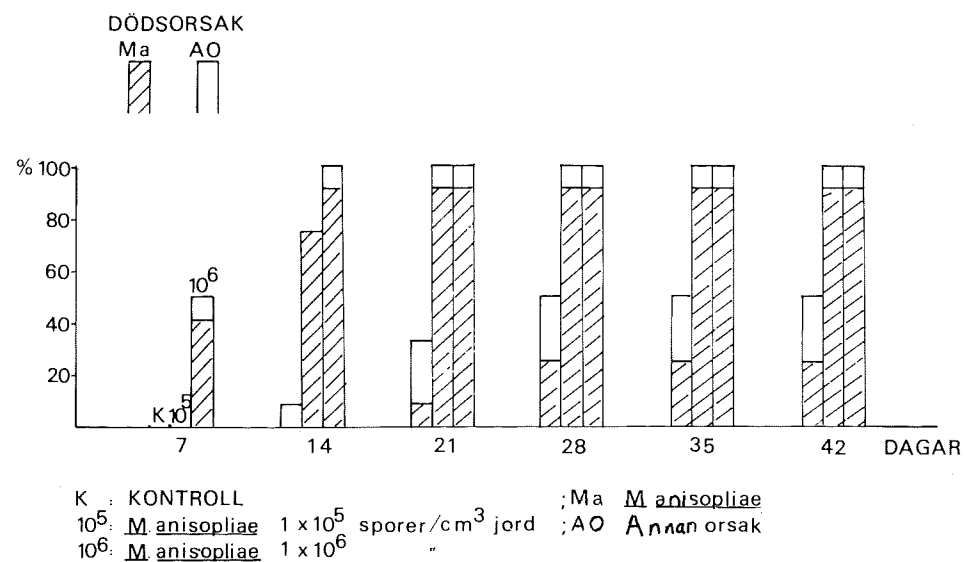


Fig. 4. Mortalitet i procent hos öronvivelarver i jord behandlad med *M. anisopliae* i två olika doser.

i fig. 3 var verkan av *M. anisopliae* förskjuten i tiden jämfört med de övriga försöken. Detta kan bero på skillnader i larvernas hälsotillstånd, eftersom larverna denna gång inte kom från odlingar där sjukdomen fanns, utan från Kalanchoëplantor som påträffats angripna av öronvivelar i ett annat växthus vid institutionen.

### Växthushälsö försök med *M. anisopliae* och *M. flavoviride*

Kalanchoë-plantor har visat sig vara mycket omtyckta av öronvivelar, och av den anledningen sattes åtta krukor med denna växt nära öronvivelodlingarna med avsikten att äggläggning skulle ske i krukorna. Efter 25 dagar behandlades fyra av krukorna med en spörösning av *M. anisopliae* i en dos av  $1 \times 10^6$  sporer/cm<sup>3</sup> jord, plus våtningsmedel Tween 80 (0,02%). Fyra plantor lämnades som kontroller.

Tab. 1 visar att alla plantor på obehandlad jord blev angripna och röt-

terna avättna av öronvivelarver, medan plantorna i behandlad jord utvecklades helt normalt. Vid en undersökning av rötterna hos dessa plantor efter tre månader, visade de fortfarande ett välutvecklat rotsystem, och inga larver påträffades i krukorna (bild 2).

TABELL 1. Försök med Kalanchoë-plantor som exponerats för öronvivelar.

	Antal dagar tills plantorna föll omkull (räknat från exponeringens början)	Antal larver funna i krukorna
OBEHANDLADE		
Planta 1	65	7
2	45	19
3	90	19
4	51	72
BEHANDLADE ( <i>M. anisopliae</i> $1 \times 10^6$ sporer/cm <sup>3</sup> jord)		
Planta 1	Föll ej omkull	0
2	Föll ej omkull	0
3	Föll ej omkull	0
4	Föll ej omkull	0

