Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach
Zakład Ochrony Roślin Sadowniczych

Kierownik Projektu: Dr hab. Barbara H. Łabanowska prof. IO

Sprawozdanie z realizacji zadania w 2014 roku
Sadownictwo metodami ekologicznymi: Określenie dobrych praktyk ochrony przed szkodnikami i chorobami w uprawach sadowniczych. Zwalczanie szkodników żyjących w glebie metodami ekologicznymi

Wykonawcy: dr hab. Eligio Malusa prof. IO, dr Małgorzata Tartanus, dr Zofia Płuciennik, mgr Wojciech Piotrowski, mgr Małgorzata Gruchała, Barbara Sobieszek, Bożena Pawlik, Stanisław Lesiak, Teresa Zaborska

Subkontraktor: dr hab. Cezary Tkaczuk prof. UPH Siedlce

Zrealizowano na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 11 czerwca 2014 r., nr HORre-029-31-29/14(103)

Skierniewice, 2014

Wstęp i cel badań

Od wielu lat szkodniki żyjące w glebie, a szczególnie pędraki – larwy chrabąszcza majowego (M*elolontha melolontha*) i opuchlaki (*Ohiorhynchus spp.*) powodują duże szkody na plantacjach roślin uprawnych, szczególnie tych prowadzonych systemem ekologicznym. W takich uprawach do walki z pędrakami wykorzystuje się metodę mechaniczną, tzn. uprawę gleby maszynami z ostrymi elementami np. glebogryzarką, talerzówką, metodę biologiczną, – w której stosuje się czynniki biologicznego zwalczania, głównie środki zawierające grzyby owadobójcze oraz nicienie entomopatogeniczne, metodę fitosanitarną – uprawa gryki na glebie zasiedlonej przez pędraki.

Chrabąszcz majowy

Chrząszcze opuchlaków

Wypadanie roślin uszkodzonych przez pędraki (Brzostówka, 2014)

Celem prowadzonych badań było opracowanie i ocena różnych, nie chemicznych metod zwalczania pędraków, stosowanych pojedynczo lub w kombinacjach łączonych, dla zwiększenia efektywności zabiegów w trudnych warunkach glebowych i przy wysokim zagęszczeniu szkodnika w glebie. Badania realizowano w sześciu obiektach (w czterech polowych – prywatne plantacje truskawki w okolicach Lubartowa oraz w jednym

wazonowym i jednym laboratoryjnym). Plantacje truskawek, na których zakładano doświadczenia polowe są certyfikowane przez jednostki certyfikujące w rolnictwie ekologicznym.

Ogólna metodyka badań

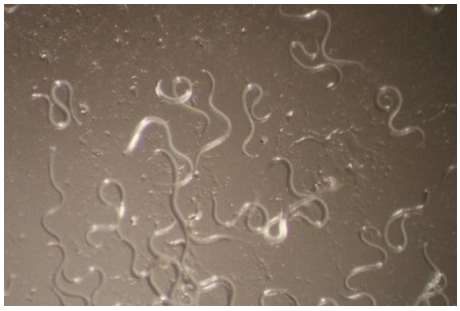
Doświadczenia zakładano metodą bloków losowanych w 4-6 powtórzeniach, na plantacjach prowadzonych systemem ekologicznym.

Stosowane metody zwalczania pędraków w glebie

Metoda mechaniczna – stosowanie orki, wszelkiego rodzaju zabiegów uprawowych maszynami z ostrymi elementami typu glebogryzarka, talerzówka lub pielniki.

Metoda biologiczna – stosowanie czynników biologicznego zwalczania zawierających grzyby owadobójcze i nicienie entomopatogeniczne. Zastosowano następujące środki:

1. Nemasys G zawierający nicienie entomopatogeniczne - (*Heterorhabditis bacteriophora*);
2. Larvanem zawierający nicienie entomopatogeniczne - (*Heterorhabditis bacteriophora*);
3. Inokulum zawierające grzyby owadobójcze (*Beauveria bassiana*) izolowany w Polsce;
4. Inokulum zawierające grzyby owadobójcze (*Beauveria brongniarti)* izolowany w Polsce*;*
5. Met 52 Granular zawierajacy grzyby owadobójcze - (*Metarhizium anisopliae*)



Nicienie entomoptogeniczne

Grzyby owadobójcze

Metoda fizyczna – stosowanie zabiegu odkażania gleby aktywną parą wodną według następującego schematu:

a) substancja do reakcji egzotermicznej jest rozprowadzana na glebie; dystrybutor może regulować dawkę w zależności od potrzeb, które zależą od rodzaju gleby;
b) wprowadzenie substancji do gleby, która ma być poddana odkażaniu, podczas jej zaorywania na odpowiednią głębokość (np. od 5-7 cm do 20-25 cm), zabieg jest przeprowadzany przy pomocy obrotowej brony wyposażonej w specjalne noże.
c) wprowadzenie pary wodnej przy pomocy wtryskiwacza; wtryskiwana para wodna jest odpowiednio regulowana w zależności od typu wymaganego zabiegu: do injektora w specjalnej osłonie systemu wtryskiwania maszyny w przypadku płytkiego zabiegu lub bezpośrednio do gleby na jedną lub dwie głębokości w przypadku zabiegu na średnią lub dużą głębokość.
d) przykrycie gleby folią w celu prawidłowego działania pary wodnej.

Metoda fitosanitarna - wysiew i uprawa gryki, która zawiera taniny ograniczające rozwój pędraków. Pędraki giną nie osiągając stadium owada dorosłego - imago.

Metodyki przeprowadzonych ocen

Ocena liczebności pędraków w glebie – ocenę wykonywano znaną i stosowaną we wcześniejszych doświadczeniach, metodą pobierania gleby z dołków o wymiarach 25cmx25cm, głębokości 30 cm (minimum z 8 dołków z powtórzenia, czyli z 2 m^2 z każdej kombinacji doświadczalnej). Glebę wyrzucano na płachty z folii i przeglądano w poszukiwaniu pędraków. Oceny wykonywano: przed założeniem doświadczeń licząc żywe pędraki oraz po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania licząc zdrowe i zainfekowane pędraki.

Ocena stanu zdrowotności roślin - oceny stanu zdrowotnego roślin truskawki po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania dokonano jesienią (wrzesień) 2014 roku licząc zdrowe i uszkodzone rośliny.

Metoda pobierania prób i ocena zawartości jednostek infekcyjnych grzybów entomopatogenicznych w glebie - glebę do analizy obecności i identyfikacji czynników entomopatogeniczych pobrano 12.09.2014 roku. Próby gleby pobierano za pomocą laski Egnera, do głębokości 20 cm z 20-25 punktów rozmieszczonych losowo na każdej kombinacji. Z próbek tych sporządzono próbę średnią (ok. 1 -1,5 kg).

Zagęszczenie jednostek tworzących kolonie (CFU – colony forming units) grzybów owadobójczych w glebie określono, stosując do izolacji podłoże selektywne opracowane przez Strassera i wsp. (1996), które jest powszechnie używane do izolowania grzybów entomopatogenicznych z gleby (Keller i wsp. 2003; Meyling i Eilenberg 2006). W tym celu z każdej próby średniej pochodzącej z danej kombinacji, odważano po 2 g gleby, a następnie dodawano 18 ml wody destylowanej z dodatkiem 0,05% roztworu Trithon X-100 i energicznie wytrząsano przez minimum 45 – 60 sekund. Następnie wylewano po 0,1 ml

roztworu glebowego i rozprowadzano za pomocą szklanej szpatułki na powierzchni podłoża selektywnego o następującym składzie: 1 litr wody, 10 g peptonu, 20 g glukozy i 18 g agaru. Po sterylizacji i schłodzeniu do podłoża dodawano składniki selektywne: 0,6 g siarczanu streptomycyny, 0,05 g chlorotetracykliny, 0,05 g cykloheksamidu oraz 0,1 g dodyny. Cztery szalki Petriego stanowiły czterokrotne powtórzenie dla każdej próby glebowej. Szalki umieszczono w inkubatorach w temperaturze 22^0 C i po upływie 8-10 dni liczono kolonie poszczególnych gatunków grzybów owadobójczych. W celu dokładnego oznaczenia gatunku kultury grzybowe przeszczepiano na podłoże hodowlane Sabourauda (SDA), a następnie oznaczano mikroskopowo z wykorzystaniem standardowych kluczy. Wyniki wyrażono w postaci liczby jednostek tworzących kolonie (CFU) grzybów owadobójczych w 1 g suchej gleby.

