

**Doktori értekezés (PhD)
tézisei**

Tóth Szabolcs

Gödöllő

2022



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

A *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) elleni védekezés módszertani fejlesztése laboratóriumi és szántóföldi körülmények között a különböző védekezési módszerek sikerességének és sikertelenségének jobb megértése céljából

DOI: 10.54598/003010

Tóth Szabolcs

GÖDÖLLŐ

2022

A doktori iskola

Megnevezés: Növénytudományi Doktori Iskola

Tudományága: Növénytermesztési- és kertészeti tudományok

Vezetője: Prof. Dr. Helyes Lajos, PhD., DSc, CMHA
egyetemi tanár, intézetigazgató
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gödöllő

Témavezetők:

Prof. Dr. Stefan Toepfer, PhD.
egyetemi magántanár, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Gödöllő
Kutató / ICM tanácsadó, CABI Europe - Switzerland

Prof. Dr. Kiss József, PhD., AM AFF
egyetemi tanár, tanszékvezető
Integrált növényvédelmi Tanszék
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Gödöllő

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezetők jóváhagyása

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A kukorica (*Zea mays* L.) az egyik legfontosabb haszonnövénye az emberiségnek, a becslések szerint az emberi táplálkozás során a világ elfogyasztott kalóriáinak körülbelül 50%-a ebből a növényből származik. Fontosságát jelzi termőterületének nagysága is, amely 2020-ban világszerte 197 millió, ha körül volt (Európában 9,2 millió ha, Magyarországon ebből ~1 millió ha, FAO, 2021, KSH, 2021

Ennek a növénynek az egyik legfontosabb rovarkártevője Észak-Amerikában az amerikai kukoricabogár vagy *Diabrotica virgifera* spp. *virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Krysan és Miller, 1986; Kiss et al. 2005). Európában ez a faj invazív, idegen fajnak számít. Az 1990-es években sikeresen meghódította az Európai földrész kukoricatábláit (Edwards et al., 1999; Kiss et al., 2001). A *Diabrotica v. virgifera*-nak évente egy generációja van, tojásai a talajban telelnek át és három lárva stádiummal rendelkeznek. A talajból előjövő imágók június végén és július elején jelennek meg (Ball, 1957; Chiang, 1973). Annak ellenére, hogy a kifejlett egyedek fogyasztják a kukorica virágporát és visszarágják annak bibéjét (Gyeraj et al., 2021), a fő kártevőforma a lárva, amely megrágja a kukorica gyökerét. A gyökerek sérülései csökkent víz- és tápanyagfelvételt okoznak, a növények megdőlnek így végső soron termésveszteség léphet fel (Kahler et al., 1985). A rovarok által okozott károk csökkentésére és elkerülésére a gazdálkodók számos védekezési mód közül választhatnak.

A főbb kártevők elleni védekezési módszerek közé tartozik (1) a szintetikus rovarölő szerek, például a granulátum (esetleg folyékony) formában kijutatott talajfertőtlenítő szerek a lárvák ellen, rovarölőszerrel csávázott vetőmagok szintén a lárvák ellen, valamint állomány permetezéssel kijutatott szerek az imágók ellen; (2) biológiai

növényvédelmi szerek (például, az entomopatogén fonálférges és -gombák vagy ragadozó atkák) a lárvák ellen; (3) a kártevő életciklusának megszakítása vetésváltással; (4) rovarölő fehérje toxint expresszáló transzgénikus kukorica vagy még újabb géntechnológiák alapján előállított génmódosított kukorica (pl. RNS interferencia) (Levine és Oloumi-Sadeghi, 1991; Toepfer és mtsai, 2005; Whangbo és Hunter, 2008). A felsorolt módszerek mindegyikének megvannak a maga korlátai. Már kimutatták az inszekticidekkel, a vetésváltással és a kukoricabogár rezisztens GM hibridekkel szembeni rezisztenciát is. Ezen túlmenően, még ha rezisztenciát nem is észleltek, gyakran tapasztalható, hogy a talajfertőtlenítőszer, az entomopatogén fonálférges, illetve a csávázott vetőmagok hatékonysága a rovarpopuláció lecsökkentésében és a gyökérvédelem megelőzésében igencsak változó szántóföldi körülmények között (Meinke et al., 2021).

Ezért kutatásom arra irányult, hogy kiderítsem, hogy az imént említett védekezési módszerek hatékonysága kártevő populációk lecsökkentésében és a gyökérvédelem megelőzésben miért mutat változó hatékonyságot szántóföldi körülmények között. Továbbá, a módszerek változó hatékonysága miatt, valamint, hogy az egyes kémiai rovarölőszer már vagy lassan nem elérhetőek a piacon egy új, alternatív és környezetbarát védekezési módszer lehetőségét vizsgáltam meg. Végül, a kártevő petéivel végzett kísérletek és vizsgálatok jobb tervezése és gyorsabb végrehajtása végett meghatároztam a peték diapauzális fázisának legrövidebb hosszát és az optimális inkubációs hőmérsékletet. Ez a miatt volt szükséges, hogy a kísérletek során a legtöbb lárva és a leginkább összehangolt petekelés könnyítse kísérleteim.

