

Slutrapport för projekt H0633192

Feromonbaserat prognosystem för skidgallmygga i oljeväxter

INTRODUKTION

Skidgallmyggan är ett konstant och återkommande skadedjursproblem, som inte diskuteras särskilt mycket mest därför att odlarna tycks drabbas slumpmässigt och sällan flera år i rad. Resistens mot myggans angrepp är inte känd. Skidgallmyggan har en mycket utdragen kläckningskurva, vilket gör att nya djur flyger in i fälten under en stor del av blomningen. Eftersom skidor och blommor hela tiden nybildas i grödan är det svårt att genom endast en bekämpning ge en bra skyddseffekt, även om preparatet har långtidsverkan. I försök med bekämpning som gjordes under 1990-talet varierade bekämpningseffekterna kraftigt, från några procent och upp till full effekt (Gustafsson et al. 2000). Upprepade behandlingar undergräver bekämpningsekonomin och har negativa, ekologiskt långsiktiga effekter. För 15 år sedan gjordes en stor undersökning av möjligheterna att med hjälp av håvning, avräkning i fälten (blygrå rapsvivel), klisterskivor, gulskålar och kläckningslådor förutsäga angreppens omfattning och att bekämpa myggorna. Man kunde då konstatera att det inte gick att förutsäga angreppen, inte ens mellan grannfält eller fält intill ett fält som föregående år varit starkt angripet. Väderlek, vindar och kläckningsförlopp hade för stor inverkan. En bekämpning som kan motiveras bedöms därför idag inte möjlig att genomföra, eftersom myggans uppträdande inte kan förutsägas.

En metod som kan ge en säkrare information är prognos med feromonfällor. Feromoner är artspecifika substanser som honorna avger för att locka till sig hanarna för parning. En feromonfälla fångar därför endast den art vars feromon den är betad med. När insekterna i fällan räknas får man en god bild av förekomsten av den aktuella arten. Detta gör ett feromonbaserat prognosystem hanterbart på fältnivå, där kanske ett 10-tal olika, men till utseendet lika arter uppträder samtidigt. Under en följd av år har vi utvecklat feromonbaserade prognosystem för ett flertal gallmygga-arter (Bengtsson och Hillbur 2001, Hillbur 2005, Hillbur et al. 1999, 2000, 2001, 2005a, Biddle och Hillbur 2000, 2002a, b, Pillon och Hillbur 2001). Systemen är patenterade (bl a Hillbur et al. 2005b) och säljs via det SLU-baserade företaget PheroNet AB. Totalt säljs tusentals fällor och beten årligen för prognos av ärtgallmyggan, kålgallmyggan och korngallmyggan.

En avgörande faktor i projekt som syftar till identifiering av feromoner är mycket god tillgång till insektsmaterial. Skidgallmyggan övervintrar som larver i kokonger i marken i de fält som varit angripna året innan. En möjlighet att få tillgång till insekter är att under våren samla in jord från fält med rapporterat stort angrepp föregående år. Eftersom skidgallmyggan dessutom har flera generationer under en säsong, kan det också vara möjligt att samla in angripna skidor under säsongen för kontinuerlig tillgång till myggor under sommaren. Slutligen är det också av intresse att försöka samla in den/de sista generationerna från jord och/eller skidor. Detta för att få tillgång till övervintrande insekter (larver i kokonger) som kan kläckas fram under vintern för laboratorieförsök.

MÅL

Målet för projektet var att göra en grundläggande studie av skidgallmyggans feromonkommunikation med syfte att på längre sikt utveckla ett prognosystem för skidgallmygga i höst- och våroljeväxter. Ett huvudsyfte med projektet var också att etablera metoder för fältinsamling av ett omfattande insektsmaterial för framtida feromonidentifiering.

MATERIAL OCH METODER

Uppsamling av sexualferomonet

För uppsamling av sexualferomonet dissekerades äggläggningsröret, där feromonkörteln sitter hos gallmyggor, ut från oparade honor. Det är endast oparade honor som avger feromon och de gör det bara vid en viss tidpunkt på dygnet. De sitter då alldeles stilla med äggläggningsröret utsträckt så att feromonkörteln exponeras. En speciell kylteknik användes för att minimera avdunstningen av de få billion-dels gram sexualferomon som varje körtel innehåller. Körtlarna extraherades i <5 µl lösningsmedel (redestillerad hexan för maximal renhet). En alternativ metod – extraktion av hela honor – användes också. Metoden är mindre tidskrävande och användes då väldigt många honor kläckte samtidigt. I allmänhet ger denna metod ett extrakt som innehåller fler icke-relevanta substanser än körtelextrakt, men de biologiskt aktiva feromonsubstanserna kan lokaliseras genom en kombination av gaskromatografi och elektrofysiologiska analysmetoder, GC-EAD. Extrakt förvarades i förseglade ampuller i frys vid -18 °C i väntan på vidare analyser.

