

# ***Laboratorijsko preizkušanje zatiranja plodove vinske mušice *Drosophila suzukii* z biopesticidi***

***Metode varstva rastlin z nizkim tveganjem, brez  
biotičnega varstva rastlin***

**Jaka Razinger, Špela Modic, Primož Žigon**

**Ljubljana  
2017**

# Kmetijski inštitut Slovenije

## Naročnik:

**Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano  
Direktorat za kmetijstvo  
Dunajska 22  
1000 Ljubljana**

## Izvajalec:

**Kmetijski inštitut Slovenije  
Hacquetova ulica 17  
1000 Ljubljana**

## Vsebina

Uvod .....	2
Metode in materiali.....	2
Gojenje plodove vinske mušice .....	2
Postopki .....	2
Zasnova poskusa.....	2
Rezultati in diskusija .....	3
Preventivni nanos bioinsekticidov.....	3
Kurativni nanos bioinsekticidov.....	5
Sklepi .....	6
Literatura .....	7

## Uvod

Plodova vinska mušica (PVM) (*Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931), Diptera, Drosophilidae) izvira iz Azije in je od l. 2008 zastopana v Severni Ameriki in Evropi, kjer povzroča škodo na jagodičevju (Cini in sod., 2014). Od ostalih sorodnih vrst vinskih mušic, ki se prehranjujejo na gnijočih in poškodovanih plodovih, se samice PVM razlikujejo po ostro nazobčani leglici, s katero lahko odlagajo jajčeca v nepoškodovane zoreče plodove in povzročijo večje izgube pridelka (Lee in sod., 2011).

PVM ima velik razmnoževalni potencial in ima skozi celo rastno dobo na razpolago številne gostiteljske rastline, zato je njeno zatiranje oteženo. Poleg tega lahko dorasle žerke zapustijo plod in se zabubijo v tleh sadovnjaka, kjer so varne pred insekticidi (Cuthbertson in sod., 2014a). Proučevanih je bilo že več strategij varstva PVM v nasadih ameriških borovnic, jagodnjaka, malinjaka (e.g. Bruck in sod., 2011; Van Timmeren and Isaacs, 2013) in drugih sadnih vrst, toda pri ekološki pridelavi sadja je raba insekticidov močno omejena, poleg tega njihova raba negativno vpliva na koristne organizme. Več raziskav v svetu je bilo usmerjenih v proučevanje parazitoidov in plenilcev (Chabert in sod. 2012; Gabarra in sod. 2015; Rossi Stacconi in sod. 2015; Woltz in sod. 2015), entomopatogenih ogorčic (Cuthbertson in sod., 2014b; Gargani in sod., 2013; Woltz in sod., 2015) in entomopatogenih gliv (Naranjo-Lázaro in sod., 2014) z namenom učinkovitega biotičnega zatiranja PVM.

Naša hipoteza je bila, da lahko bioinsekticidi na osnovi entomopatogenih gliv uspešno okužijo in uničijo PVM. Želeli pa smo preveriti tudi, če bioinsekticidi na osnovi entomopatogenih okužujejo in posledično zmanjšujejo pritisk škodljivca, če so naneseni na predhodno s PVM okužene plodove. Cilji raziskave so bili, a) določiti vpliv mikrobnih bioinsekticidov na zmanjšanje populacije mušic v plodovih ameriških borovnic pred okužbo s PVM (preskus preventivne aplikacije bioinsekticidov), ter b) določiti vpliv mikrobnih bioinsekticidov na zmanjšanje populacije mušic v plodovih ameriških borovnic, ki so že napadeni s PVM (preskus kurativne aplikacije bioinsekticidov).

## Metode in materiali

### Gojenje plodove vinske mušice

PVM smo gojili kot je to opisano v Razinger in sod. (2017).