A célkitűzések:

- Hogyan változik az entomopatogén fonálféreg és talajfertőtlenítőszer hatékonyága a *Diabrotica v. virgifera* kártevő populációjának csökkentésében a termesztési időszakban szántóföldi körülmények között? Közelebbről, az időben hogyan alakul azok hatékonyága, mi az idő pontos szerepe.
- Meghatározni, hogy mely abiotikus és biotikus tényezők (faktorok) és hogyan befolyásolják az entomopatogén fonálféreg és talajfertőtlenítőszer hatékonyágát a *Diabrotica v. virgifera* populációk csökkentésében és a gyökérvérvárosítás megelőzésében szántóföldi körülmények között.
- Megvizsgálni egy alternatív, növényi eredetű azadiraktint tartalmazó talajfertőtlenítőszer granulátum lárvicid hatását a *Diabrotica v. virgifera* lárvaín, valamint hogy képes-e hatékonyan megelőzni a gyökérvérvárosítást. Meghatározni e szer letális dózis és effektív dózis értékeit a fent említettekre (lárvicid hatás, gyökérvérvárosítás megelőzés) laboratóriumi és üvegházi körülmények között.
- Meghatározni, hogy lehetséges-e a *Diabrotica v. virgifera* peték diapauzális fázisának lecsökkentése anélkül, hogy a peték kikelési aránya és kikelési szinkronja nagymértékben romoljon a természetes állapothoz képest. Meghatározni, hogy mi a peték számára a diapauza utáni optimális inkubációs hőmérséklet.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 A kezelések hatékonyságának időbeli változásai

A vizsgálatokat 12 dél-magyarországi kukoricatáblán hajtottuk végre 2010 és 2018 között. Minden mezőgazdasági munkát a gazdálkodók végeztek saját gépeikkel. A kukoricatáblákat előveteménye egy eset kivételével nem kukorica volt. A célszervezet a *Diabrotica virgifera* ssp. *virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) szabadban fellelhető, diapauzáló populációja volt. Két-három héttel a növények csírázása után parcellánként hat-hét egymás utáni kukoricánövényt mesterségesen megfertőztünk éppen kelő petéikkel. A kísérletek tervezése a PP 1/212 és PP 1/152 EPPO szabványokat követte (Anonymous, 1999, 2007). Négy-öt parcella/kezelés/kísérleti terület volt beállítva szisztematikus blokk elrendezésben. Minden kezelés a magágyba a vetéskor került. A *Heterorhabditis bacteriophora* (Dianem™) entomopatogén nematódákat vízzel permeteztük be a magágyba egy kereskedelmi forgalomban lévő applikátorral. A dózis 1,5-2 milliárd fonálféreg/ha volt. A klórpirifosz (Kentaur™) granulátum talajfertőtlenítőszerrel a vetőgépre szerelt applikátorral juttattuk ki. A dózis 10 kg granulátum/ha volt. A cipermetrin (Belem™) mikrogranulátumot ugyanúgy juttattuk ki, mint a klórpirifoszt. A dózis ez esetben 12 kg granulátum/ha volt. A teflutrin (Force™) granulátumot ismét ugyanúgy juttattuk ki, mint a többi talajfertőtlenítőszerrel. A dózis 13-15 kg granulátum/ha volt. A negatív kontroll a kezeletlen, fertőzött parcellákat jelentették.

A *Diabrotica v. virgifera* imágók fogása ketrecekkel történt, amelyek 6-7 egymást követő kukoricánövényt takartak. A rovarok megjelenése előtt megkezdtük a heti rendszerességű rovorszámlálást (az

ivari meghatározás a helyszínen történt, majd a rovarokat elengedtük). A szezon végén a megfogott egyedekre vonatkozó adatokat 100 pete/növényre/heti fogásra standardizáltuk. A heti kumulatív kelést minden kísérletnél időlépésenként is kiszámítottuk. Az egyes kezelések hatékonyságát kontrollhoz viszonyított *Diabrotica v. virgifera* imágók fogására számítottuk ki (Korrigált hatékonyság % = $100 \times (\text{imágók a kontroll parcellákon} - \text{imágók a kezelt parcellákon}) / \text{maximum (imágók a kontroll vagy a kezelt parcellákban)}$). Az összesített ivar (hím és nőstény egyben), a hímek és nőstények kifejlődését, valamint ezek kumulatív előjövételét lokális polinomiális regressziós trendvonalak segítségével ábrázoltuk. Az imágók megjelenésnek kezdete, 25, 50 és 75%-os kumulatív fogási százalékuk, valamint a rajzáscsúcsok közötti különbségeket minden kezelésnél a hozzá kapcsolódó kontrollal elemeztük páros t-próbával. Általánosított lineáris modellekkel összehasonlítottuk a kezelések hatékonyságát, valamint megvizsgáltuk a kezelések, a nemek és ezek interakcióinak hatásait a hatékonyságra. Emellett elemeztük a modelldiagnosztikai diagramokat: a modellillesztések maradéktagjainak normális eloszlását, homoszkedaszticitását és a Cook-távolságot vizsgáltuk. A kezelések a *Diabrotica v. virgifera* előjövételének csökkentésére gyakorolt időbeli hatásainak elemzésénél feltételeztük, hogy az imágók előjövételében megfigyelhető mintázatok időbeli eltolódásai a kezelések hatását tükrözik a lárvapopulációk szabályozásában bekövetkező időbeli különbségeken keresztül.

2.2 Abiotikus és biotikus tényezők hatásai a kezelések hatékonyságára

Ezen kísérletsorozat adatsora 20 dél-magyarországi kukoricatábláról származik, amelyet 2010 és 2020 között hajtottunk végre. Minden mezőgazdasági munkát a gazdálkodók végeztek saját gépeikkel. A kukoricatáblákat előveteménye az esetek nagy részében nem kukorica volt. Kivételt képez ez alól, 5 terület, amely másodéves kukorica volt és egy terület, amelyen harmadéves kukorica volt. A célszervezet a *Diabrotica virgifera* ssp. *virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) vadon fellelhető, diapauzáló populációja volt. Két-három héttel a növények csírázása után parcellánként hat-hét egymás utáni kukoricánövényt mesterségesen megfertőztünk éppen kelő petékkel. Ugyanarról a parcelláról másik hat-hét egymás utáni kukoricánövényt szintén megfertőztünk és megjelöltünk a gyökérvárosodás felvételezése céljából. A kísérletek tervezése a PP 1/212 és PP 1/152 EPPO szabványokat követte (Anonymous, 1999, 2007). Négy-öt parcellát/kezelést alkalmaztunk szisztematikus blokktervezésben. Az összes kezelést a vetéskor a barázdába vittük. A *Heterorhabditis bacteriophora* (Dianem™) entomopatogén nematódákat vízzel permeteztük be a magyágyba egy kereskedelmi forgalomban lévő applikátorral. A koncentráció 1,5-2 milliárd fonálféreg/ha volt. A klotianidin (Poncho™) csávázószert 0,006 ml/mag koncentrációban alkalmaztuk. A cipermetrin (Belem™) talajfertőtlenítő mikrogranulátumot ugyanúgy jutattuk ki, mint az előző szakaszban (2.1). A koncentráció szintén 12 kg granulátum/ha volt. A teflutrin (Force™) finom granulátumot ismét ugyanúgy jutattuk ki, mint a cipermetrint. A

dózis 13-15 kg granulátum/ha volt. A negatív kontroll a kezeletlen, fertőzött parcellákat jelentették.

