

**LABORATORIJSKO PREUČEVANJE ODPORNOSTI REPIČARJA
(*Meligethes aeneus* F.) NA AKTIVNO SNOV LAMBDA-CIHALOTRIN IZ
SKUPINE SINTETIČNIH PIRETROIDOV**

Primož ŽIGON¹, Špela MODIC²

^{1,2}Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

IZVLEČEK

Repičar *Meligethes aeneus* F. (Coleoptera: Nitidulidae) je eden najpomembnejših škodljivcev oljne ogrščice (*Brassica napus* L.). Za njegovo zatiranje se v praksi najpogosteje uporabljajo insekticidi iz skupine piretroidov, kar povzroča velik selekcijski pritisk in s tem pojav odpornosti škodljivca na določene aktivne snovi. O pojavu odpornih populacij repičarja so v preteklosti že poročali iz številnih evropskih držav, kjer pridelujejo oljno ogrščico. V letu 2018 smo vzorčili hrošče na štirih lokacijah v osrednji Sloveniji. V laboratoriju smo z uporabo metode IRAC No. 011 preučevali občutljivost hroščev na aktivno snov lambda-cihalotrin iz skupine piretroidov. Glede na rezultate sklepamo na pojav odpornosti oziroma delne odpornosti pri dveh testiranih populacijah hroščev, medtem, ko pri preostalih dveh populacijah škodljivca, pojava odpornosti nismo zaznali, saj je bila smrtnost testiranih hroščev dovolj visoka.

Ključne besede: laboratorijsko testiranje, lambda-cihalotrin, *Meligethes aeneus*, odpornost, piretoridi, repičar

ABSTRACT

**LABORATORY TESTING OF POLLEN BEETLE (*Meligethes aeneus* F.)
RESISTANCE TO SYNTHETIC PYRETHROID INSECTICIDE LAMBDA-
CYHALOTHRIN**

Pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. (Coleoptera: Nitidulidae), is one of the major pest of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Pyrethroid insecticides have been widely used against this insect pest which has resulted in high selection pressure and subsequent development of resistance. So far resistant populations of pollen beetle have been confirmed in many oilseed rape growing parts of Europe. In 2018 samples of the adult pollen beetle were collected from four locations in central Slovenia. Sensitivity of beetles to pyrethroid lambda-cyhalothrin was laboratorically tested using IRAC method No. 011. The obtained results demonstrated some level of resistance by two tested populations which were classified as moderately resistant to resistant. Other two tested populations showed no occurrence of the resistance since adults of the insect were highly susceptible to tested insecticide.

Key words: lambda-cyhalothrin, laboratory test, *Meligethes aeneus*, pollen beetle, pyrethroid, resistance

¹ mag. inž. agr., Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana

² mag., prav tam

1 UVOD

Repičar (*Meligethes aeneus* F., Coleoptera, Nitidulidae) je eden najpomembnejših škodljivcev oljne ogrščice v Evropi in pri nas (Williams, 2010; Vrabl, 1992). Odrasli hrošči povzročajo poškodbe cvetnih brstov, ki jih izjedajo, da se lahko prehranjujejo s cvetnim prahom in vanje odlagajo jajčeca. Poškodovani brsti ne cvetijo in pogosto odpadejo, zato je v primeru pojava številčnejše populacije škodljivca pridelek manjši. V posameznih primerih lahko hrošči povzročijo tudi popoln izpad pridelka (Slater in sod., 2011). Gospodarski pomen škodljivca se odraža tudi v pogostosti rabe insekticidov za njegovo zatiranje, kar povečuje selekcijski pritisk in razvoj odpornosti hroščev (Thieme in sod., 2010). Za kemično zatiranje repičarjev se v praksi največkrat uporabljajo insekticidi iz skupine sintetičnih piretroidov, saj so cenovno ugodnejši v primerjavi z insekticidi z aktivnimi snovmi iz drugih skupin. Na pogostost rabe piretroidov poleg nižjih stroškov vpliva tudi zmanjšanje števila dovoljenih aktivnih snovi za zatiranje repičarja v zadnjih desetletjih, predvsem iz skupine organskih fosforjevih estrov, kar dodatno povečuje selekcijski pritisk in razvoj odpornih populacij (Thieme in sod., 2010).