### Postopki

V poskusu smo preizkusili insekticid Laser, dva bioinsekticida, Naturalis in Mycotal, ter 3 KIS seve entomopatogenih gliv:

1. Naturalis (a.u. *Beauveria bassiana*; 0,1% raztopina)
2. Mycotal (a.u. *Verticillium lecanii*; 0,1% raztopina)
3. Laser (a.u. spinosad; 0,09% raztopina)
4. *Metarhizium brunneum* (HJS 1154; konc.  $1 \times 10^6$  CFU/ml)
5. *Metarhizium brunneum* (HJS 1868; konc.  $1 \times 10^6$  CFU/ml)
6. *B. bassiana* (HJS 2121; konc.  $1 \times 10^6$  CFU/ml)
7. Negativna kontrola (destilirana voda)
8. ničta kontrola (brez nanosa bioinsekticidov ali vode)

### Zasnova poskusa

Zaradi izjemno majhnega naleta PVM v sadovnjaku ameriške borovnice (*Vaccinium corymbosum*; v nadaljevanju borovnice) na Ljubljanskem Barju in KIS sadovnjaku na Brdu pri Lukovici v letu 2017 smo

poskus zatiranja *D. suzukii* izvedli pod nadzorovanimi pogoji v laboratoriju KIS. Poskus je bil osnovan na izpostavitvi borovnic laboratorijsko vzgojeni populaciji PVM. Borovnice smo nabrali v sadovnjaku Brdo pri Lukovici. Poskus smo izvajali na dva načina. Glede na čas nanosa bioinsekticidov (pred ali po izpostavitvi PVM) smo v laboratoriju simulirali preventivno ali kurativno uporabo mikrobnih biopesticidov.

#### **a) Preventivni nanos bioinsekticidov**

V tem poskusu smo najprej po 70 borovnic na postopek tretirali (nanos s pršenjem) z bioinsekticidi, nato pa jih izpostavili 10 samicam in 10 samcem *D. suzukii* (v nadaljevanju vhodne mušice) v 1,5 L plastičnih škatlah, ki smo jih dali v rastno komoro (25°C, 77 % zračna vlaga, 10:14 h dan:noč). Šest in 9 dni po izpostavitvi (v nadaljevanju DPI) smo ocenili smrtnost in glivična obolenja (mikoze) vhodnih mušic. Deveti dan (9 DPI) smo 70 preventivno tretiranih in s strani PVM napadenih borovnic razdelili v alikvote po 10 borovnic v 250 ml plastične škatle, ter odstranili vse vhodne mušice. Petnajsti dan (15 DPI) smo ocenili število mušic, bub in ličink, ki so se razvile v 250 ml posodicah iz desetih tretiranih in napadenih borovnic.

#### **b) Kurativni nanos bioinsekticidov**

V tem poskusu smo borovnice najprej izpostavili laboratorijsko gojeni populaciji PVM za 3 dni (umetna infestacija oz. napad škodljivca), nato pa smo na borovnice nanесли bioinsekticide s pršenjem. Borovnice smo okuževali tako, da smo v 27-litrski insektarij v rastni komori dali po dve 1000 ml plastični škatli, od katerih je vsaka vsebovala 250 ml borovnic (skupaj 0,5 L borovnic, oz. približno 400 borovnic). V insektariju je bilo približno 400 PVM obeh spolov in različnih starosti. Tako smo borovnice izpostavili umetnemu napadu PVM za 72 h. Po umetnemu napadu PVM smo borovnice vzeli iz insektarija ter vse PVM odstranili. Na 50 napadenih borovnic na postopek smo nanесли ustrezni bioinsekticid, nato pa smo skupine 50 napadenih in tretiranih borovnic razdelili v skupine po 10 borovnic, ki smo jih dali v 250 ml plastične posodice in prestavili v rastno komoro (25°C, 77 % RH, 10:14 h dan:noč). Po šestnajstih dneh (16 DPI) od začetka napada PVM, oz. 13 dni po nanosu bioinsekticidov, smo prešteli mušice, bube in ličinke (nove generacije) v posodicah.

## **Rezultati in diskusija**

#### **Preventivni nanos bioinsekticidov**

Največjo smrtnost 20 vhodnih PVM smo zabeležili pri postopku Laser (100 % smrtnost že pri 6 DPI), sledil je postopek *M. brunneum* 1154 (50 % smrtnost 9 DPI) in Mycotal (35 % smrtnost 9 DPI) (Tabela 1). Opomba: zaradi razkroja mušic in okuženosti z entomopatogenimi glivami se spola mrtvih PVM ni dalo zanesljivo določiti.