I andra omgången planterades Kalanchoë- och jordgubbsplantor i lådor av storleken  $27 \times 45 \times 8$  cm. De placerades i växthus nära öronvivelodlingarna. En månad senare släpptes för säkerhets skull två öronvivelarver in i varje låda. Behandling med *M. anisopliae* och *M. flavoviride* i doserna  $1 \times 10^6$  respektive  $1 \times 10^5$  sporer/cm<sup>3</sup> jord skedde en månad senare. Två lådor ingick i varje behandling och två lämnades som kontroll. När plantorna var helt avättna skedde en undersökning och larverna räknades. Levande larver fördes över i plastburkar med vanlig jord och med Kalanchoë-blad som föda. De sattes således i »karantän». Granskningar skedde en gång per vecka och döda larver lades i petrisålar med fuktig bomull för att påvisa

svampinfektioner. Samtliga larver som lagts i »karantän» återfanns ej vid granskningarna. Tab. 2 visar att samtliga växter i lådorna blev angripna med undantag av de som växte i en låda behandlad med *M. anisopliae*. I en av kontrolllådorna förekom *M. anisopliae*, och där hade 33% av alla larver angripits. Inga larver från jord behandlad med *M. anisopliae* överlevde, och svampinfektionen nådde 35% av alla larver. Det är dock sannolikt att svampinfektionen var ännu större eftersom många angripna larver var svåra att upptäcka.

*M. flavoviride* kunde inte förebygga angrepp av öronvivelar i dosen  $1 \times 10^5$  sporer/cm<sup>3</sup>, trots att ca 30% av larverna infekterades av denna svamp.

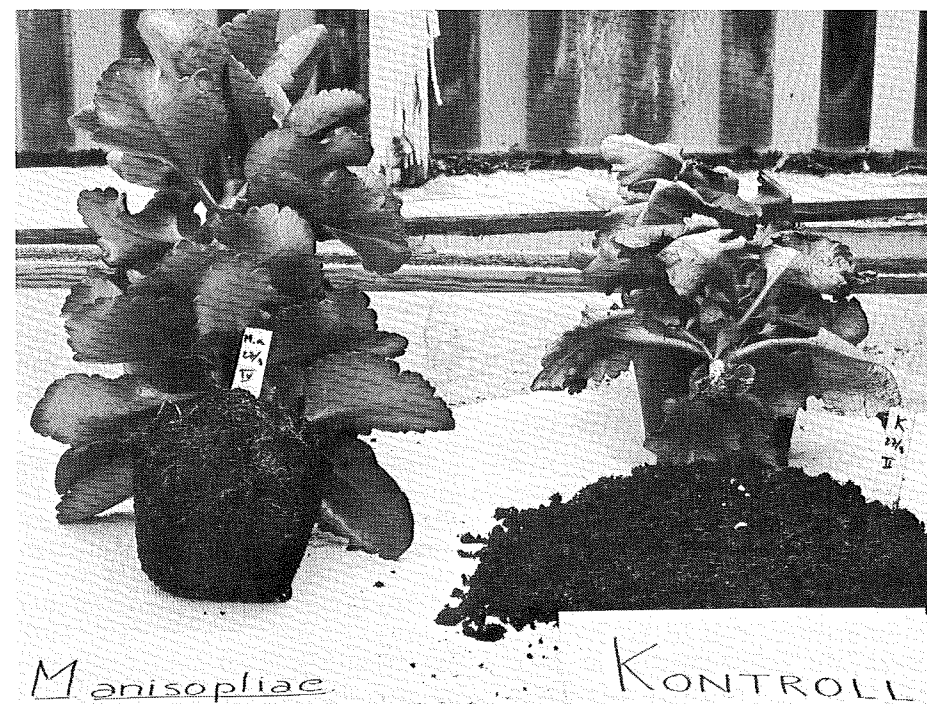


Bild 2. Rötter av Kalanchoë-plantor i försök med *M. anisopliae*.

**TABELL 2. Bekämpning av öronvivellarver genom behandling av jord med två insektspatogena svampar.**

	Antal larver per låda när plantorna var avättna		Antal larver som dog i »karantän» av totalantalet	Döda larver (återfunna) med svampinfektioner	
	Levande	Döda		Antal	I procent av totalantalet larver/låda
Kontroll 1.	61	0	40/61	0	0%
Kontroll 2.	30	0	18/30	10 (M.a.)	33,3
<i>M. anisopliae</i>					
1 × 10 <sup>6</sup> sporer/cm <sup>3</sup> jord					
Kontroll 1.	53	20	53/53	26 (M.a.)	35,6
Kontroll 2.	*)	—	—	—	—
<i>M. flavoviride</i>					
1 × 10 <sup>5</sup> sporer/cm <sup>3</sup> jord					
Kontroll 1.	27	3	14/27	10 (M.f.)	33,3
Kontroll 2.	74	3	43/74	20 (M.f.)	27,0

\*) Inga angripna plantor påträffades i denna låda, varför jorden ej undersöktes.