Az időjárási adatok felvételezése óránként történt (David Instruments). Minden kísérleti helyszínről évente egy liter vegyes talajmintát vettünk 5-30 cm mélységből. Ezeket a mintákat a Szolnoki Talajvédelmi Szolgálatnak megküldtük elemzésre. Elemzés a következő talaj paraméterekre terjedt ki: agyag tartalom, iszapos vályoghomok tartalom, térfogatsűrűség, CaCO₃, humusz tartalom és talaj pH (Anonymus, 1999). A mért és számított talajnedvesség áprilistól augusztusig havonta történt felvételezésre. Az entomopatogén fonálférgék minőség ellenőrzése *Tenebrio molitor* lárvákkal (Coleoptera: Tenebrionidae) végzett biotesztekre terjedt ki (Toepfer et al., 2008). A kártevő populációk nagyságának és a gyökérvárosodás mértékének értékelése a következő volt: 4-5 sorozat/hat-hét fertőzött kukoricánövény kezelésenkénti adatai kerültek felvételezésre tábla szinten. A kezelések hatékonysága felvételezése és kiszámítása az imágók számának csökkentésére az előző alponttal (2.1) megegyezik (illetve lásd Tóth et al. 2020). A gyökérvárosítás meghatározása céljából minden évben, július elejétől augusztus elejéig kezelésenként 24-30 kukoricánövényt ástunk ki minden tábláról. A tényleges károsítás osztályozása két skálával történt: (i) 1-6-ig terjedő Iowa-skála az általános sérülések meghatározására alkalmazott (Hills és Peters, 1971), amely a leggyakrabban használt skála, annak ellenére, hogy túlbecsülheti a kisebb sérülések jelentőségét, és (ii) a 0,00–3,00 tartó node-injury skála, amely a súlyos gyökérvárosítás esetén jobban használható (Oleson et al., 2005), amely egy lineáris és decimális skálán felvételez, amely csak a teljesen elpusztult gyökereket vagy nóduszokat méri. A gyökérvárosítás korrigált hatékonyságát

számítása = $100 \times (\text{kontroll parcellák károsodása} - \text{kezelt parcellák károsodása}) / \text{maximum (károsodás kontroll vagy kezelt parcellák)}$.

Lineáris regressziós modelleket használtunk a kezelések hatékonyságának megállapítására imágók számának csökkentése és a gyökérvérvétel megelőzése esetén. Ezután post-hoc Tukey-tesztek segítségével megállapítottuk a kezelések közötti különbségeket. Ezután kiszámítottuk a Pearson-féle korrelációs együtthatókat (r-koefficiens) különböző abiotikus és biotikus tényezők valamint a kezelések hatékonysága az imágók számának csökkentésére és a gyökérvérvétel megelőzésére. A regressziós modellezéshez csak, olyan tényezőket használtunk, amelyek r-koefficiens együtthatója -0,4 és +0,4 között volt, p-értéke < 0.05. Ezután, egyszerű vagy többszörös lineáris regressziós modellezést végeztünk, hogy a tényezők és a kezelések hatékonyságai között ok-okozati összefüggéseket tárjunk fel. A kapott eredmények félreértelmezésének elkerülése végett a modellezés végrehajtása előtt megvizsgáltuk, hogy azok matematikai feltételei adottak-e (Hastie et al. 2021).

2.3 Az azadiraktin hatása *Diabrotica v. virgifera*-ra

A célszervezet a *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte diapauzát nem igénylő populációja volt. A populáció kezdeti egyedei eredetileg az USDA-ARS laboratóriumaiból (Brookings, USA) származtak, majd 2017-től folyamatosan *in-house* nevelve voltak.

Laboratóriumi vizsgálatok: A pozitív kontrollok a következők voltak: Azadiraktin 1% (NeemAzal-T/S 10 EC) 9 különböző koncentrációban (1 µg a.h./ml – 10000 µg a.h./ml); 20% imidakloprid (Confidor 200 SL) egy koncentrációban (2 µg a.h./ml); cipermetrin 0,8%

(Belem 0,8 MG) egy koncentrációban (100 µg a.h./ml); teflutrin 1,5% (Force 1,5G) egy koncentrációban (100 µg a.h./ml). A vizsgált szer a következő volt: azadirachtin 0,15% (Neem Azaal 0,15G) 4 különböző koncentrációban (0,1 µg a.h./ml – 100 µg a.h./ml). A negatív kontrollt a steril vízt jelentette. Három mesterséges táptalajon alapuló biotesztet végeztünk el fél-steril körülmények között. Mindegyik bioteszt 3-6 műanyag 96-well-es lemezből állt. Mindegyik well 190 µl mesterséges táptalajt (Frontier #F9800B diéta + szárított kukoricagyökér) plusz 20 µl kezelést és 1 frissen kelt lárvát tartalmazott, ezt egy optikailag átlátszó lappal zártuk le. Ezt követően a lemezeket sötét, 24 C°-os inkubátorba helyeztük, és 3 és 5 nap múlva felvételeztük a mortalitást és az esetleges szubletális hatásokat.

A kezelések hatását általánosított lineáris modellek (GLM) segítségével elemeztük, Tukey HSD post hoc páronkénti összehasonlítást alkalmaztunk az adatok egyenlő varianciája esetén, nem egyenlő variancia esetén Games Howell post hoc összehasonlítást végeztünk. Logisztikus regressziós elemzést alkalmaztunk az egyes kezelések dóziszválaszának értékelésére, beleértve az 50%-os vagy 90%-os mortalitáshoz vezető dózist ($LD_{50/90}$).