**Tabela 1: Smrtnost 20 vhodnih PVM 6 in 9 dni po izpostavitvi (DPI), ter stopnja mikotičnih obolenj mušic 9 DPI. *Naturalis* - bioinsekticid na osnovi glive *Beauveria bassiana*; *Mycotal* - bioinsekticid na osnovi glive *Verticillium lecanii*; *Laser* - bioinsekticid na osnovi aktivne snovi spinosad.**

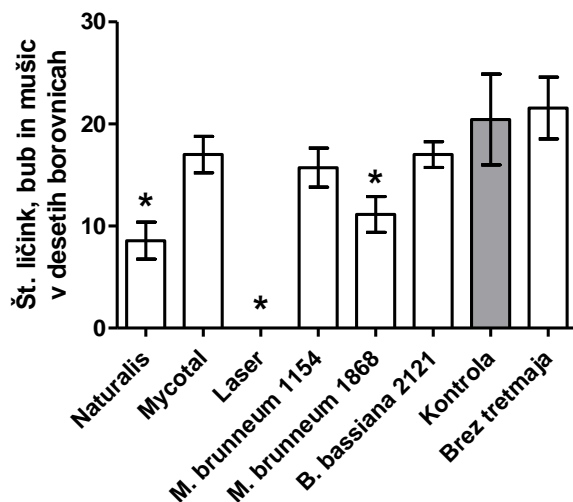
Postopek	Smrtnost vhodnih mušic 6 DPI <sup>1</sup> (%)	Smrtnost vhodnih mušic 9 DPI <sup>2</sup> (%)	Mikoze <sup>2</sup> (%)
Naturalis	20,00%	30,00%	50,00%
Mycotal	5,00%	35,00%	0,00%
Laser	100,00%	100,00%	0,00%
<i>M. brunneum</i> 1154	0,00%	50,00%	0,00%
<i>M. brunneum</i> 1868	15,00%	20,00%	25,00%
<i>B. bassiana</i> 2121	0,00%	10,00%	0,00%
Negativna kontrola	0,00%	0,00%	0,00%
Brez tretiranja	0,00%	10,00%	0,00%

<sup>1</sup> Dni po izpostavitvi.

<sup>2</sup> Delež mrtvih mušic, ki razvile mikotično obolenje.

Najboljšo učinkovitost proti vhodnim PVM je izkazovalo sredstvo Laser, kar ni presenetljivo, saj ima spinosad dokazano učinkovitost delovanja na muhe (Diptera). Ob uporabi sredstva Laser je bila dosežena 100 % smrtnost vhodnih mušic PVM (10 samcev in 10 samic) že po šestih dneh, in to zgolj ob posrednem tretiranju (sredstvo smo nanесли na borovnice in ne neposredno na mušice). Od obeh komercialnih bioinsekticidov na osnovi entomopatogenih gliv, *Naturalis* in *Mycotal*, je slednji v večji meri vplival na smrtnost vhodnih PVM. Po drugi strani pa je bioinsekticid *Naturalis* povzročil večjo stopnjo mikoz na mušicah, kar nakazuje, da je gliva *B. bassiana* bolj patogena za PVM od glive *V. lecanii*.

Preizkušena obravnavanja so imela značilen vpliv na število ličink, bub in mušic PVM, ki so se razvile v plodovih ameriških borovnic, na katere so bili pred izpostavitvijo PVM nanесли bioinsekticidi ( $F_{7,55} = 9,23$ ;  $P < 0,0001$ ; Slika 1). Značilno zmanjšanje napadenosti borovnic drugega rodu PVM smo zabeležili pri postopkih Laser ( $0,0 \pm 0,0$ ), *Naturalis* ( $8,6 \pm 1,8$ ) in *M. brunneum* 1868 ( $11,1 \pm 1,8$ ). V kontrolnem obravnavanju se je razvilo  $20,4 \pm 4,5$  ličink, bub in mušic PVM druge generacije na 10 borovnic.