Beteendeförsök

För att avgöra om körtelextraktet (eller honextraktet) var attraktivt för hanar gjordes beteendestudier i en Y-rörs olfaktometer, där hanarnas svar till olika stimuli kan studeras i detalj. Om hanarna attraheras till extraktet innebär det att det innehåller de aktiva feromonkomponenterna. Extraktet kan då användas för vidare elektrofysiologisk analys och kemisk identifiering av feromonet.

Jordinsamling (vår)

För att få tillgång till insekter att arbeta med i laboratoriet (extraktion och beteendeförsök) under projektperioden samlades under våren jord in från två olika platser, Lönnstorp och Billeberga. Valet av dessa platser berodde på att båda hade haft angrepp av skidgallmygga föregående år samt att fälten inte var plöjda. När fälten inte är plöjda ligger kokongerna med övervintrande larver i det översta jordlagret (<5 cm). Koncentrationen av kokonger i ett jordprov från ett oplöjt fält är därför högre än i ett plöjt fält om jord tas från de översta 5 cm. Jorden från Lönnstorp samlades in 20 och 23 april och från Billeberga den 27 april. Totalt samlades 180 kg jord in. När insamlingarna var klara sållades jorden så att den skulle bli mer lätthanterlig. Den sållade jorden blandades med lika del planteringsjord, för att hålla fukten, och lades i plexiglasburar 30 x 30 x 35 cm. Burarna ställdes i en klimatkammare med 12 tim ljus/12 tim mörker, 25 °C och ca 70 % luftfuktighet för att larverna skulle förpuppas och de vuxna insekterna kläckas fram.

Skidinsamling (sommar)

Angripna skidor samlades in från Lönnstorp, Arlövs, Bjuvs, Hanaskogs och Staffanstorps under våren och sommaren. Insamlingen började den 24 maj och under den första månaden samlades skidor in från höstraps. När höstrapsen började mogna togs skidor även från vårrybs och vårraps. De insamlade skidorna lades sedan på ett nät i likadana burar som användes under jordinsamlingen. Under nätet fanns ett substrat i vilket larverna kunde krypa ner och förpuppas eller forma kokonger för övervintring. Två olika substrat testades: vermiculite och en blandning av lika delar planteringsjord och sand (Baskarpsand). Burarna sattes i en klimatkammare med samma dagslängd, temperatur och luftfuktighet som ovan.

Jordinsamling (sommar)

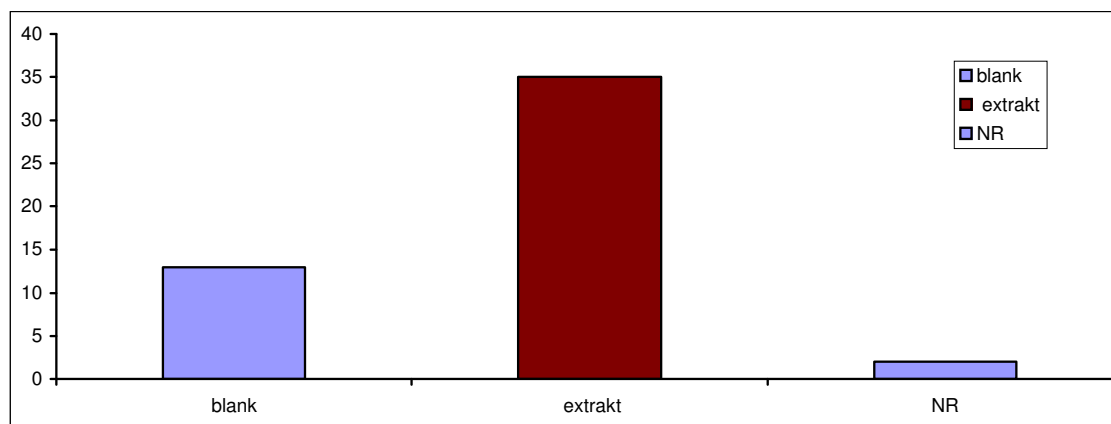
För insamling av kokonger för övervintring (diapaus) samlades jord in från tre olika lokaler vid fem olika tillfällen under sommaren: Lönnstorp den 16 juli, Arlöv den 17 juli, Hanaskog den 24 juli, Arlöv den 3 augusti samt Arlöv den 13 augusti. Valet av dessa plaster berodde på

att det under säsongen fanns områden på dessa fält där populationen av skidgallmygga var hög. Ungefär 5 cm av det översta jordlagret samlades in och lades i ett kylrum där temperaturen var 7-10°C för övervintring. För att få en uppfattning av antalet kokonger i den insamlade jorden räknades dessa i jorden från Arlöv