386

O pojavu zmanjšane občutljivosti repičarjev na aktivne snovi iz skupine sintetičnih piretroidov so prvič poročali v Franciji (Ballanger in sod., 2003) ter kasneje v številnih drugih evropskih državah (Gotlin Čuljak in sod., 2013; Hansen, 2003; Heimbach in sod. 2006). Razvoj in širjenje odpornih populacij repičarja sta povezana predvsem z zastopanostjo oljne ogrščice in drugih gostiteljskih rastlin v kolobarju ter s tem povezano tehnologijo pridelave, vključno s pogostostjo rabe insekticidov (Heimbach in Müller, 2013; Kaiser in sod., 2018). V raziskavah večletnega spremljanja pojava odpornih populacij v Evropi so namreč ugotovili, da odporne populacije repičarjev prevladujejo v številnih državah zahodne in osrednje Evrope in so že ustaljene tudi na vseh ostalih območjih, kjer poteka pridelava oljne ogrščice v večjem obsegu (Slater in sod. 2011; Zimmer in Nauen, 2011). Tudi v Sloveniji so v okviru diplomskih del že preučevali učinkovitost insekticidov za zatiranje repičarjev in v laboratorijskih ter poljskih poskusih ugotovili določeno stopnjo zmanjšane učinkovitost piretroidov (Mavec, 2017; Vincek, 2018).

Leta 2007 je bila v okviru mednarodne organizacije IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) z namenom spremljanja pojava in širjenja odpornih populacij repičarja v Evropi ustanovljena delovna skupina, ki je razvila metodologijo za laboratorijsko testiranje odpornosti tega škodljivca na piretroide (Slater in sod. 2011). V okviru projekta CRP-V4-1601 smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije vpeljali standardizirano laboratorijsko metodo za preizkušanje učinkovitosti aktivne snovi lambda-cihalotrin iz skupin sintetičnih piretroidov za zatiranje repičarja. Z namenom preučevanja učinkovitosti izbrane aktivne snovi in pridobivanja informacij o splošnem stanju glede problematike odpornosti repičarja, smo izvedli testiranja štirih populacij repičarja z lokacij v osrednji Sloveniji in na Gorenjskem.

2 MATERIALI IN METODE

Raziskava je potekala maja leta 2018. Hrošče repičarja smo v času cvetenja oljne ogrščice nabrali na štirih različnih lokacijah na Gorenjskem in v osrednji Sloveniji: Podbrezje (46°18'46" N 14°16'34" E), Vodice (46°11'1" N 14°29'44" E), Jablje (46°9'8" N 14°34'36" E) in Grosuplje (45°57'28" N 14°37'56" E). Pred testiranjem smo imeli repičarje 24 ur v rastni komori v plastičnem insektariju pri temperaturi 20 ± 2 °C in 75 % zračni vlagi. Laboratorijsko preizkušanje odpornosti repičarja smo opravili z uporabo referenčne metode IRAC 011 Version 3, ki temelji na 24 urni izpostavitvi repičarjev v steklenih vialah, v katere predhodno apliciramo različne koncentracije aktivne snovi lambda-cihalotrin, raztopljene v acetonu (IRAC, 2009; Slater in sod., 2011). V našem poskusu smo uporabili 100 % poljskega odmerka insekticida, ki znaša 7,5 g aktivne snovi/ha in 20 % poljskega odmerka insekticida ter rezultate primerjali s kontrolo, kjer insekticida nismo uporabili. Pripravljene viale za izvedbo poskusa nam je zagotovilo podjetje Bayer CropScience (Monheim, Nemčija). V posamezno vialo smo dali približno 10 do 15 repičarjev in izbrane odmerke za vsako lokacijo preizkušali v petih ponovitvah. Viale z repičarji smo shranili pri temperaturi 20 ± 2 °C in 70 %. Smrtnost in prizadetost hroščev zaradi delovanja insekticida smo ocenjevali po 24 urah izpostavitve, v vsaki viali posebej. Med »mrtve« smo uvrstili mrtve in prizadete hrošče, to je vse, ki so se na dražljaje nenormalno odzivali (nekoordinirani gibi, nezmožnost hoje) (IRAC, 2009). Rezultate smo predstavili kot povprečno smrtnost hroščev v odstotkih (%). Glede na rezultate smo testirane populacije repičarjev razvrstili v različne kategorije občutljivosti na izbran insekticid (preglednica 1).

387

Preglednica 1: Kategorije občutljivosti hroščev za ocenjevanje odpornosti repičarja na piretroide (IRAC, 2009).