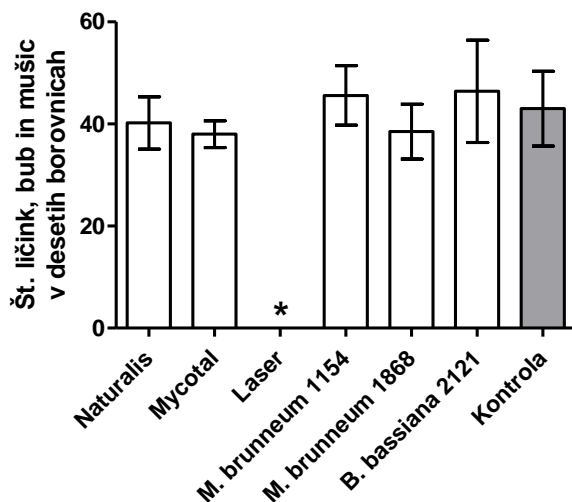


Slika 1: Število ličink, bub in mušic drugega rodu, ki so se razvile v desetih zdravih plodovih borovnic 15 dni po tretiranju z bioinsekticidi. Prikazano je povprečje  $\pm$  standardna napaka ( $N = 7$ ). *Naturalis* - bioinsekticid na osnovi glive *Beauveria bassiana* izolat ATCC 74040; *Mycotal* - bioinsekticid na osnovi glive *Verticillium lecanii*; *Laser* - bioinsekticid na osnovi aktivne snovi spinosad.

Sredstvo Laser je izkazovalo visoko učinkovitost proti PVM, saj nismo opazili nobenih ličink, bub ali mušic drugega rodu 15 dni po tretiranju z bioinsekticidi. Očitno je sredstvo delovalo na vse vhodne PVM, preden so oplojene samice prvega rodu (vhodne mušice) lahko legle jajčeca v borovnice. Čeprav smo značilno zmanjšanje napadenosti borovnic z drugo generacijo PVM zabeležili tudi pri bioinsekticidu *Naturalis* in entomopatogeni glivi *M. brunneum* 1868, ti dve obravnavanji nista bili dovolj učinkoviti, saj so bile borovnice 15 DPI popolnoma požrte in poškodovane od množice ličink PVM.

### Kurativni nanos bioinsekticidov

Preizkušena obravnavanja so imela značilen vpliv na število ličink, bub in mušic PVM, ki so se razvile v plodovih borovnic, ki so bili pred nanosom bioinsekticidov izpostavljeni PVM za tri dni ( $F_{6,33} = 7,44$ ;  $P < 0,0001$ ; Slika 2). Značilno zmanjšanje napadenosti borovnic s PVM smo zabeležili le pri postopku Laser ( $0,0 \pm 0,0$ ). V kontrolnem obravnavanju se je razvilo  $43,0 \pm 7,3$  ličink, bub in mušic PVM na 10 borovnic.



Slika 2: Število ličink, bub in mušic PVM, ki so se razvile v desetih napadenih borovnicah 13 dni po tretiranju z bioinsekticidi. Prikazano je povprečje ± standardna napaka (N = 5). *Naturalis* - bioinsekticid na osnovi glive *Beauveria bassiana* izolat ATCC 74040; *Mycotal* - bioinsekticid na osnovi glive *Verticillium lecanii*; *Laser* - bioinsekticid na osnovi aktivne snovi spinosad.

Čeprav bioinsekticid Laser ni deklariran, da bi imel sistemsko delovanje, saj gre za želodčni oz. dotikalni (kontaktni) insekticid, je izkazoval učinkovito kurativno delovanje na borovnicah. V borovnicah, ki smo jih za tri dni izpostavili kulturi spolno zrelih in oplojenih PVM in nato poškopili s sredstvom Laser, se ni razvilo nič ličink, bub in mušic PVM 13 dni po tretiranju z bioinsekticidom. Ostala obravnavanja se niso značilno razlikovala od kontrolnega.

## Sklepi

- Sredstvo Laser ima močan posredni učinek na PVM: nanosen na borovnice učinkovito deluje proti PVM. Tako v laboratorijskih pogojih izkazuje možnost preventivne uporabe.
- Sredstvo Laser v laboratorijskih pogojih izkazuje kurativni učinek na PVM, saj se v borovnicah izpostavljenih PVM za tri dni pred nanosom sredstva Laser niso razvile ličinke, bube ali mušice PVM.
- V preliminarnih laboratorijskih poskusih preizkušani bioinsekticidi na osnovi entomopatogenih gliv nezadostno zaščitijo borovnice v smislu preventivne uporabe: kljub značilnem zmanjšanju napadenosti borovnic z drugo generacijo PVM v postopkih *Naturalis* in *M. brunneum* 1868 so borovnice 15 DPI popolnoma propadle.
- V preliminarnih laboratorijskih poskusih preizkušani bioinsekticidi na osnovi entomopatogenih gliv ne izkazujejo kurativnega delovanja.