Üvegházi kísérletek: A pozitív kontrollok a következők voltak: cipermetrin 0,8% (Belem 0,8 MG) egy koncentrációban (7,2 mg a.h./m magágy); teflutrin 1,5% (Force 1,5G) egy koncentrációban (15 mg a.h./m magágy). Tiametoxám 30% (Cruiser 350 FS) egy koncentrációban (6,25 mg a.h./5 mag). A vizsgált szer a következő volt: azadirachtin 0,15% (Neem Azaal 0,15G) 5 különböző koncentrációban (2 mg a.h./m magágy – 280 µg mg a.h./m magágy). A negatív kontrol a csak petékkal fertőzött cserepek voltak. Az üres kontrol a fertőzés nélküli cserepeket jelentette. Mindegyik kezelést három-négy szisztematikusan elrendezett öt

cserépből álló blokk (= ismétlés) jelentette. Ez összesen 15-20 adatpontot (= minta) tett ki kezelésként és kísérletenként. Részletesen, minden cserepet (műanyag kerti cserép, 15 cm belső átmérő × 10 cm magasság, 2 l) először 1 liter sterilizált talajjal töltöttünk fel. Két kukoricamagot adtunk hozzá, egy növényt később eltávolítottunk. Ezután minden edénybe 200 ml vizet öntöttünk. A kezeléseket vagy granulátum formájában alkalmaztuk egy 2 cm széles csík mentén az cserepek 10 cm átmérőjére, vagy csávázószerként. Később, a kukoricacserepeket növényenként 50-100 életképes, kelésre kész petével fertőztünk meg. Ekkor a növények többsége 3 leveles állapotban volt (15-20 cm magas). 40-50 nap elteltével a kísérletek befejeződtek, és megszámloltuk a lárvákat, a megmértük a növények friss tömegét és felvételeztük a gyökérvárosítás mértékét (két gyökérvárosítási skála leírását lásd a 2.2 alpontban).

A kezeléseket hatásának elemzése a lárvák mortalitására és a gyökérvárosításra GLM-analízissel vagy Kruskal–Wallis H teszttel történt. GLM elemzés után Tukey HSD post hoc tesztet alkalmaztunk, ha az adatok varianciája egyenlő volt. Ha utóbbi nem teljesült, Games Howell tesztet alkalmaztunk. Logisztikus regressziós elemzéseket alkalmaztunk az egyes kezeléseket dózis-válaszának értékelésére, beleértve a lárvapopulációk 50%-os csökkentéséhez vagy a gyökérvárosítás megelőzéséhez vezető effektív dózist (ED_{50}) megállapítását. Az egyes kezeléseket átlagos korrigált hatékonyságát a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva számítottuk ki. Korrigált hatékonyság % = $100 \times (\text{lárvák vagy a gyökérvárosítás a kontroll cserepekben} - \text{lárvák vagy a gyökérvárosítás a kezelt cserepekben}) / \text{maximum (lárvák vagy gyökérvárosítás a kontroll vagy kezelt cserepekben)}$.

2.4 A *Diabrotica v. virgifera* kelési mintázatának vizsgálata

Két különböző *Diabrotica v. virgifera* populációt használtunk vizsgálatainkra. Az egyik a vadon élő, diapauza fázist igénylő, CSE populáció, amely Európában honos. A peték gyűjtéséhez 2017-ben és 2018-ban imágó egyedeket fogtunk be Csongrád-Csanád és Békés megyében. Az imágókat standard laboratóriumi körülmények között neveltük 23-25 °C-on és 40-60% relatív páratartalom mellett. A kapott petéket 2-3 hétig 24 °C körüli hőmérsékleten tartottuk, majd azokat megmostuk és megtisztítottuk, ezután ezeket 6-8 °C-on tároltuk, sötétben felhasználásig. A petéket időközönként minőség-ellenőrzés céljából megvizsgáltuk. A másik populáció a laboratóriumban tenyésztett, diapauza fázist nem igénylő, ND *Diabrotica v. virgifera* volt. Ezeket a petéket eredetileg az USDA-ARS-től (Brookings, USA) szereztük be, és 2017 óta *in-house* neveljük ugyanolyan körülmények között, mint a másik populációt. A petéket hetente gyűjtöttük, de ez esetben diapauza, azaz peték hűtése nem történt meg.

A *Diabrotica v. virgifera* vadon élő populációjából származó petéket 6–8 °C-on teleltettük majd havi szinten szakítottuk meg a diapauzális fázist. Ezekből majd kategóriákat hoztunk létre: nincs diapauza, 0.5–1.5, 2–4, 5–7, 8–10 (azaz a természetes diapauza hossza), 11-13, 14-16 és >17 hónap diapauza fázis hossz. Az ND populációból származó tojásokat nem tettük ki hideg hőmérsékleti időszakoknak, és közvetlenül használtuk fel. Felhasználás előtt a petéket megmostuk, fertőtlenítettük. A petéket együtt vízzel pipettáztuk egy 5 cm átmérőjű szűrőpapírra Petri-csészébe, egy tétel (havonta, szakaszosan megszakított diapauza) 12 Petri-csészből állt. Mindegyik tételből négy Petri-csésze petét inkubáltunk nedves szűrőpapíron sötétben a három különböző

inkubációs hőmérséklet mindegyikén (16 ± 0.5 °C, 20 ± 0.5 °C és 24 ± 0.5 °C), és 50-60% relatív páratartalom mellett.

A peték áttelelési túlélését az egészséges és az elpusztult tojások sztereó mikroszkóp alatti megszámlálásával értékeltük. A tojáskeltés során a lárvák kikelését minden 2. vagy 3. napon felvételeztük. A kikelt lárvákat tiszta csipesszel eltávolítottuk. Petri-csészénként kiszámítottuk a peték áttelelési és kikelési arányait, valamint a peték kelésének kezdetét, csúcst, befejeződését és időtartamát, majd átlagoltuk az azonos kezelésű, négy megfelelő Petri-csészét.