M.a.: *M. anisopliae*

M.f.: *M. flavoviride*

## Diskussion

I första försöket kunde *M. anisopliae* förhindra angrepp av öronvivellarver under de tre månader plantorna blev utsatta för öronvivlar. Förmodligen var det de yngsta larverna och äggen som hade blivit infekterade, eftersom vi kan anta att fullbildade öronvivlar lagt ägg i behandlade krukor, liksom i kontrollen. Fullbildade öronvivlar uppträdde rikligt i växthuset vid detta tillfälle, men då det gäller så små larver som det här är fråga om, är det svårt att bedöma infektionens betydelse.

I det andra försöket hade däremot endast en låda med behandlad jord (med *M. anisopliae*) oskadade plantor. Att svampen inte lyckats förhindra angreppet kan ha berott dels på att behandlingen skedde för sent (nämligen två månader efter exponeringen för öronvivlar), dels på att jorden i lådorna vid behandlingen var hård packad, vilket gjorde att sporrösningen rann ut på kanterna istället för att

tränga ner i jorden. Jorden fick därför troligen inte de avsedda doserna. Emellertid var mortaliteten bland larverna betydligt högre i de behandlade lådorna än i kontrollerna vid den avräkning som gjordes då plantorna var avättna, och även bland de vivlar som fanns i »karantän» blev dödligheten större i de behandlade leden.

Behandlingen med *M. flavoviride* hade en påtaglig verkan, eftersom denna svamp inte tidigare hade förekommit i våra odlingar och de resulterande infektionerna var sålunda en direkt följd av behandlingen.

## Slutord

Avslutningsvis kan konstateras att ytterligare undersökningar är nödvändiga för att finna en ekonomiskt acceptabel metod för sporproduktion, eftersom det krävs stora spormängder för att starta infektioner. Våra resultat tyder på att detta mycket väl är möjligt. Samtidigt bör också möjligheterna att minska dosen undersökas grundligare.

Det är i första hand användningen av *M. anisopliae* i växthus som verkar mest lovande. Hög temperatur och hög fuktighet är två faktorer som kraftigt gynnar svampen.

Användning av *M. anisopliae* på fri-land bör också undersökas, liksom

även svampens verkan på nyttoinsekter.

Slutligen vill jag rikta ett varmt tack till alla som hjälpt och stött mig under arbetets gång, och speciellt till fil. lic. Bengt Giege, vars uppmuntran jag satt stort värde på.

## Litteratur

- Barnes, G. L., Boethel, D. J., Eikenbary, R. D., Criswell, J. T. & Gentry, C. R., 1975: Growth and Sporulation of *Metarrhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on Media Containing various Peptone Sources. J. Inv. Pathol. 25, 301—305.
- Fargeus, J., 1975: Etude expérimentale dans la nature de l'utilisation combinée de *Beauveria bassiana* et d'insecticides à dose réduite contre *L. decemlineata*. Ann. Zool. Ecol. anim. 7(2), 247—264.
- Ferron, P., 1978: Biological Control of Insects Pests by Entomogenous Fungi. Ann. Rev. Entomol. 23: 409—442.
- Gams, W. & Rozsypal, J., 1973: *Metarrhizium flavoviride* N.sp. Isolate from Insects and from Soil. Act. Bot. Neerl. 22(5) 518—521.
- Giege, B. & Ödarp, B., 1973: Odlingförsök med *Beauveria bassiana* samt undersökningar över dess patogena effekt på *Otiorrhynchus sulcatus*. Uppsala Universitet. Augusti 1973. 17 ss.
- Hurpin, B., 1973: Lutte microbiologique et lutte intégrée. Proc. FAO Conference Ecol. in Relation to Plant Control. 207—247.
- Marchal, M., 1977: Fungi imperfecti isolés d'une population naturelle d'*Otiorrhynchus sulcatus*. Rev. Zool. agric. & Pathol. vég 76, 101—108.
- Müller-Kögler, 1976: Gewächshausversuche mit *Metarrhizium anisopliae* zur Infektion von *Sitona lineatus* im Boden. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 83, 96—108.
- Notini, G. och Mathlein, R., 1944: Grönmykos förorsakad av *Metarrhizium anisopliae*. Meddn. St. Växtek. anst. Nr. 43, 90 s.
- Tedders, W.L., Weaver, D.J. & Wehnt, E. J., 1973: Pecan Weevil: Suppression of Larvae with the Fungi *Metarrhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* and the Nematode *Neoplectana dutkyi*. J. Econ. Entomol. 66, 723—725.