Ocena liczebności nicieni entomopatogenicznych - próby glebowe pobierane były przy pomocy laski glebowej o średnicy 20 mm, wbijając ją na głębokość 30-35 cm. Około 2 cm wierzchniej warstwy gleby nie było włączane do próby. Ukłucia laską glebową rozmieszczone były równomiernie na całej powierzchni poletek. Powtórzenie stanowiła próba gleby, pochodząca z 10 wkłuć laską glebową. Po dokładnym zmieszaniu i rozdrobnieniu próby, analizie nematologicznej poddane było 250 gram gleby. W celu określenia liczebności nicieni w pobranych próbach gleby, nicienie wypłukano za pomocą aparatu Oostenbrinka (MEKU, Niemcy), izolowano metodą wirówkową, a następnie zakonserwowano w mieszaninie TAF (Wilski, 1967). Identyfikację nicieni do gatunku przeprowadzono na podstawie preparatów mikroskopowych wykonanych metodą laktoglicerynową (za: Rys, 2003, zmodyfikowana) z zakonserwowanych osobników.

Podzadanie 1
Zwalczanie pędraków chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*) przed założeniem plantacji

Szczegółowa metodyka badania

Doświadczenie założono w 4 powtórzeniach, w miejscowości Nowa Wola na polu, na którym w późniejszym okresie posadzono rośliny truskawki odmiany Senga Sengana. Ocenę liczebności pędraków w glebie wykonano w dniu 24 kwietnia 2014 roku, metodą opisaną powyżej. Natomiast próby gleby do oceny obecności występujących w niej grzybów owadobójczych pobierano dwukrotnie: pierwszy raz przed założeniem doświadczenia 20 maja i po wprowadzeniu czynników biologicznego zwalczania - 12 września 2014 roku. Podczas przygotowania gleby przed sadzeniem roślin jak i w czasie prowadzenia plantacji (w międzyrzędziach) wykonywano mechaniczne uprawki odchwaszczające (metoda mechaniczna). Przed sadzeniem roślin wykonano orkę pługiem dwuskibowym, oraz uprawki glebogryzarką polową, natomiast podczas prowadzenia plantacji wykorzystano pielnik do pielenia i spulchniania gleby. Czynniki biologicznego zwalczania stosowano w dawkach dzielonych, przed posadzeniem roślin oraz w trakcie ich wzrostu. Zastosowane czynniki biologicznego zwalczania, dawki, daty i sposób aplikacji przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Wykaz kombinacji, Nowa Wola 2014

Czynnik biologicznego zwalczania	Dawka	Liczba dawek dzielonych	Termin stosowania	Sposób aplikacji
inokulum *B.bassiana*	10 kg/ha	4	20.05 25.06 27.07 23.08	rozsiewanie rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
inokulum *B. brongniartii*	10 kg/ha	4	20.05 25.06 27.07 23.08	rozsiewanie rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	5 kg/ha + 5 kg/ha	4	20.05 25.06 27.07 23.08	rozsiewanie rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
Met 52 Granular	50 kg/ha	3	20.05 25.06 27.07	rozsiewanie rozsiewanie rozsiewanie
Nemasys G	50 mln/50 m^2	1	20.05	zawiesina wodna
Nemasys G (2)	100 mln/50 m^2	2	20.05 25.06	zawiesina wodna zawiesina wodna

Preparat zawierający nicienie stosowano jako zawiesinę wodną w formie opryskiwania, natomiast preparaty zawierające grzyby rozsiewano ręcznie. Podczas ostatniego zabiegu 23 sierpnia wszystkie środki stosowane w tym terminie były w formie zawiesiny wodnej z dodatkiem produktu organicznego pobudzającego inokulum grzybów do namnażania się. Przy aplikacji zawiesin wodnych użyto opryskiwacza ciagnikowego z belką polową i dyszami płaskostrumieniowymi oraz najniższe ciśnienie robocze, by nie uszkodzić struktury czynników biologicznego zwalczania. Po każdym zabiegu zaaplikowane czynniki biologicznego zwalczania mieszano z glebą za pomocą pielnika do pielenia i spulchniania gleby. Oceny stanu zdrowotnego roślin truskawki po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania dokonano w dniu 12 września 2014 roku.

Stosowanie czynników biologicznego zwalczania

Mieszanie z glebą czynników biologicznego zwalczania

Wyniki

Przed założeniem doświadczenia stwierdzono zagęszczenie pędraków na poziomie średnio 1-2 sztuki na 1 m^2 pola. Wyniki oceny stanu zdrowotnego roślin truskawki po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania zestawiono w Tabeli 2, a wyniki oceny zawartości grzybów owadobójczych oraz nicieni entomopatogenicznych w glebie w Tabeli 3.

Tabela 2. Wpływ czynników biologicznego zwalczania pędraków zastosowanych przed założeniem plantacji i podczas jej prowadzenia na uszkodzenie (zdrowotność) roślin truskawki odm. Senga Sengana przez pędraki

Nowa Wola, 2014

Kombinacja	Liczba roślin		Procent uszkodzonych roślin	Redukcja roślin w stosunku do kontroli (w %)
	zdrowych	uszkodzonych		
Kontrola	409	109	21	-
inokulum *B.bassiana*	475	45	9	58,7
inokulum *B. brongniartii*	441	59	12	45,9
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	434	46	10	57,8
Met 52 Granular	492	60	11	45,0
Nemasys G	441	42	9	61,5
Nemasys G (2)	424	36	8	67,0

Efekt działania oceniony na podstawie uszkodzenia roślin przez pędraki wskazuje, że na chronionych poletkach, redukcja uszkodzeń, w stosunku do roślin kontrolnych, była na poziomie 43-62,0%, zależnie od zastosowanego czynnika biologicznego zwalczania. Najwyższą redukcję uszkodzonych roślin stwierdzono po zastosowaniu nicieni – Nemasys G oraz *B. bassiana* - redukcja 57,1-61,9%. Efektywność pozostałych środków była o kilka procent niższa.

Tabela 3. Zagęszczenie jednostek infekcyjnych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) grzybów owadobójczych w badanych glebach

Nowa Wola, 2014

Kombinacja	Gatunek grzyba				*Hetero-rhabditis* sp.
	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*	
Przed wprowadzeniem czynników biologicznego zwalczania					
-	0,3	0	3,1	2,3	-
Po wprowadzeniu czynników biologicznego zwalczania					
Kontrola	0,1	0	0	1,4	
inokulum *B.bassiana*	0,8	0	1,1	2,3	-
inokulum *B. brongniartii*	0,4	1,2	0,9	1,9	-
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B.brongniartii*	0,7	0,1	1,1	1,4	-
Met 52 Granular	0,1	0	0,4	5,5	-
Nemasys G	-	-	-	-	3
Nemasys G (2)	-	-	-	-	3

W próbach gleby z kombinacji kontrolnej stwierdzono obecność tylko dwóch gatunków grzybów owadobójczych. Gatunkiem dominujacym był *M. anisopliae* (1.4 x 10^3

CFU g^{-1} gleby), ponadto w niewielkim nasileniu wystąpił grzyb *B. bassiana* (0.1x 10^3 CFU g^{-1} gleby).

Zastosowanie preparatów zawierających grzyby owadobójcze skutkowało pojawieniem się i zwiększeniem zagęszczenia ich jednostek infekcyjnych (CFU) w glebie z tej plantacji jesienią. Po zastosowaniu preparatu zawierającego zarodniki grzyba *B. brongniartii* w dawce 10 kg/ha, stwierdzono jesienią obecność tego grzyba w ilości 1.2 x 10^3 CFU g^{-1} gleby. Również w przypadku aplikacji 10 kg/ha formulacji zawierającej zarodniki grzyba *B. bassiana* odnotowano wzrost liczby tego grzyba (0.8 x 10^3 CFU g^{-1} gleby) w porównaniu z kontrolą (0.1x10^3 CFU g^{-1} gleby). W przypadku łącznego zastosowania obu gatunków grzybów, ale w mniejszych dawkach (po 5 kg), wzrost liczby jednostek tworzących kolonie tych gatunków w glebie był mniejszy, zwłaszcza w przypadku grzyba *B. brongniartii*. Po zastosowaniu grzyba *Metarhizium anisopliae* w formie granulatu (50 kg/ha) odnotowano jesienią znaczny wzrost liczby CFU tego gatunku w glebie (5.5 x 10^3 CFU g^{-1} gleby) w porównaniu z kombinacją kontrolną (1.4 x 10^3 CFU g^{-1} gleby).