A nyers adatokat kategóriánként 100 petére standardizáltuk, hogy szemléltessük a kelés időbeli dinamikáját. Átlagértékeket használtuk a peték kelésének kezdetének, csúcának, időtartamának és befejezésének ábrázolására kategóriánként. A kelés szinkronizálását a vizuális értékelés mellett a szórás és a variációs együttható kiszámításával is jellemeztük. A maradéktagok normál eloszlására és a homoszkedaszticitásra vonatkozó feltételezések vizsgálatára alapvető diagnosztikai diagramokat használtunk. Általános additív modelleket (GAM) alkalmaztunk a diapauza hosszának (nyolc kategória) és a diapauza utáni inkubációs hőmérsékletnek (16, 20 és 24 °C) gyakorolt hatásának elemzésére a peték kelésének kezdetére, csúcására, befejezésére és időtartamára, valamint a kelési arányra. Tukey post-hoc tesztet alkalmaztunk a diapauza hossz (nyolc kategória), a három inkubációs hőmérséklet és a két populációtípus közötti különbségek kimutatására.

3. EREDMÉNYEK

3.1 A kezelések hatékonyságának időbeli mintázata nem mutatott különbséget

Eredményeink azt mutatták, hogy a cipermetrin, teflutrin és a *H. bacteriophora* a ketrecekkel mért fogási eredmények alapján képesek voltak a kártevő számának csökkentésére. Átlagban a kezelések hatékonysága 33-42% volt, viszonylag nagy szórással. A klórpirifosz hatékonyságának változékonysága miatt, csak a nőtény imágók elleni hatékonyságát tudtuk detektálni.

Kimutattuk, hogy a teflutrin hatékonysága idővel enyhén növekszik a nőtények számának csökkentésében, így jobban képes hatni a később, mint a korán kikelő nőtény lárvákra. Ezzel szemben azt találtuk, hogy a klórpirifosz jobban csökkenti a korán kikelő nőtényeket. Ezek a változások azonban olyan finomak, ha napokban szeretnénk kimérni ezeket a különbségeket a kontrolhoz mérten, ezek az enyhe időbeli dinamikai eltérések már nem tükröződnek a 25, 50, 75%-os és rajzáscsúcsi kumulatív előjövételben. A cipermetrin és a *H. bacteriophora* nemtől függetlenül folyamatosan csökkentette a *Diabrotica v. virgifera* imágók számát.

3.2 Az abiotikus és biotikus tényezők csak korlátozottan befolyásolják a kezeléseket

Általánosságban elmondható, hogy az alkalmazott védekezési módszerek, a klotianidin csávázószer, a cipermetrin és teflutrin granulátum, valamint a vízzel kipermetezett *H. bacteriophora* viszonylag nagy variabilitás mellett, de képes csökkenteni a kártevő populációk

számosságát és megelőzni az általános és súlyos gyökérvárosítást. Azonban az eredmények azt mutatták, hogy az esetek 20-30%-ában a kezelések nem tudták csökkenteni a kártevő populációkat, és 5-20%-ban nem tudták megvédeni a gyökereket a súlyos gyökérvárosítástól.

6 biotikus és 20 abiotikus tényező hatását vizsgáltuk a talajfertőtlenítőszer hatékonyására kártevő számának csökkentésére és gyökérvárosítás megelőzése. Azt találtuk, hogy nagyon kevés olyan tényező van, amely befolyásolja a kezelések hatékonyságát. A klotianidin valamivel kevésbé volt hatékony a *Diabrotica v. virgifera* imágók számának csökkentésében, ha a talaj CaCO₃ és humusz tartalma megnövekedett, valamint kevésbé volt hatékony gyökérvárosítás megelőzésében nagy talaj térfogatsűrűség esetén. A kései kukoricavetés (ezzel együtt kései kezelés), valamint a júliusi magas talajnedvesség javította ezen rovarölőszer védekezési hatékonyságát a súlyos gyökérvárosítás megelőzésére. A cipermetrin hatékonyabban akadályozta meg a súlyos gyökérvárosodást, ha megnövekedett mennyiségű agyagtartalom volt a talajban. A teflutrin kevésbé volt hatékony a *Diabrotica v. virgifera* imágó számnak csökkentésében, ha talajnedvesség magas volt júliusban, de valamivel hatékonysága növekedett magasbb júliusi kumulatív csapadékmennyiség mellett. Az erős gyökérvárosítás megelőzésének hatékonysága csökkent, ha a talaj megnövekedett homoktartalommal bírt.

Nem tudunk összefüggést megállapítani a *H. bacteriophora* hatékonyságára a kártevő populáció csökkentésében és gyökérvárosítás megelőzésében valamint a vizsgált 12 biotikus és 20 abiotikus tényező között. Az entomopatogén fonálféreg szántóföldi felhasználása szempontjából azonban néhány ígéretes eredmény is született. Például fonálféreg kijutattás utáni mortalitása és virulenciája nem befolyásolta

azok hatékonyságát a későbbiekben. A fonálférgek hatékonysága független volt attól, hogy milyen mennyiségű vízmennyiséggel (133 L-től 558 L-ig) voltak kipermetezve.

3.3 Alternatív megoldás lehet az azadiraktint tartalmazó talajfertőtlenítőszer

A laboratóriumban végzett biotesztek bizonyították az azadiraktin larvicid hatását. 3 nap után az azadiraktin LD₅₀-es értéke 22,3 µg azadiraktin/ml volt, ez 0,45 µg aktív hatóanyag/lárvának felel meg. 5 nap elteltével ez az LD₅₀-es érték 19,3 µg azadiraktin/ml volt, ami 0,39 µg/lárvának felel meg. A lárvák közötti magas és gyors mortalitás miatt szubletális hatást nem figyeltünk meg. A biotesztekkel azt is bebizonyítottuk, hogy az újonnan tesztelt azadiraktin alapú produktum korábban érte el a 100%-os mortalitást 5 nap után a lárvákon, mint egy, a kereskedelmi forgalomban kapható, folyékony azadiraktin készítmény.