(Manus inkom i november 1979)

PRADO, E., 1979. Control of black vine weevil larvae (*Otiorrhynchus sulcatus*) using the insect pathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium anisopliae* and *Metarrhizium flavoviride*. — Växtskyddsnotiser 44(6), 160—167.

In laboratory trials, *B. bassiana* was pathogenic to black vine weevil larvae at a rate of 4 × 10<sup>6</sup> spores/cm<sup>3</sup> soil. *M. anisopliae* had a higher pathogenic activity when applied at a rate of 1 × 10<sup>6</sup> spores/cm<sup>3</sup> soil, but even with the rate 1 × 10<sup>5</sup> spores/cm<sup>3</sup> soil complete control of the larvae was achieved. In a glass-house trial, *M. anisopliae* prevented damage by weevil larvae. In another trial, control was not obtained, probably due to too compact soil in the pots.

*M. flavoviride* caused infection in the larvae at the used rate, but could not control damage.

## Utgivarekorsband

Sveriges lantbruksuniversitet  
Konsulentavd./växtskydd  
Box 7044  
750 07 Uppsala

### I nästa nummer:

Växtskyddsåret 1980

Potatiscystnematoderna — problemområden och åtgärder

Behovsanpassad bekämpning av morotsflugan

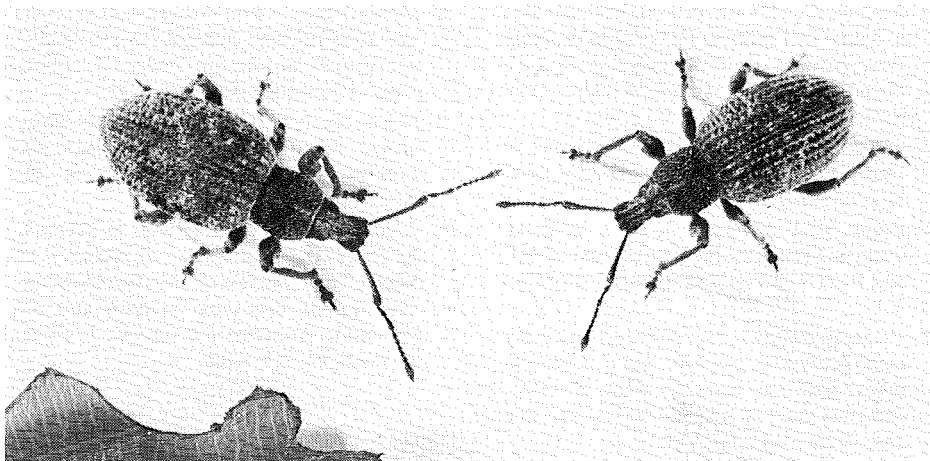
Det statliga växtskyddet

m.m. m.m.

### Nr 2, 1981

blir ett nytt temanummer om biologisk bekämpning med titeln:

Biologisk bekämpning av sjukdomar och ogräs



— *Hej igen! Hur mår du?*

— *Inget vidare. Alla artiklar om biologisk bekämpning gör mig nervös!*

## VÄXTSKYDDSNOTISER

Utgivna av Sveriges lantbruksuniversitet, Konsulentavd./växtskydd

Ansvarig utgivare: *Göran Kroeker*

Redaktör: *Annika Djurle*

Redaktionens adress: Sv. lantbruksuniversitet, Konsulentavd./växtskydd,  
Box 7044, 750 07 UPPSALA. Tel. 018/10 20 00

Prenumerationsavgift för 1981: 30 kronor  
Postgiro 78 81 41-0 Sv. lantbruksuniversitet, Uppsala

ISSN 0042-2169

*Reklam & Katalogtryck Uppsala 1981*