W pobranych próbach gleby stwierdzono obecność nicieni entomopatogenicznych - *Heterorhabditis* sp.

Podsumowanie

1. Po zastosowaniu kopleksowego zwalczania pędraków chrabaszcza majowego (*Melolontha melolontha*), z wykorzystaniem połączenia metody mechanicznej (zabiegi uprawowe przed sadzeniem) i biologicznej (stosowanie czynników biologicznego zwalczania) we wszystkich stosowanych kombinacjach uzyskano redukcję liczby uszkodzonych przez szkodnika roślin (45,0 - 67,0%).
2. Po wprowadzeniu do gleby podczas zabiegów grzybów owadobójczych zagęszczenie ich jednostek infekcyjnych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) wzrosło we wszystkich kombinacjach.

Podzadanie 2

Rola przedplonu i zabiegów mechanicznych w ograniczaniu pędraków chrabąszczy podczas przygotowania gleby pod uprawę

Szczegółowa metodyka badania

Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach, w miejscowości Brzostówka na polu, na którym później posadzono rośliny truskawki odmiany Polka. Od wiosny do czerwca na tym polu była uprawiana gryka (metoda fitosanitarna) na przyoranie.

Uprawa gryki

Ocenę liczebności pędraków w glebie przed założeniem doświadczenia wykonano 22 lipca 2014 roku, metodą opisaną w metodyce ogólnej. W czasie przygotowywania gleby stosowano narzędzia uprawowe – glebogryzarkę oraz specjalny agregat uprawowy (metoda

mechaniczna). W pierwszych dniach sierpnia zastosowano zabieg odkażania gleby aktywną parą wodną (metoda fizyczna) według schematu opisanego w metodyce ogólnej.

Proces odkażania gleby aktywną parą wodną

Następnego dnia po zabiegu parą wodną oraz 21 sierpnia zastosowano czynniki biologicznego zwalczania w postaci zawiesiny wodnej, a do preparatów zawierających grzyby owadobójcze dodano produkt organiczny pobudzający inokulum grzybów do namnażania się. Do aplikacji użyto opryskiwacza ciągnikowego z dyszami wirowymi o dużej średnicy, bez użycia wentylatora, by nie uszkodzić struktury czynników biologicznego zwalczania. Po każdym zabiegu zaaplikowane czynniki biologicznego zwalczania były mieszane z glebą. Zastosowane czynniki biologicznego zwalczania, dawki, daty i sposób aplikacji przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4. Wykaz kombinacji, Brzostówka 2014

Czynnik biologicznego zwalczania	Dawka	Liczba dawek dzielonych	Termin stosowania	Odkażanie gleby	
				Tak	Nie
inokulum *B.bassiana*	15 kg/ha	2	3.08 21.08	+	+
inokulum *B. brongniartii*	15 kg/ha	2	3.08 21.08	+	+
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	7,5 kg/ha + 7,5 kg/ha	2	3.08 21.08	+	+
Met 52 Granular	50 kg/ha	2	3.08 21.08	+	+
Nemasys G	50 mln/50 m^2	1	3.08	+	+
Nemasys G (2)	100 mln/50 m^2	2	3.08 21.08	+	+

Gleba po zabiegu odkażania parą wodną | Zabieg stosowania czynników biologicznego zwalczania

Z poletek, na które wprowadzono czynniki biologicznego zwalczania, w dniu 12 września pobrano próby gleby do oceny obecności grzybów owadobójczych. W październiku na wszystkich poletkach zostały posadzone rośliny truskawki.

Wyniki

Przed założeniem doświadczenia, w drugiej połowie lipca, stwierdzono obecność od 1-2 pędraków na 1 m^2 pola.

Oceny liczebności żywych i zainfekowanych pędraków w glebie na wszystkich poletkach dokonano 12 września. W tym czasie znajdowano częściej żywe pędraki na poletkach bez zabiegu odkażania niż na poletkach z odkażaniem gleby. Dla pełnej oceny zastosowanych metod zwalczania pędraków w tym doświadczeniu konieczna będzie ocena stanu zdrowotnego posadzonych roślin truskawki wiosną 2015 roku, kilka miesięcy po założeniu plantacji. Wtedy też będzie można dokonać pełnej oceny liczebności pędraków żywych i zainfekowanych przez czynniki biologicznego zwalczania.
Wyniki oceny zawartości jednostek infekcyjnych grzybów owadobójczych w glebie zestawiono w Tabeli 5.

Tabela 5. Zagęszczenie jednostek infekcyjnych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) grzybów owadobójczych w badanych glebach (Doświadczenia przed założeniem plantacji z użyciem pary wodnej)

Brzostówka, 2014

Wprowadzony gatunek grzyba	Gatunek grzyba			
	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*
Odkażanie gleby parą wodną				
Kontrola	0,1	0	0	1,1
inokulum *B. bassiana*	3,2	0	0	1,4
inokulum *B. brongniartii*	0,7	0,6	0	0,2
inokulum *B. bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	0,2	0	0,1	0,1
Bez odkażania gleby parą wodną				
Kontrola	1,8	0	0,2	2,5
inokulum *B. bassiana*	1,7	0	1,0	1,4
inokulum *B. brongniartii*	1,0	0,2	1,7	0,6
inokulum *B. bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	0,7	0	0,4	4,1

W próbach gleby z kombinacji kontrolnej z doświadczenia gdzie przed założeniem plantacji zastosowano parowanie gleby, stwierdzono obecność tylko dwóch gatunków grzybów, tj. *M. anisopliae* i *B. bassiana*. Zdecydowanie dominował *M. anisopliae*, który tworzył średnio 1.1 x 10^3 CFU g^{-1} gleby. Potwierdza to informacje z literatury, które mówią. że *M. anisopliae* jest najbardziej termofilny spośród grzybów owadobójczych należących do Ascomycota (Hypocreales). Po zastosowaniu gorącej pary a następnie preparatu z *B. bassiana* w dawce 15 kg/ha, stwierdzono znaczny (ponad 30-sto krotny) wzrost liczby jednostek tego grzyba w glebie (3.2 x 10^3 CFU g^{-1} gleby) w porównaniu z kontrolą. Po zastosowaniu grzyba *B. brongniartii* w dawce 15 kg/ha w próbach gleby pobranych z tej kombinacji odnotowano obecność 0.6 x 10^3 CFU g^{-1} gleby tego gatunku grzyba. Po łącznej

aplikacji obu gatunków grzybów, ale w mniejszych dawkach (7,5+7,5 kg/ha), liczba jednostek *B. bassiana* w glebie była zbliżona do kombinacji kontrolnej, a obecności jednostek infekcyjnych grzyba *B. brongniartii* nie stwierdzono.

W próbach gleby z kombinacji kontrolnej, gdzie uprzednio nie zastosowano parowania gleby, liczba jednostek infekcyjnych grzybów owadobójczych była znacznie wyższa niż w glebie parowanej, co świadczy o inhibicyjnym wpływie procesu parowania na rozwój tych grzybów w glebie. Zastosowanie preparatu zawierającego zarodniki *B. bassiana* w dawce 15 kg/ha nie miało istotnego wpływu na wzrost liczby tego grzyba w glebie porównaniu z kontrolą. Po zastosowaniu grzyba *B. brongniartii,* zaaplikowany w dawce 15 kg/ha odnotowano obecność 0.2 x 10^3 CFU g^{-1} gleby. Po zastosowaniu preparatów zawierających zarodniki obu gatunków grzybów łącznie, ale w mniejszych dawkach 7,5+7,5 kg/ha, nie stwierdzono wzrostu liczby CFU tych gatunków w glebie. Wynikało to prawdopodobnie ze zbyt małej dawki, ale może również silnych oddziaływań antagonistycznych mikroflory w glebie niepoddanej wcześniejszemu działaniu pary wodnej

Podsumowanie

1. Na polu, na którym zastosowano kompleks metod zwalczania pędraków: metodę fitosanitarną - (uprawa gryki), mechaniczną (zabiegi uprawowe maszynami z ostrymi końcówkami) i fizyczną (odkażanie gleby parą wodną) ograniczono liczebność szkodnika, gdyż pod koniec sezonu, we wrześniu znajdowano tylko pojedyncze osobniki.
2. Na poletkach, na których stosowano metodę fizyczną (gorąca para wodna) a nastepnie czynniki biologicznego zwalczania (środki zawierające grzyby owadobójcze) zagęszczenie czynników biologicznego zwalczania było większe, niż na glebie, na której nie stosowano parowania gleby a tylko środki zawierajace grzyby patogeniczne.