RESULTAT OCH DISKUSSION

Uppsamling av sexualferomonet och beteendeförsök

Både helkropps- och körtelextaktion användes för uppsamling av feromonsubstanserna. Totalt gjordes helkroppsextrakt från 1200 lockande honor och körtelextakt från 200 till. En del av extrakten användes för beteendeförsök i Y-rör. Beteendetesterna i Y-röret visar att honextraktet är biologiskt aktivt (Fig 1). Av 50 testade hannar, valde 35 den arm som innehöll honextraktet medan 13 valde den tomma armen. Endast två av hanarna svarade inte alls på stimuli. Att en extraktionsmetod etablerats som genererar biologiskt aktivt extrakt öppnar för en framtida kemisk identifiering av skidgallmyggans sexualferomon. För att ta reda på vilka av substanserna i hon/körtelextakten som ingår i feromonet kommer svaret till extraktet från doftreceptorerna på hanens antenner att analyseras med hjälp av GC-EAD (kombinerad gaskromatografi och elektrofysiologi). Därefter kommer GC-MS analys av de elektrofysiologiskt aktiva komponenter att göras för att fastställa deras struktur.



Figur 1. Antal hanar som valde honextrakt (extrakt) jämfört med tom arm (blank) i en Y-rörs olfaktometer. Totala antalet testade hanar var 50. Av dessa svarade 48 på stimuli, medan 2 inte gjorde det (NR).

Insamling av insektsmaterial

Ur de 180 kg jord, som samlades in under våren för att få tillgång till insekter att arbeta med i laboratoriet under projektperioden, kläcktes den första skidgallmygga efter 5 dagar. Totalt kläcktes 56 honor och 83 hannar. Från de angripna skidor som samlades in kläcktes vuxna insekter 6-9 dagar efter det att skidorna placerats i klimatkammare. Av de två substrat – vermiculite och planteringsjord/sandblandning – som testades för förpuppning föredrog larverna det senare. I början av insamlingsperioden var vädret soligt och torrt vilket gjorde att skidorna, även om de blivit angripna, fortfarande höll ihop. När det började regna, i mitten av juni, börjande angripna skidor mögla i fält vilket gjorde insamlingen mer tidskrävande och svårare att hantera. Under den regniga perioden var de angripna skidorna också mer eller mindre fulla av vatten, vilket gjorde att många av larverna dog inuti skidorna. Sammanfattningsvis var arbetsinsatsen för varje kläckt skidgallmygga avsevärt högre vid jordinsamling jämfört med skidinsamling.

För att få en uppfattning om antalet larver i den jord som samlades in för övervintring, räknades antalet kokonger i jorden från Arlöv. I provet hittades ca 100 kokonger per liter jord. Försök att kläcka fram insekter ur det övervintrade materialet under vintern och våren 2008 har varit framgångsrika.

REFERENSER

Bengtsson, M. & Hillbur, Y. 2001. Gallmyggors feromoner i fokus – effektiv prognos möjlig. Fakta Jordbruk nr 2.

Biddle A, Hillbur Y. 2000. Field tests with the pea midge pheromone. *Pea and Bean Progress* Winter 2000, p 9

Biddle A, Hillbur Y. 2002a. Field tests with the pea midge pheromone. *Grain Legumes Magazine* 34, 22-23

Biddle A, Hillbur Y. 2002b. Midge monitoring cracked! *Pea & Bean Progress*, Spring 2002, p 6

Gustafsson, G., Vimarlund, L. och Nilsson, C. 2000. Prognos och bekämpning av skidgallmygga i höstraps i Östergötland. Redogörelse för undersökningar 1993 - 1997 bekostade av Stiftelsen Svensk Oljeväxtforskning

Hillbur, Y. 2005. Feromoner för prognos av bekämpningsbehovet mot gallmyggor. Regional växtskyddskonferens för södra Sverige i Växjö, dec. 2005. Medd. från Södra jordbruksförsöksdistriktet, Sveriges Lantbruksuniversitet nr 58, 19:1-4

Hillbur Y, Anderson P, Arn H, Löfqvist J, Bengtsson M, Biddle A, Smitt O, Högberg H-E, Plass E, Franke S, Francke W. 1999. Identification of sex pheromone components in the pea midge, *Contarinia pisi* (Diptera: Cecidomyiidae). *Naturwiss* 86, 292-294

Hillbur Y, El-Sayed A, Bengtsson M, Löfqvist J, Biddle A, Plass E, Francke W. 2000. Laboratory and field study on the attraction of male pea midges, *Contarinia pisi*, to synthetic sex pheromone components. *J Chem Ecol* 26, 1941-1952

Hillbur Y, Bengtsson M, Löfqvist J, Biddle A, Pillon O, Plass E, Francke W. 2001. A chiral sex pheromone system in the pea midge, *Contarinia pisi*. *J Chem Ecol* 27, 1391- 1407

Hillbur Y, Celander M, Baur R, Rauscher S, Haftmann J, Franke S, Francke W. 2005a. Identification of the sex pheromone of the swede midge, *Contarinia nasturtii*. *J Chem Ecol* 31, 1807-1828

Hillbur Y, Baur R, Rauscher S. 2005b. Sex pheromone for monitoring and control of the swede midge, *Contarinia nasturtii*. *Patent*