Az üvegházi kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a barázdába a vetéskor alkalmazott 38 g azadiraktin granulátum/hektár javasolt standard dózis nem alkalmas a *Diabrotica v. virgifera* lárvái elleni védekezésre, illetve a gyökérfárosítás megelőzésére sem. A standard dózis 10-szerese azonban már kielégítő módon gyérítette a lárvákat és védte meg a kukorica gyökerét. Ez a hatékonyság jobb volt, mint a cipermetrin alapú granulátum hatékonysága, és összehasonlítható volt a teflutrin granulátumok vagy a tiomethoxám alapú csávázószerrel bevont magok hatékonyságával. Ebben az esetben az ED₅₀ 92 g azadiraktin/ha volt a *Diabrotica v. virgifera* lárvái elleni védekezés során, míg az általános gyökérfárosítás megelőzésére 220 g/ha, a súlyos gyökérfárosítás megelőzésére pedig 52 g/ha volt.

3.4 A peték diapauza fázisa csökkenthető optimális inkubációs hőmérsékleten

Általánosságban elmondható, hogy 20-24 C°-on és 2-10 hónapos diapauza fázis után a peték kikelési arányai hasonlóak a vadon élő populációhoz, amely a természetes körülmények között telel át a talajban. 16 C°-os inkubációs hőmérsékleten a kikelési arány csökken.

Általában 20-24 C°-on és 5-13 hónapos diapauza mellett a kikelés kezdeti időpontja, csúcса, vége és időtartama nem különbözik a vadon élő populációtól. 16 C°-os inkubációs hőmérsékleten a kikelési mintázat szétszórt.

A kísérletek eredményeként egy összefoglaló adattáblázat került összeállításra, amely részletes információt nyújt a kísérletezőknek, hogy megtervezhessék kísérleteiket a különböző diapauzális fázis állapotában lévő petéikkel.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Összefoglalva, az összes vizsgált kezelés (kémiai vagy biológiai) képes volt hosszú időn keresztül, habár változó hatékonysággal csökkenteni a kártevő populációjának számát és csökkenteni a gyökérvárosítást. Azonban csak nagyon kevés jel utal arra, hogy az alkalmazott kezeléseknek eltérő időbeli hatásai eredményezik változékony hatékonyságukat szántóföldön. A gazdálkodók számára tehát fontos megerősítés lehet, hogy a kezelések hatása az egész termesztési időszakban fennáll.

Továbbá szintén kevés jel utal arra, hogy a vizsgált abiotikus és biotikus tényezők okozzák a kezelés hatékonyságának jelentős változékonyosságát. Ez azt jelzi, hogy a környezeti tényezők külön-külön jelentős mértékben nem befolyásolják a kezelések hatásosságát, ezért ezek bárhol és bármikor bevethetők. Az entomopatogén fonálférges kijuttatásáról elmondható mortalitása és virulenciája nem befolyásolta azok későbbi hatékonyságát, ami előnyös, mivel a gazdálkodók gyakorta nem szoktak hozzá az élő szervezetekkel való munkához. Tovább kimutattuk, hogy a szántóföldi kijuttatásukhoz még 100 l/ha víz is elegendő, ami arra enged következtetni, hogy a gazdálkodók ezt a védekezési módot könnyen adaptálhatják saját területükön, mivel a területre viszonylag kevés vizet kell kihordani. Eredményeink azt sugallják, hogy az egymásra és/vagy együttesen ható tényezők között összetett kölcsönhatások állnak fenn, így ezek összeadott negatív hatásai jelentkehetnek negatívan a kezelés hatékonyságán. Az ilyen finom kölcsönhatások elemzése és feltárása rendkívül nehézkes és kívül esett vizsgálatunk hatáskörén. Ami az entomopatogén fonálférges hatékonyságának változékonyosságát illeti, lehetséges, hogy a talajban élő

fauna és mikrobiális közösségek szerepe van, nagyobb lehet ebben, mint azt eddig gondoltuk. Továbbá ne feledjük, hogy maguk a fonálférgék élő organizmusok, így azok viselkedése és működése nem összehasonlítható egy szintetikus talajfertőtlenítőszerhez. További vizsgálatok szükségesek.

Kimutattuk, hogy az azadiraktint aktív hatóanyagot tartalmazó talajfertőtlenítőszer képes helyettesíteni a már forgalomból kivont talajfertőtlenítőszeret, így a gazdálkodóknak nem kell megválniuk az eddigi hagyományos kijuttatási módszertől (vetéssel egy menetben való kijuttatás, granulátum applikátor) szabadföldi körülmények között. Azonban a dozírozás növelése, valamint nagyszabású szántóföldi kísérleteket elvégzése még szükséges mielőtt a gazdák növényvédelmi eszköztárának része lenne ez a biológiai növényvédelmi megoldás.

Kutatásunk feltárta, hogy a kutatóknak nem kell feltétlenül 8-10 hónapot várniuk (a természetes diapauza hossza) a peték felhasználására. A 2-10 hónap diapauza után, majd 20-24 °C-on inkubálva a petéket azok felhasználhatók anélkül, hogy veszélyeztetnénk a peték túlélését, a csökkentenénk a kikelési arányt és a kikelési mintázat szinkronizációját. A <2 vagy >10 hónapig tartó diapauza több kikelési mintázati paramétert negatívan befolyásolt, csakúgy, mint az alacsonyabb inkubációs hőmérséklet (16 °C), így ezek kerülendők.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Megállapítottam, hogy a talajfertőtlenítőszer, mint a teflutrin, cipermetrin és a klorpirifosz, a vetőmag csávázószer klotianidin, valamint a biológiai védekezésben használatos *H. bacteriophora* entomopatogén fonálférges képesek csökkenteni a *Diabrotica v. virgifera* kártevő populációjának számát és megelőzni a gyökérvédekezést szántóföldi körülmények között a különböző években illetve területeken, azonban hatékonyságuk nagy változékonyságot mutatott.
- Megállapítottam, hogy a használt kezelések eltérő hatékonyságát nem azok időbeli változásai okozzák a *Diabrotica v. virgifera* kártevő populációjának csökkentésében.
- Kimutattam, hogy a vizsgált abiotikus és biotikus tényezők csak kismértékben befolyásolják a fent említett kezelések hatékonyságát a *Diabrotica v. virgifera* kártevő populációja csökkentésében és az általános, valamint a súlyos gyökérvédekezés megelőzésében.
- Az azadiraktin alapú talajfertőtlenítőszer granulátum laboratóriumi körülmények között magas mortalitást indukált a *Diabrotica v. virgifera* lárvák között. Emellett képes csökkenteni a *Diabrotica v. virgifera* lárvák számát és megelőzni a gyökérvédekezést üvegházi körülmények között emelt dózisban.
- Megállapítottam, hogy a *Diabrotica v. virgifera* vadon élő populációi petéinek diapauza fázisa a 8-10 hónapig tartó természetes diapauza hosszhoz mérten közel 2 hónapra csökkenthető anélkül, hogy ez veszélyeztetné a sikeres és szinkronizált lárva kelést 20 és 24 C° inkubációs hőmérsékleten.