Podzadanie 3
Ocena efektywności czynników biologicznych w zwalczaniu pędraków w doświadczeniu wazonowym

Szczegółowa metodyka badań

W podzadaniu tym wykonano dwa doświadczenia. W pierwszym z nich dokonano oceny efektywnośći działania czynników biologicznego zwalczania – uprawa wazonowa, natomiast w drugim poczyniono próbę identyfikacji roślinnych substancji mających właściwości wabiące lub odstraszające pędraki.

Doświadczenie I

Uprawa wazonowa została założona w 5 powtórzeniach (1 wazon stanowił powtórzenie), ze zdrowych, kwalifikowanych sadzonek truskawek typu ‘Frigo’ odmiany Senga Sengana w insektarium ZORS IO w Skierniewicach. Rośliny zostały posadzone 14 maja po 5 sztuk w wazonach (skrzynkach) w specjalnie przygotowane podłoże o ph 7. Wazony odizolowano specjalnymi matami izolacyjnymi (maty powszechnie używane w szkółkarstwie) zarówno między kombinacjami doświadczalnymi i od gleby na której stały (aby zapobiec niekontrolowanemu przemieszczaniu się pędraków). Od góry pojemniki z roślinami przykryto agrowłókniną, której celem było zapobieganie wybieraniu pędraków przez ptaki.
Doświadczenie założono w dwu wariantach:

A) czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono do pojemników z roślinami, przed umieszczeniem w nich pędraków.
B) czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono do pojemników z roślinami, po wcześniejszym umieszczeniu w nich pędraków.

Pędraki do doświadczenia pozyskano metodą wykopywania ich z gleby (przekopywanie gleby i wybieranie pędraków) dwukrotnie w dniu 27 maja – pole nr 1 i 10 czerwca pole nr 2.

Pozyskiwanie pędraków z gleby

Zbierane pędraki umieszczano po 4 sztuki, bezpośrednio na polu, w specjalnie przygotowanych pojemnikach z lekkim substratem glebowym i przewożono do insektarium. Następnie wraz z podłożem umieszczano w wazonach (pojemnikach) z roślinami. Z pól, z których pozyskiwano pędraki pobrano również próby gleby w celu oceny i identyfikacji grzybów owadobójczych naturalnie występujących w glebie. Pędraki do wazonów wprowadzano dwukrotnie 28 maja i 11 czerwca po 4 sztuki do każdego z nich, w sumie w każdym wazonie (skrzynce) umieszczono po 8 po 8 pędraków (8/0,1 m^2).
Wykaz zastosowanych czynników biologicznego zwalczania, dawki i terminy aplikacji przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 6. Wykaz kombinacji doświadczalnych w insektarium, Skierniewice 2014.

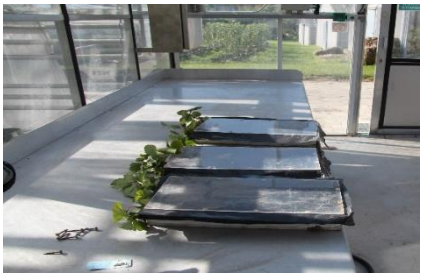
Czynnik biologicznego zwalczania	Dawka (w przeliczeniu)	Liczba dawek dzielonych	Termin stosowania
Wariant A - czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono wcześniej niż pędraki			
inokulum *B. bassiana*	5 kg/ha	1	22.05
inokulum *B. brongniartii*	5 kg/ha	1	22.05
Met 52 Granular	50 kg/ha	1	22.05
Nemasys G	50 mln/50 m^2	1	22.05
Watiant B - czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono później niż pędraki			
inokulum *B. bassiana*	5 kg/ha	1	13.06
inokulum *B. brongniartii*	5 kg/ha	1	13.06
Met 52 Granular	50 kg/ha	1	13.06
Nemasys G	50 mln/50 m^2	1	13.06
Nemasys G (2)	100 mln/50 m^2	2	13.06 20.06

Oceny zdrowotności roślin dokonano 6 sierpnia licząc rośliny uszkodzone przez pędraki oraz wykonując pomiar długości korzeni roślin (cm) i pomiar masy zielonej roślin (g). Oceny porażenia szkodnika przez nicienie entomopatogeniczne i grzyby owadobójcze dokonano 6 i

28 sierpnia (w tym czasie były jeszcze larwy chrabąszczy ale także ich poczwarki oraz pojawiające się już chrząszcze (nowego pokolenia). Podczas trwania doświadczenia dwukrotnie pobrano próby gleby do oceny i identyfikacji grzybów owadobójczych i nicieni entomopatogenicznych: 14 maja – przed zastosowaniem i 28 sierpnia po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania.

Doświadczenie II

W pierwszym etapie doświadczenia do badania wytypowano trzy rośliny: wrotycz pospolity *Tanacetum vulgare* L., rumian polny *Anthemis arvensis* L., czosnek pospolity *Allium sativum* L., które mogłyby posiadać właściwości wabiące lub odstraszające pędraki. Po wstępnych badaniach do dalszego etapu wybrano wrotycz pospolity, z którego przygotowywano napar/wywar zalewając gorącą lub zimną wodą same korzenie lub całe rośliny, w stosunku 1:3 lub 1:1,5. Po 24 godzinach usuwano części roślin, a uzyskanym roztworem, w dalszym etapie doświadczenia, podlewano rośliny truskawki. Doświadczenie wykonano w warunkach szklarniowych w dwóch seriach po 3 powtórzenia. Doświadczenie prowadzono w rizoboksach (specjalne pojemniki z jedną odejmowaną ścianką boczną), w które posadzono po 2 rośliny truskawki i umieszczono po 3 lub 6 pędraków w dolnej części pojemnika. W każdym ryzoboksie co drugi dzień jedną roślinę podlewano wodą, a drugą naparem/wywarem z wrotyczu. Również co drugi dzień sprawdzano przemieszczanie się pędraków z dołu rizoboksu do góry, gdzie znajdowały się korzenie roślin.



Doświadczenie w rizoboksach

Wyniki

Uzyskane wyniki ocen zestawiono w tabelach 7-11.

Doświadczenie I

Wyniki oceny zagęszczenia grzybów owadobójczych w glebie z pól, z których pozyskiwano pędraki zestawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Zagęszczenie grzybów owadobójczych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) w badanych glebach

Numer próby	Gatunek grzyba

	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*
Pole nr 1	0	0	0	3.6
Pole nr 2	1.0	0	1.2	5.1

W obu próbach gleby dominował grzyb *M. anisopliae*, który tworzył od 3.6 do 5.1 x 10^3 CFU g^{-1} gleby. Zagęszczenie jednostek *B. bassiana* było ok. 1.0 x 10^3 g^{-1}.

Wyniki efektywności czynników biologicznego zwalczania pędraków chrabąszczy w doświadczeniu wazonowym przedstawiono w Tabeli 8.

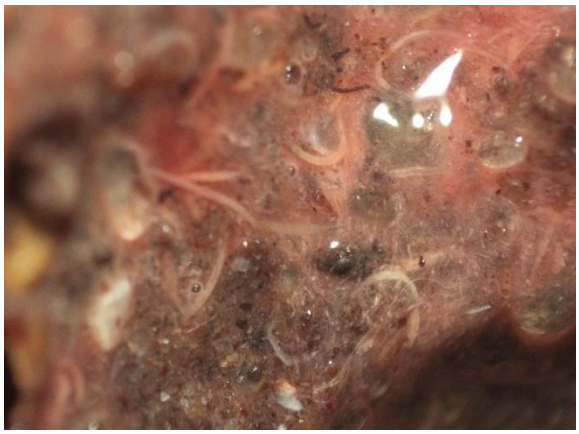
Tabela 8. Efektywność czynników biologicznego zwalczania w stosunku do pędraków chrabąszczy

Skierniewice, 2014

Kombinacja	Liczba żywych osobników (w próbie 40 szt.)	Redukcja żywych osobników w stosunku do kontroli
Kontrola	32	-
Wariant A czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono wcześniej niż pędraki		
inokulum *B. bassiana*	12	62,5
inokulum *B. brongniartii*	8	75,0
Met 52 Granular	10	68,8
Nemasys G	14	56,3
Wariant B czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono później niż pędraki		
inokulum *B. bassiana*	16	50,0
inokulum *B. brongniartii*	17	46,9
Met 52 Granular	16	50,0
Nemasys G	17	46,9
Nemasys G (2)	10	68,8

Analizując otrzymane wyniki nasuwa się sugestia, że więcej pędraków przeżywało, jeśli czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono do gleby, w której pędraki już były obecne (wyjątek kombinacja, gdzie nicienie entomopatogeniczne - Nemasys G stosowano 2-krotnie – Wariant B). Jednocześnie więcej martwych pędraków notowano w wazonach, gdzie Nemasys G wprowadzono po wcześniejszej introdukcji szkodnika. Odwrotną sytuację obserwowano w wazonach, do których najpierw wprowadzono grzyby patogeniczne a później pędraki. Mimo tego, że w dniach obserwacji zanotowano nieduże ilości martwych osobników (pędraki, poczwarki, chrząszcze nowego pokolenia) to redukcja osobników żywych z kombinacji z czynnikami biologicznego zwalczania w stosunku do kontroli wynosiła od ok. 56,3% do ok. 75,0%. Brak martwych pędraków mógł być spowodowany szybkim rozkładem w glebie martwych osobników.