## Literatura

- Bruck, D.J., Bolda, M., Tanigoshi, L., Klick, J., Kleiber, J., DeFrancesco, J., Gerdeman, B., Spitler, H., 2011. Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in berry crops. *Pest Manag. Sci.* 67, 1375–85. doi:10.1002/ps.2242
- Chabert, S., Allemand, R., Poyet, M., Eslin, P., Gibert, P., 2012. Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. *Biol. Control* 63, 40–47. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.05.005
- Cini, A., Anfora, G., Escudero-Colomar, L.A., Grassi, A., Santosuosso, U., Seljak, G., Papini, A., 2014. Tracking the invasion of the alien fruit pest *Drosophila suzukii* in Europe. *J. Pest Sci.* (2004). 87, 559–566. doi:10.1007/s10340-014-0617-z
- Cuthbertson, A.G.S., Blackburn, L.F., Audsley, N., 2014. Efficacy of Commercially Available Invertebrate Predators against *Drosophila suzukii*. *Insects* 5, 952–960. doi:10.3390/insects5040952
- Cuthbertson, A.G.S., Collins, D.A., Blackburn, L.F., Audsley, N., Bell, H.A., 2014. Preliminary screening of potential control products against *Drosophila suzukii*. *Insects* 5, 488–498. doi:10.3390/insects5020488
- Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G. a., Pujade-Villar, J., Arnó, J., 2015. Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl* 60, 331–339. doi:10.1007/s10526-014-9646-z
- Gargani, E., Tarchi, F., Frosinini, R., Mazza, G., Simoni, S., 2013. Notes on *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera Drosophilidae): field survey in Tuscany and laboratory evaluation of organic products. *Redia*.
- Lee, J.C., Bruck, D.J., Dreves, A.J., Ioriatti, C., Vogt, H., Baufeld, P., 2011. In Focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *Pest Manag. Sci.* 67, 1349–1351. doi:10.1002/ps.2271
- Naranjo-Lázaro, J.M., Mellín-Rosas, M.A., González-Padilla, V.D., Sánchez-González, J.A., Moreno-Carrillo, G., Arredondo-Bernal, H.C., 2014. Susceptibility of *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) to Entomopathogenic Fungi. *Southwest. Entomol.* 39, 201–203. doi:10.3958/059.039.0119
- Razinger, J., Fink, K., Kerin, A., Modic, Š., Urek, G., 2017. Dovzetnost bub plodove vinske mušice (*Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)) za okužbo z entomopatogenimi glivami / Susceptibility of spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)) pupae to entomopathogenic fungi. *Acta Agric. Slov.* 109, 125–134. doi:10.14720/aas.2017.109.1.12
- Rossi Stacconi, M.V., Buffington, M., Daane, K.M., Dalton, D.T., Grassi, A., Kaçar, G., Miller, B., Miller, J.C., Baser, N., Ioriatti, C., Walton, V.M., Wiman, N.G., Wang, X., Anfora, G., 2015. Host stage preference, efficacy and fecundity of parasitoids attacking *Drosophila suzukii* in newly invaded areas. *Biol. Control* 84, 28–35. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.02.003
- Rota-Stabelli, O., Blaxter, M., Anfora, G., 2013. *Drosophila suzukii*. *Curr. Biol.* 23, R8–R9. doi:10.1016/j.cub.2012.11.021
- Van Timmeren, S., Isaacs, R., 2013. Control of spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, by specific insecticides and by conventional and organic crop protection programs. *Crop Prot.* 54, 126–133. doi:10.1016/j.cropro.2013.08.003
- Walse, S.S., Krugner, R., Tebbets, J.S., 2012. Postharvest treatment of strawberries with methyl



bromide to control spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. J. Asia. Pac. Entomol. 15, 451–456. doi:10.1016/j.aspen.2012.05.003

Woltz, J.M., Donahue, K.M., Bruck, D.J., Lee, J.C., 2015. Efficacy of commercially available predators, nematodes and fungal entomopathogens for augmentative control of *Drosophila suzukii*. J. Appl. Entomol. 139, 759–770. doi:10.1111/jen.12200