6. HIVATKOZÁSOK

ANONYMOUS (1999) Evaluation of insecticides: *Diabrotica v. virgifera*. EPPO PP 1/212(1: 3)

ANONYMOUS (2007) Efficacy evaluation of plant protection products: design and analysis of efficacy evaluation trials: PP 1/152(3). EPPO Bull 37:11–24

BALL, H.J. (1957) On the biology and egg-laying habits of the western corn rootworm. J Ec Ent, 50: 126–128.

CHIANG, H.C. (1973) Bionomics of the northern and western corn rootworms. Annu Rev Entomol, 18:47–72.

EDWARDS, C.R., KISS, J., PAJMON, A., UREK, G. (1999) New findings on spreading of western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte) in Europe. Zb Pred Ref Slov Posvetovanja o Varstvu Rastl v Portoro Marca, 1999: 51–59.

FAO STAT. (2021). FAO Stat. FAO Rome. <http://www.fao.org/faosta>.

GYERAJ, A., SZALAI, M., PÁLINKÁS, Z., EDWARDS, C.R., KISS, J. (2021) Effects of adult western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, Coleoptera: Chrysomelidae) silk feeding on yield parameters of sweet maize. Crop Prot, 140.

HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; JAMES, G.; WITTEN, D. (2021) An Introduction to Statistical Learning (2nd Ed.). Springer texts 2021, 102, 618.

HILLS, T.M.; PETERS, D.C. (1971) A Method of Evaluating Postplanting Insecticide Treatments for Control of Western Corn Rootworm Larvae. J. Econ. Entomol, 64, 764–765.

KAHLER, A.L., OLNES, A.E., SUTTER, G.R., DYBING, C.D., DEVINE, O.J. (1985) Root damage by western corn rootworm (*Diabrotica*

virgifera virgifera) and nutrient content in maize (*Zea mays*). Agron J, 77:769–774.

KISS, J., EDWARDS, C.R., ALLARA, M., SIVCEV, I., IGRC-BARCIC, J., FESTIC, H., IVANOVA, I., PRINCZINGER, G., SIVICEK, P., ROSCA, I. (2001) A 2001 update on the Western Corn Rootworm (*Diabrotica virgifera*) in Europe. XXI IOBC IWGO Conf VIII Diabrotica Subgr Meet.

KISS, J.; EDWARDS, C.R.; BERGER, H.K.; CATE, P.; CEAN, M.; CHEEK, S.; DERRON, J.; FESTIC, H.; FURLAN, L.; IGRC-BARCIC, J.; et al. (2005) Monitoring of Western Corn Rootworm (*Diabrotica Virgifera Virgifera* LeConte) in Europe 1992-2003. In Western Corn Rootworm: Ecology and Management; Vidal, S., Kuhlmann, U., Edwards, C.R., Eds.; 2005; pp. 29–39.

KRYSAN, J.L., MILLER, T.A. (1986) Methods for the study of pest *Diabrotica*. In: Methods for the study of pest *Diabrotica*. 260 pp

KSH (2021) Főbb növénykultúrák terméseredményei, 2020. <https://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/stattukor/fobbnoveny/2020/index.html>

LEVINE, E., OLOUMI-SADEGHI, H. (1991) Management of diabroticite rootworms in corn. Annu Rev Entomol, 36:229–255.

MEINKE, L.J.; SOUZA, D.; SIEGFRIED, B.D. (2021) The Use of Insecticides to Manage the Western Corn Rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*, Leconte: History, Field-Evolved Resistance, and Associated Mechanisms. Insects, 12, 1–22.

OLESON, J.D.; PARK, Y.L.; NOWATZKI, T.M.; TOLLEFSON, J.J. (2005) Node-Injury Scale to Evaluate Root Injury by Corn Rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol, 98, 1–8.

- TOEPFER, S., GUELDENZOPH, C., EHLERS, R.U., KUHLMANN, U. (2005) Screening of entomopathogenic nematodes for virulence against the invasive western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe. Bull Entomol Res, 95:473–482.
- TOEPFER, S.; PETERS, A.; EHLERS, R.U.; KUHLMANN, U. (2008) Comparative Assessment of the Efficacy of Entomopathogenic Nematode Species at Reducing Western Corn Rootworm Larvae and Root Damage in Maize. J. Appl. Entomol, 132, 337–348
- TOTH, S.; SZALAI, M.; KISS, J.; TOEPFER, S. (2020) Missing Temporal Effects of Soil Insecticides and Entomopathogenic Nematodes in Reducing the Maize Pest *Diabrotica Virgifera Virgifera*. J. Pest Sci, 93, 767–781.
- WHANGBO, J.S., HUNTER, C.P. (2008) Environmental RNA interference. Trends Genet, 24:297–305.

7. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK ÉS TUDOMÁNYOS AKTIVITÁS

7.1 Angol nyelvű, lektorált közlemények

TOTH, SZ., SZALAI, M., KISS, J., TOEPFER, S. (2020) Missing temporal effects of soil insecticides and entomopathogenic nematodes in reducing the maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Pest Science* 93, 767-781. (DOI: 10.1007/s10340-019-01185-7) (IF 5.9)

TOEPFER, S., **TOTH, SZ.**, SZALAI, M. (2021) Can the botanical azadirachtin replace phased-out soil insecticides in suppressing the soil insect pest *Diabrotica virgifera virgifera*? *CABI Agriculture and Bioscience* 2:28. (DOI: 10.1007/s10340-019-01185-7)

TOTH, SZ., SZALAI, M., TOEPFER, S. (2022) On understanding and manipulating the hatching patterns of *Diabrotica virgifera virgifera* eggs to improve design of experiments. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 170: 122–133. (DOI: 10.1111/eea.1312) (IF 2.14)

JABEUR, R., GUYON, G., **TOTH, SZ.**, ET AL. (2022) A novel binary pesticidal protein from *Chryseobacterium arthrosphaerae* controls *Diabrotica virgifera virgifera* via a different mode of action to existing commercial pesticidal proteins. *Plos One* (Elfogadva) (IF 3.75)

7.2 Magyar nyelvű, lektorált közlemény

VÖRÖS L., ÁBRAHÁM R., NAGY K., **TÓTH SZ.**, TOEPFER S. (2022) Megtartja-e a *Heterorhabditis bacteriophora* a kukoricabogár lárvára (*Diabrotica v. virgifera*) gyarkolort ölő hatását kisebb vízmennyiséggekkel történő kijuttatás esetén? (Can *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes still control western corn rootworm larvae

when applied with low amounts of water?) *Növényvédelem* 83(5): 192-200.

7.3 Konferencia kiadvány (proceeding)

TOEPFER, S., **TOTH, SZ.** (2020) Entomopathogenic nematode application against root-damaging *Diabrotica* larvae in maize: what, when, and how? *Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests. IOBC-WPRS Bulletin*. 150, 185-188.

7.4 Angol nyelvű, lektorált közlemények megjelenés alatt

TOTH, SZ., TOEPFER, S., SZALAI, M., KISS, J. (2022) Limited influence of abiotic and biotic factors on the efficacy of soil insecticides and entomopathogenic nematodes when managing the maize pest *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Agronomy* (Beadva)

TARIGAN, S.I., **TOTH, SZ.**, SZALAI, M., KISS, J., TUROCZI, GY., TOEPFER, S. (2022) Biological control properties of microbial plant biostimulants. A review. *Biocontrol Science & Technology* (Revízió alatt – Minor revision)

7.5 Nemzetközi konferencia előadások

TOEPFER, S., **TOTH, SZ.**, KISS, J. AND KUHLMANN, U. (2018) Current status of biological control in Hungary: An EU member state and B&R target country. First International Congress of Biological Control, 14–16 May 2018, Beijing, China. In: Qiu, D. (ed.) *Biological control for a healthy planet*. China Agricultural Science and Technology Press, Beijing, China, p. 249

TOTH, SZ., SZALAI, M., KISS, J., TOEPFER, S. (2019) Factors influencing the efficacy of soil insecticides and entomopathogenic nematodes at reducing the maize pest *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera:

Chrysomelidae) under field conditions. IOBC IWGO conference. Engelberg. Switzerland. 14 to 17 October 2019. p 42 (oral presentation).

TOEPFER, S., **TOTH, SZ.** (2019). Entomopathogenic nematode application against root-damaging *Diabrotica* larvae in maize: what, when, and how? International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control & 52nd Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology & 17th Meeting of the IOBC-WPRS Working Group “Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests” Valencia Spain, 28 July - 1 August 2019 p.72

TOTH, SZ., SZALAI, M., KISS, J., TOEPFER S. (2022) Can entomopathogenic nematodes replace synthetic soil insecticides for suppressing populations of the maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* in Europe? European Scientific Conference – Towards Pesticide Free Agriculture. Dijon, France, 2 & 3 of June 2022.

7.6 Hazai konferencia előadás

TOTH, SZ., SZALAI, M., VOROS, L., ABRAHAM, L.R., DOSHI, P., TOEPFER, S. (2021) Can azadirachtin-based soil biopesticides be used for sustainable management of the invasive *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) I. Debreceni Alkalmazott Rovartani Konferencia (online). 2021. January 20.

7.7 Nemzetközi és hazai poszter megjelenés

TOTH, SZ., SZALAI, M., KISS, J., TOEPFER, S. (2019) Reasons behind inconsistency of soil insecticides and entomopathogenic nematodes at reducing the maize pest *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) under field conditions. LXI. Georgikon Napok Nemzetközi Tudományos Konferencia (2019. okt. 3-4.)

TOTH, SZ., SZALAI, M., ZELLNER, M., KUNTH, P. GLAS, M., KISS, J., TOEPFER, S. (2019) Temporal effects of soil insecticides and entomopathogenic nematodes at reducing *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) under field conditions. A *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) lárvája elleni kémiai és biológiai védekezési lehetőségek hatékonyságának időbeli különbségei szabadföldön 65th Hungarian Plant Protection Days. 65. NÖVÉNYVÉDELMI TUDOMÁNYOS NAPOK. Budapest, Hungary, 19 to 20 to February 2019, p. 90-91.

TOTH, SZ., SZALAI, M., KISS, J., TOEPFER, S. (2019) Diapause and hatching patterns of *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) to better plan experimentation with neonate larvae. IOBC IWGO conference. Engelberg. Switzerland. 14 to 17 October 2019, p. 91.

TOEPFER, S., **TOTH, SZ., ZELLNER, M.** (2019) How to use entomopathogenic nematodes against the root-damaging *Diabrotica* larvae in maize? IOBC IWGO conference. Engelberg. Switzerland. 14 to 17 October 2019 p. 82

TOTH, SZ., SZALAI, M., TOEPFER, S. (2021) How do abiotic and biotic factors affect *Heterorhabditis bacteriophora* at controlling *Diabrotica v. virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae)? 2nd International Congress of Biological Control – ICBC2, Davos, Switzerland, 2021 April 26-30 (online)