Larwy pędraka porażona przez grzyby owadobójcze



Nicienie entomopatogeniczne w ciele pędraka

Wyniki oceny kondycji roślin w tym doświadczeniu zestawiono w Tabeli 9.

Tabela 9. Ocena kondycji roślin w doświadczeniu wazonowym, w którym wprowadzano czynniki biologicznego zwalczania pędraków

Skierniewice, 2014

Kombinacja	Liczba uszkodzonych roślin (w próbie 25 szt.)	Średnia długość korzeni [cm]	Średnia waga świeżej masy liści [g]
Kontrola	6	19,0	18,0
Wariant A - czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono wcześniej niż pędraki			
inokulum *B.bassiana*	1	18,2	15,4
inokulum *B. brongniartii*	1	27,1	24,4
Met 52 Granular	2	19,4	20,7
Nemasys G	0	22,7	15,1
Wariant B - czynniki biologicznego zwalczania wprowadzono później niż pędraki			
inokulum *B.bassiana*	1	18,9	16,0
inokulum *B. brongniartii*	4	17,8	17,2
Met 52 Granular	4	23,1	23,6

Nemasys G	3	11,0	10,8
Nemasys G (2)	2	13,0	12,5

Analiza uszkodzonych roślin wskazuje, że mniej uszkodzeń notowano w sytuacji, kiedy czynniki biologicznego zwalczania były obecne w glebie, zanim wprowadzano do niej pędraki. Średnia długość korzeni rośliny w tych wazonach była większa niż w drugim wariancie. Może to sugerować, że wprowadzone pędraki do gleby z czynnikami biologicznego zwalczania wcześniej zostały zainfekowane, gdyż czynniki te miały pewien okres czasu na kolonizację gleby. Podobnie świeża masa liści była wyższa w wariancie (A) doświadczenia.

Wyniki zagęszczenia grzybów owadobójczych oraz nicieni w podłożu użytym w doświadczeniu wazonowych zestawiono w Tabeli 10.

Tabela 10 Zagęszczenie grzybów owadobójczych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) oraz nicieni w podłożu doświadczenia wazonowego

Skierniewice, 2014

Wprowadzony gatunek grzyba	Gatunek grzyba				*Hetero-rhabditis sp.*
	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*	
Przed sadzeniem roślin					
	0.3	0	3.1	2.3	-
Po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania					
Kontrola	0	0	0.2	1.2	-
Wariant A					
inokulum *B.bassiana*	0.2	0	0.2	2.0	-
inokulum *B. brongniartii*	0.1	1.1	0.2	2.1	-
Met 52 Granular	0	0	0	6.5	-
Nemasys G	-	-	-	-	3
Wariant B					
inokulum *B.bassiana*	0.3	0	0.6	3.2	-
inokulum *B. brongniartii*	0	0.2	0.2	1.5	-
Met 52 Granular	0	0	0	11.5	-
Nemasys G	-	-	-	-	4
Nemasys G (2)	-	-	-	-	1

W doświadczeniu wazonowym, przed wprowadzeniem pędraków, w podłożu kontrolnym (próba przed sadzeniem roślin) stwierdzono obecność trzech gatunków grzybów entomopatogenicznych: *B. bassiana*, *I. fumosorosea* i *M. anisopliae*. Zdecydowanie dominował *M. anisopliae*, który tworzył 2.3 x 10^3 CFU x 10^3 g^{-1} gleby.
W kombinacji kontrolnej podłoża z wprowadzonymi pędrakami, wystąpiły dwa gatunki grzybów owadobójczych *I. fumosorosea* i *M. anisopliae*, w liczbie 0.2 x 10^3 i 1.2 x 10^3 CFU x 10^3 g^{-1} gleby odpowiednio. Po wprowadzeniu zarodników grzyba *B. basssiana* odnotowano w końcowej części trwania doświadczenia jedynie niewielki wzrost liczby CFU w porównaniu z kontrolą, ale w porównaniu z próbą wykonaną przed sadzeniem roślin nie stwierdzono wzrostu. W przypadku grzyba *B. brongniartii*, stwierdzono 1.1 x 10^3 CFU x 10^3 g^{-1} gleby tego gatunku w podłożu w wariancie A, ale w wariancie B już o wiele mniej. Po

wprowadzeniu do podłoża grzyba *M. anisopliae* w formie granulatu, nastąpił istotny wzrost zagęszczenia liczba CFU w porównaniu z kontrolą, odpowiednio 6.5 x 10^3 g^{-1} gleby w wariancie A oraz 11.5 x 10^3 g^{-1} gleby w wariancie B.
W pobranych próbach gleby stwierdzono obecność nicieni entomopatogenicznych - *Heterorhabditis* sp.

Doświadczenie II

Wyniki doświadczenia, w którym oceniano odstraszające właśności wrotycza pospolitego w stosunku do pędraków przedstawiono w Tabeli 11.

Tabela 11. Liczba pędraków żerujących na roślinach podlewanych naparem/wywarem z wrotycza

Skierniewice, 2014

Kombinacja	Ogólna liczba pędraków	Napar/ Wywar	Woda	Pędraki, które pozostały na dole rizoboksu
Seria I				
Wrotycz – napar – całe rośliny+ gorąca woda	9	4	3	2
Wrotycz – napar – korzenie + gorąca woda	9	3	4	2
Seria II				
Wrotycz – wywar – korzenie + zimna woda	18	5	10	3
Wrotycz – napar – korzenie + gorąca woda	18	8	8	1
Wrotycz – wywar - całe rośliny + zimna woda	18	2	12	3
Wrotycz – napar - całe rośliny + gorąca woda	18	6	6	5

W niektórych rizoboksach w korzeniach roślin podlewanych naparem/wywarem z wrotycza notowano mniej pędraków w porównaniu z korzeniami roślin podlewanych wodą.

Podsumowanie

1. W kombinacjach, w których zastosowano czynniki biologicznego zwalczania w doświadczeniu wazonowym notowano większą liczbę martwych pędraków w stosunku do kombinacji kontrolnej, ale nie odnotowano dużych różnic między Wariantem A i B doświadczenia.
2. Podobnie zagęszczenie grzybów owadobójczych w glebie po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania wzrosło, ale zbytnio nie różniło się ono w obu wariantach doświadczenia.
3. Uzyskane wyniki wskazują, że napar/wywar z wrotycza pospolitego mógł mieć wpływ na zachowanie się pędraków w glebie.

Podzadanie 4
Ocena przydatności czynników biologicznych do zwalczania chrząszczy opuchlaka truskawkowca (*Otiorhynchus sulcatus*) (doświadczenie laboratoryjne)

Szczegółowa metodyka badań

Wykonano dwa doświadczenia. Pierwsze z nich wykonano w 4 powtórzeniach, w pojemnikach (pudełkach plastikowych) z glebą, a drugie w 2 seriach po 3 powtórzenia na szalkach Petriego.

Zastosowane czynniki biologicznego zwalczania oraz dawki zestawiono w Tabeli 12.

Tabela 12. Wykaz kombinacji w zwalczaniu opuchlaka truskawkowca w doświadczeniach laboratoryjnych, Skierniewice 2014

Czynnik biologicznego zwalczania	Dawka (w przeliczeniu)	Liczba dawek dzielonych
inokulum *B. bassiana*	5 kg/ha	1
inokulum *B. brongniartii*	5 kg/ha	1
Met 52 Granular	50 kg/ha	1
Larvanem	50 mln/50 m^2	1

Do obydwu doświadczeń laboratoryjnych chrząszcze opuchlaka truskawkowca pozyskano zbierając je bezpośrednio z gleby pod uszkodzonymi przez larwy roślinami truskawek. Zebrane chrząszcze przewieziono do laboratorium i umieszczono w specjalnych pojemnikach z glebą lub na szalkach Petriego.

Doświadczenie I

W doświadczeniu pierwszym chrząszcze opuchlaka umieszczano w pojemnikach z glebą, na którą wcześniej naniesiono czynniki biologicznego zwalczania. Środki zawierające grzyby owadobójcze były stosowane w formie proszkowej, a środki zawierające nicienie entomopatogeniczne- w formie zawiesiny wodnej. Aplikację wykonano 12 czerwca. Do każdego pojemnika codziennie wkładano po dwa świeże liście truskawki jako pokarm dla chrząszczy. Doświadczenie założono 12 czerwca a zlikwidowano 17 lipca 2014 roku. W tym czasie dokonano trzykrotnej oceny, przeglądano pudełka ze szkodnikiem (26.06; 3.07; 17.07) i określano liczbę żywych i martwych chrząszczy, liczbę złożonych jaj i liczbę larw, które wylęgły się ze złożonych do pojemników jaj.

Aplikacja środka zawierającego nicienie entomopatogeniczne

Doświadczenie II

W drugim doświadczeniu chrząszcze opuchlaka truskawkowca umieszczano w szalkach Petriego z bibułą filtracyjną. Bezpośrednio przed ich wyłożeniem do szalek, chrząszcze zanurzano na kilka sekund w specjalnie przygotowanych roztworach z czynnikami biologicznego zwalczania. Do szalek codziennie wkładano świeże liście truskawek. Doświadczenie założono w dwu seriach: pierwsza trwała od 16 czerwca do 16

lipca, a druga od 27 czerwca do 18 lipca. Szalki z opuchlakami przeglądano raz w tygodniu, liczono żywe (zdrowe) i martwe chrząszcze, a także określano liczbę złożonych jaj i liczbę wyległych larw.

W obu doświadczeniach dokonano również identyfikacji czynników biologicznego zwalczania na zainfekowanych chrząszczach.

Wyniki

Wyniki zestawiono w tabelach 13-14.

Doświadczenie I

Wpływ czynników biologicznego zwalczania zastosowanych na glebę na przeżywalność chrząszczy opuchlaka truskawkowca przedstawia Tabela 13.

Tabela 13. Wpływ czynników biologicznego zwalczania na przeżywalność chrząszczy opuchlaka truskawkowca oraz liczba jaj i larw w doświadczeniu laboratoryjnym w pojemnikach z glebą

Skierniewice 2014.

Kombinacja	Chrząszcze (w próbie 60szt.)		Liczba jaj	Liczba larw	Liczba zainfekowanych chrząszczy
	żywe	martwe			
Kontrola	57	3	251	166	
inokulum *B.bassiana*	53	7	147	43	1
inokulum *B. brongniartii*	55	5	166	75	
Met 52 Granular	49	11	95	68	4
Larvanem	32	28	92	40	15

Analiza przedstawionych wyników wskazuje, że najwyższą śmiertelność chrząszczy opuchlaka notowano po aplikacji nicieni entomopatogenicznych zawartych w preparacie Larvanem (prawie 50%) i Met 52 Granular czyli grzyba *Metarhizium anisopliae* (około 18 %). Najwyższą liczbę zainfekowanych chrząszczy stwierdzono po zastosowaniu nicieni entomopatogenicznych (Larvanem 25%). Najwięcej jaj złożyły samice w kontroli a najmniej w kombinacji z nicieniami i grzybem *M. anisopliae*.

Doświadczenie II

Wpływ czynników biologicznego zwalczania zastosowanych jako zawiesina wodna, w której były zanurzane chrząszcze opuchlaków na ich przeżywalność przedstawiono w Tabeli 14.

Tabela 14. Wpływ czynników biologicznego zwalczania na przeżywalność chrząszczy opuchlaka truskawkowca oraz liczba jaj i larw w doświadczeniu laboratoryjnym w szalkach Petriego

Skierniewice 2014

Kombinacja	Chrząszcze (w próbie 15 szt.)		Liczba jaj	Liczba larw	Liczba zainfekowanych chrząszczy
	żywe	martwe			

Seria I					
Kontrola	9	1	373	138	
inokulum *B.bassiana*	3	7	88	3	
inokulum *B. brongniartii*	6	4	38	5	
Met 52 Granular	5	5	9	2	3
Larvanem	0	10	0	0	
Seria II					
Kontrola	15	0	282	130	
inokulum *B.bassiana*	15	0	22	4	
inokulum *B. brongniartii*	15	0	67	3	
Met 52 Granular	0	15	28	0	3
Larvanem	12	3	120	0	

Analiza przedstawionych wyników wskazuje, że najwyższą efektywność w kolonizacji chrząszczy opuchlaków wykazał grzyb *M. anisopliae* oraz nicienie entomopatogeniczne. Jednak po zastosowaniu pozostałych czynników biologicznego zwalczania zdecydowanie zredukowana była liczba złożonych przez samice jaj i zminimalizowana liczba wylęgających się larw w porównaniu do kontroli.

Chrząszcz opuchlaka truskawcowca porażony i przerośnięty strzępkami grzyba owadobójczego

Podsumowanie

1. Wyniki obu doświadczeń laboratoryjnych wskazują, że zastosowane czynniki biologicznego zwalczania miały wpływ na przeżywalność chrząszczy oraz na zdecydowaną redukcję liczby jaj składanych przez samice mające kontakt z zastosowanymi grzybami owadobójczymi oraz nicieniami entomopatogenicznymi.
2. W obu doświadczeniach po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania notowano większą liczbę chrząszczy martwych niż w kombinacjach kontrolnych. Wydaje się jednak, że szybsze i lepsze działanie środki biologiczne wykazywały, kiedy chrząszcze miały bezpośredni kontakt z grzybem lub nicieniami, podczas zanurzania ich w zawiesinie wodnej stosowanych środków.

Podzadanie 5

Zwalczania pędraków na plantacjach nowo założonych z wykorzystaniem czynników biologicznych

Szczegółowa metodyka badań

Założono dwa doświadczenia. Pierwsze z nich założono w miejscowości Brzostówka, na dwuletniej plantacji truskawki odmiany Polka. Drugie doświadczenie założono w miejscowości Wólka Zabłocka, na jednorocznej plantacji truskawek odmiany Polka. W obu doświadczeniach przed zastosowaniem czynników biologicznego zwalczania dla każdej kombinacji zostały wyznaczone poletka, na których liczono zdrowe i uszkodzone przez pędraki rośliny truskawek. Czynniki biologicznego zwalczania stosowane były w dawkach dzielonych, terminy aplikacji i sposób aplikacji przedstawiono Tabela 15.

Tabela 15. Wykaz kombinacji stosowanych na plantacjach truskawek

Czynnik biologicznego zwalczania	Dawka	Liczba dawek dzielonych	Termin stosowania	Sposób aplikacji
Doświadczenie I - Brzostówka, 2014				
inokulum *B.bassiana*	7,5 kg/ha	3	02.06 22.07 21.08	rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
inokulum *B. brongniartii*	7,5 kg/ha	3	02.06 22.07 21.08	rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	3,75 + 3,75 kg/ha	3	02.06 22.07 21.08	rozsiewanie rozsiewanie zawiesina wodna
Nemasys G	50 mln/50 m^2	1	02.06	zawiesina wodna
Nemasys G (2)	100 mln/50 m^2	2	02.06 22.07	zawiesina wodna zawiesina wodna
Doświadczenie II - Wólka Zabłocka, 2014				
inokulum *B.bassiana*	10 kg/ha	3	02.06 04.08 21.08	rozsiewanie zawiesina wodna zawiesina wodna
inokulum *B. brongniartii*	10 kg/ha	3	02.06 04.08 21.08	rozsiewanie zawiesina wodna zawiesina wodna
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	5 + 5 kg/ha	3	02.06 04.08 21.08	rozsiewanie zawiesina wodna zawiesina wodna

Preparaty w formie zawiesiny wodnej aplikowano opryskiwaczem ciągnikowym w doświadczeniu I z dyszami wirowymi o dużej średnicy, bez użycia wentylatora, a w doświadczeniu II z dyszami płaskostrumieniowymi. Przy stosowaniu środków zawierających nicienie entomopatogeniczne stosowano najniższe ciśnienie robocze opryskiwacza. W ostatniej aplikacji czynniki biologicznego zwalczania zawierające grzyby zastosowane zostały wraz z produktem organicznym pobudzającym inokulum grzybów do namnażania się. W obu doświadczeniach, po każdej aplikacji czynniki biologicznego zwalczania mieszano z glebą poprzez ręczne motyczenie

Ręczne mieszanie czynników biologicznego zwalczania z glebą

W obu doświadczeniach 12 września dokonano ponownej oceny kondycji roślin licząc zdrowe i uszkodzone przez pędraki rośliny oraz pobrano próby gleby do oceny obecności grzybów owadobójczych i nicieni entomopatogenicznych.

Wyniki

Wyniki zestawiono w tabelach 16-19.

Doświadczenie I

Na plantacji doświadczalnej bardzo licznie występowały pędraki (ok 4-5 /m^2). Wiosną przed założeniem doświadczenia na plantacji w miejscach po uszkodzonych roślinach zostały posadzone nowe rośliny, dlatego też na poletkach wyznaczonych do dalszych obserwacji roślin przyjęto, że przed aplikacją rośliny (100%) były nieuszkodzone. Wyniki oceny kondycji roślin po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania (12 września) przedstawiono w Tabeli 16.

Tabela 16. Wpływ czynników biologicznego zwalczania pędraków na plantacji truskawki odm. Polka na kondycję roślin pod koniec sezonu wegetacji.

Brzostówka 2014

Kombinacja	Rośliny (w próbie 400)		Procent uszkodzonych roślin
	zdrowe	uszkodzone	
Kontrola	302	98	24,5
Nemasys	326	74	18,5
Nemasys (2)	292	108	27,0
inokulum *B.bassiana*	340	60	15,0

inokulum *B. brongniartii*	309	91	22,8
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	295	105	26,3

Analiza przedstawionych wyników wskazuje, że efektywność środków biologicznego zwalczania stosowanych na dwuletniej plantacji truskawek silnie zaatakowanej przez pędraki (3-4 pędraki na 1 m^2 przed stosowaniem zwalczania), była bardzo niska lub efektu nie było. Pomimo uzupełniania wypadów i zastosowania biologicznego zwalczania nie ograniczono liczby uszkodzonych przez pędraki roślin w stosunku do kontroli. Ta sytuacja wskazuje, że na już założonej i zaatakowanej plantacji, kiedy pędraki żerują na korzeniach roślin, czynniki biologicznego zwalczania wprowadzone na powierzchnię gleby w rzędach i zmieszane z jej górną warstwą poprzez ręczne motycznie gleby (nie można głębiej, by nie uszkodzić mechanicznie korzeni truskawek) nie dały efektu ograniczenia pędraków. Ale pozytywny jest fakt, że zagęszczenie grzyba w glebie wzrosło i być może, będzie to miało wpływ na ograniczanie pędraków w kolejnym sezonie (Tabela 17).

Tabela 17. Zagęszczenie grzybów owadobójczych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) w badanych glebach Brzostówka, 2014

Wprowadzony gatunek grzyba	Gatunek grzyba				*Hetero-rhabditis sp.*
	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*	
Kontrola	0.5	1.5	0	0.2	-
inokulum *B.bassiana*	0.7	1.4	0	0.5	-
inokulum *B. brongniartii*	0.1	3.2	0	1.7	-
inokulum *B.bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	1.2	2.4	0.6	0.7	-
Nemasys G	-	-	-	-	5
Nemasys G (2)	-	-	-	-	7

W pobranych jesienią próbach glebowych z plantacji w Brzostówce (producent Pan Sławomir Fiutek), we wszystkich kombinacjach (łącznie z kontrolą) stwierdzono obecność grzyba *B. brongniartii*. Warto nadmienić, że grzyb ten został stwierdzony również w próbach gleby z tej samej plantacji pobranych wiosną (przed założeniem doświadczenia), gdzie tworzył 1.7 x 10^3 CFU x g^{-1} gleby. Być może był to wynik wcześniejszej naturalnej infekcji spowodowanej przez ten gatunek grzyba w populacji obecnych tam licznych pędraków.

Zastosowanie preparatu zawierającego *B. brongniartii* w dawce 7,5 kg /ha sprawiło, że odnotowano ponad dwukrotny wzrost liczby jednostek koloniotwórczych tego grzyba (3.2 x10^3 CFU g^{-1} gleby) w glebie w porównaniu z kontrolą (1.5 x 10^3 CFU g^{-1} gleby). W wyniku łącznej aplikacji *B. brongniartii* i *B. bassiana* w dawce 3,75+3,75 kg/ha stwierdzono również wzrost liczby CFU pierwszego gatunku grzyba w glebie w porównaniu z kontrolą, ale był on mniejszy niż w przypadku dawki 7,5 kg/ha. Grzyb *B. bassiana* był obecny w próbach gleby pochodzących z kombinacji kontrolnej, gdzie tworzył 0.5 x 10^3 CFU g^{-1} gleby. Po zastosowaniu preparatu zawierającego zarodniki tego grzyba w dawce 7,5 kg/ha odnotowano tylko niewielki wzrost liczby jego CFU w glebie w porównaniu z kontrolą, ale w przypadku dawki dzielonej (3,75 kg/ha) z *B. brongniartii* (3,75 kg/ha) liczba ta była ponad dwukrotnie wyższa niż w kontroli.

Doświadczenie II

W doświadczeniu wykonanym w miejscowości Wólka Zabłocka stwierdzono 3-4 pędraki m^2. Plantacja była posadzona jesienią poprzedniego roku i nie uzupełniano miejsc po uszkodzonych roślinach, dlatego wykonano ocenę przed i po zastosowaniu czynników biologicznego zwalczania licząc zdrowe i uszkodzone rośliny. Wyniki tej analizy przedstawiono w Tabeli 18.

Tabela 18. Wpływ czynników biologicznego zwalczania pędraków na plantacji truskawki na kondycję roślin truskawki odm. Polka

Wólka Zabłocka, 2014

Kombinacja	Ocena przed założeniem			Ocena po zabiegach			Procentowy przyrost uszkodzonych roślin
	Liczba roślin (w próbie 600)		% uszkodz. roślin	Liczba roślin (w próbie 600)		% uszkodz. roślin	
	zdrowe	uszkodz.		zdrowe	uszkodz.		
Kontrola	543	57	9,5	514	86	14,3	4,8
inokulum *B. bassiana*	546	54	9,0	534	66	11,0	2,0
inokulum *B. brongniartii*	544	56	9,3	530	70	11,6	2,3
inokulum *B. bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	558	42	7,0	536	64	10,7	3,7

Analiza wyników uzyskanych na plantacji jednorocznej, kiedy czynniki biologicznego zwalczania stosowano na plantacji, na której przed aplikacją notowano około 10% uszkodzonych roślin, wskazuje, że po wprowadzeniu grzybów *B. bassiana* i *B. brongniartii* w dawce 10 kg preparatu na ha, uzyskano ograniczenie uszkodzenia roślin w stosunku do nietraktowanej kontroli o około 50% (przyrost uszkodzonych roślin w kontroli o 4,8%, a na poletkach traktowanych o 2-2,3%.

Wyniki zagęszczenia grzybów owadobójczych w próbkach gleby pobranych z poletek doświadczalnych zestawiono w Tabeli 19

Tabela 19. Zagęszczenie grzybów owadobójczych (CFU x $10^3 g^{-1}$ gleby) w badanych glebach (Doświadczenia na nowo założonych plantacjach)

Wólka Zabłocka, 2014

Wprowadzony gatunek grzyba	Gatunek grzyba			
	B. bassiana	*B. brongniartii*	*I. fumosorosea*	*M. anisopliae*
Kontrola	0.2	0	0.7	0.9
inokulum *B. bassiana*	0.9	0	0.7	1.0
inokulum *B. brongniartii*	0.4	0.4	0.5	0.6
inokulum *B. bassiana* + inokulum *B. brongniartii*	0.2	0	1.7	0.4

W przypadku tej plantacji truskawki w wyniku zastosowania preparatów opartych na grzybach *B. brongniartii* i *B. bassiana* w dawce 10 kg/ha, również odnotowano wzrost zagęszczenia ich jednostek. Grzyb *B. brongniartii*, który nie był stwierdzony w kombinacji kontrolnej, tworzył $0.4x10^3$ CFU g^{-1} gleby, a *B. bassiana* $0.9x10^3$ CFU g^{-1} gleby. W przypadku łącznego zastosowania obu grzybów, ale w mniejszych dawkach (po 5 kg/ha) nie odnotowano wzrostu liczby ich jednostek w glebie w porównaniu z kombinacją kontrolną.

Podsumowanie

1. Wprowadzenie czynników biologicznego zwalczania pędraków na drugorocznej plantacji truskawki silnie zaatakowanej przez pędraki nie ograniczyło uszkodzenia i zamierania roślin truskawki. Czynniki biologicznego zwalczania zastosowane na powierzchnię gleby i zmieszane z nią na niewielką głębokość poprzez motyczenie nie są w stanie zniszczyć pędraków żerujących na korzeniach roślin. Kolonizacja gleby przez grzyby patogeniczne i nicienie entomopatogeniczne jest powolna i nie są one w stanie zniszczyć szkodnika żerującego w głębszej warstwie gleby, pod roślinami. Być może na takich plantacjach należy zwiększyć jednorazową dawkę czynników biologicznego zwalczania w celu szybszego ich namnażania się w glebie.
2. Środki te zastosowane na młodszej, słabiej zniszczonej plantacji, ograniczały liczbę uszkodzonych roślin.

Podsumowanie końcowe

Kompleksowe stosowanie różnych metod (mechanicznych, fizycznych, biologicznych, fitosanitarnych) pozwoliło zmniejszyć liczbę uszkodzonych roślin na nowo założonych plantacjach, jak również na starszych, choć w mniejszym stopniu. Jednakże istnieje potrzeba, aby precyzyjniej określić dawki, metody i terminy aplikacji różnych produktów w celu zwiększenia skuteczności zabiegów.

W dalszych badaniach powinno się skorygować stosowane dawki środków lub liczbę dawek dzielonych. Większa liczba aplikacji środków biologicznych wykonywana w różnych warunkach pogodowych z jednej strony zwiększa prawdopodobieństwo lepszego rozwoju grzybów owadobójczych i nicieni entomopatogenicznych, jednakże zbyt mała dawka tych czynników wprowadzana jednorazowo może być przyczyną zbyt niskiej ich efektywności.

Stosowanie połączonych ze sobą różnych metod walki ze szkodnikami żyjącymi w glebie z pewnością jest bardziej efektywne niż zastosowanie tylko pojedynczej metody lub kilku, ale oddzielnie.

W warunkach polowych ocena obecności i liczebności zainfekowanych pędraków w glebie nie dała w pełni oczekiwanych rezultatów, ponieważ w glebie nie znajdowano pędraków z objawami zainfekowania przez czynniki biologicznego zwalczania. Przyczyną mógł być krótki okres czasu między ostatnią aplikacją środków, a ostateczną oceną wykonaną pod koniec sezonu wegetacji (ok. 3 tygodnie). Działanie środków biologicznego zwalczania jest powolne, muszą one namnożyć się w glebie, aby zainfekować pędraki. Wydaje się wskazana dodatkowa ocena stanu zdrowotnego roślin wiosną następnego roku, czyli kilka miesięcy po aplikacji nicieni i grzybów patogenicznych w stosunku do pędraków.

Wyniki doświadczeń wazonowego i laboratoryjnych wskazują, że czynniki biologicznego zwalczania ograniczają pędraki i opuchlaki.

Zalecenia dla sadownictwa ekologicznego

- Na postawie jednorocznych wyników badań polowych można jedynie sugerować i wnioskować, że w zagrożonych rejonach konieczna jest kompleksowa walka z pędrakami chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha*) na polu podczas przygotowania gleby pod plantację.
- Zintegrowane stosowanie metod: mechanicznej, biologicznej, fizycznej i fitosanitarnej z pewnością wydaje się być dobrą praktyką w ograniczeniu populacji pędraków w zagrożonych rejonach, ale niektóre z metod mogą być stosowane tylko na polu bez roślin.
- Stosowanie czynników biologicznego zwalczania pędraków na plantacjach już istniejących nie przyniosło istotnego ograniczenia tego szkodnika. Zmniejszanie całkowitej populacji szkodnika obserwowano po wprowadzeniu na młodej plantacji *B. bassiana* i nicieni (redukcja liczby uszkodzonych roślin nawet o około 50%), co można uznać za obiecujące w warunkach bardzo wysokiej populacji szkodnika na plantacji. Jednoroczne wyniki otrzymane z doświadczeń polowych jak i laboratoryjnych dotyczące ochrony plantacji truskawek przed szkodnikami żyjącymi w glebie nie upoważniają jednak do sformułowania obiektywnych wniosków. Minimalny okres badań upoważniający do wydania wstępnych zaleceń to 3 lata.
- Bardzo duży wpływ na efektywność działania czynników biologicznego zwalczania mają warunki pogodowe, temperatura i wilgotność gleby. Mają one istotny wpływ na tempo namnażania się czynników biologicznych w glebie podobnie jak długość okresu od ich zastosowania do widocznych efektów działania. Dlatego też badania prowadzone przez jeden sezon nie pozwalają na wydanie prawidłowej opinii o ich skuteczności i opracowania zaleceń dla praktyki.
- Biorąc pod uwagę, że uzyskane wyniki są bardzo interesujące dla praktyki, wskazana byłaby kontynuacja doświadczeń w kolejnych latach. Ponadto wskazane byłoby przeprowadzenie dalszych badań mających na celu ustalenie optymalnego zagęszczenia w glebie czynników biologicznego zwalczania pędraków (grzybów owadobójczych i nicieni entomopatopgenicznych). Ważne jest określenie optymalnego poziomu ich zagęszczenia, który pozwoliłby utrzymywać populację pędraków na poziomie niezagrażającym uprawie truskawki.
- Problem szkód powodowanych przez pędraki dotyczy nie tylko produkcji ekologicznej, truskawki, ale także innych roślin sadowniczych (jabłoń, wiśnia, borówka wysoka i inne) produkowanych różnymi systemami, a obecnie nie ma możliwości chemicznego ich zwalczania w glebie, nawet przed założeniem uprawy.
- Ciekawym byłoby kontynuowanie poszukiwań substancji wabiących lub odstraszających pędraki na bazie naturalnych wyciągów, wywarów lub gnojówek z roślin. Również w tym zakresie, przeprowadzone doświadczenia pozwoliły podkreślić konieczność definiowania technologii ekstrakcji substancji czynnych oraz ich stosowania. Zastosowanie gorącej lub zimnej wody, długość czasu prowadzenia ekstrakcji, rodzaju tkanek roślinnych lub oragnów użytych do ekstrakcji są jednymi z czynników, które mogą wpływać na jakość ekstraku, a zatem ich wpływ na szkodnika. Z pewnością istnieją również substancje, które mogłyby przywabiać osobniki dorosłe, które następnie mogłyby być wyłapywane i neutralizowane.

Działalność upowszechnieniowa

Malusa E., Tartanus M., Łabanowska B.H., and C. Tkaczuk. 2014. Biological control of soil pests in organic strawberry plantations: the need of a holistic approach. [Biologiczne zwalczanie szkodników glebowych w ekologicznych plantacjach truskawek: potrzeba kompleksowych działań.] International Conference, Innovative technologies in organic

horticultural production. October 22-24, 2014, Skierniewice, Poland. Book of Abstracts, 133-134. poster

Konferencje:
Prezentacja wyników na Międzynarodowej Konferencji: Innovative technologies in organic horticultural production, Skierniewice, 22-24.10.2014:

Zgłoszenie prezentacji wyników na 54- Sesji Naukowej IOR PIB, Poznań, 2015
Zgłoszenie prezentacji wyników na 58 Ogólnopolskiej Konferencji Ochrony Roślin Sadowniczych, Warszawa, 2015

Literatura:

Keller S., Kessler P., Schweizer C. 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Matarhizium anisopliae.* Biocontrol 48: 307-319.

Meyling N.V., Eilenberg J. 2006. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic ageoecosystem. Agric. Ecosyst. Environ. 113: 336-341.

Rys A. Y. 2003. Express technique to preparate permanent collection slites of nematodes. Zoosyst. Rossica, 11: 257-260.

Strasser H., Forrer A., Schinner F., 1996. Development of media fort he selective insolation and maintenance of virulence of *Beauveria brongniartii.* (In:) T.A Jackson, T.R. Glare (eds). Microbial control of soil dwelling pests. AgResearch, Lincoln, New Zeland: 125-130.

Wilski A. 1967. Nicienie szkodniki roślin uprawnych. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 336 pp.