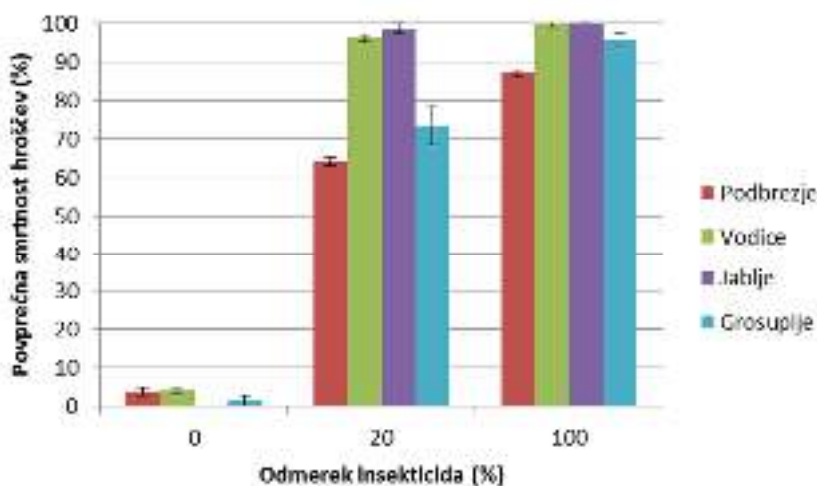
Odmerek insekticida (% standardnega odmerka)	Povprečna smrtnost (%)	Kategorija občutljivosti populacije
100 20	100 100	Zelo občutljiva
100 20	100 < 100	Občutljiva
100	< 100 do ≥ 90	Delno odporna
100	< 90 do ≥ 50	Odporna
100	< 50	Zelo odporna

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Testiranja vzorčnih populacij hroščev, ki smo jih izvedli v okviru raziskave, smo uspešno opravili, saj v kontrolnem obravnavanju smrtnost odraslih osebkov repičarjev v nobenem primeru ni preseгла 20 %, kar je predpogoj za veljavnost opravljenih testov (IRAC, 2009). Rezultati večletnih raziskav spremljanj pojava odpornih populacij repičarja v Evropi, kažejo na vse pogostejši pojav odpornih populacij na insekticide iz skupine sintetičnih piretroidov, predvsem na aktivno snov lambda-cihalotrin (Heimbach in Müller, 2013; Kaiser in sod., 2018, Slater in sod., 2011). Razvoj

odpornosti repičarjev na aktivne snovi iz skupine sintetičnih piretroidov je posledica sprememb na tarčnih mestih delovanja preko mutacij genov in prilagoditve metaboličnih procesov, ki omogočajo razgradnjo aktivne snovi in preživetje hroščev (Nauen in sod., 2012; Thieme in sod. 2010). Zimmer in Nauen (2011) sta v raziskavi, ki je vključevala 42 vzorcev iz 25 evropskih držav ugotovila, da je 70 % vzorčnih populacij delno odpornih oziroma zelo odpornih na aktivno snov lambda-cihalotrin. Delež odpornih populacij se iz leta v leto povečuje in tako so v letu 2018 pri testiranju 200 vzorcev populacij iz 14 držav Evropske unije ugotovili, da je manj kot 10 % vzorcev populacij repičarja občutljivih na isto aktivno snov (IRAC, 2018). V naši raziskavi pojava zelo odpornih populacij repičarjev nismo ugotovili. Najmanjšo smrtnost izmed preučevanih populacij repičarjev smo zabeležili pri hroščih nabranih v Podbrezju na Gorenjskem. Pri 20-odstotnem odmerku insekticida je poginilo 64 % repičarjev, pri 100-odstotnem je bila smrtnost 87-odstotna. Rezultat vzorec omenjene populacije uvršča v kategorijo odpornih populacij, vendar tik pod zgornjo mejo te kategorije. Rezultati so mejni. Pri repičarjih, nabranih v Jabljah in Vodiceh, smo ugotovili visoko toksičnost insekticida lambda-cihalotrin, saj so pri obeh odmerkih po 24 urah izpostavitve skoraj vsi hrošči poginili. Pri obeh vzorcih populacij repičarja je že 20-odstotni odmerek insekticida povzročil skoraj 100-odstotno smrtnost hroščev (Jablje 98 % in Vodice 97 %), medtem ko je bila pri največjem preučevanem odmerku dosežena 100-odstotna smrtnost.

388



Slika 1: Povprečna smrtnost odraslih osebkov repičarja (%) (\pm SN, $n=5$) z različnih lokaciji pri treh različnih odmerkih aktivne snovi lambda-cihalotrin (odmerek insekticida 0 % = kontrola).

Glede na opredeljene kategorije za ocenjevanje odpornosti hroščev, lahko vzorce populacij z obeh lokacij (Jablje in Vodice) uvrstimo med občutljive. Pri populaciji iz Grosuplje smo v primerjavi s populacijo iz Jabelj in Vodice ugotovili manjšo smrtnost

repičarjev, ki je bila pri 20-odstotnem odmerku 73-odstotna, najvišja uporabljena koncentracija insekticida pa je povzročila 96-odstotno smrtnost. Glede na rezultate, lahko vzorec populacije iz Grosuplje uvrstimo med delno odporne.

Zmanjšana učinkovitost insekticidov za zatiranje škodljivih žuželk ni zgolj posledica prilagoditve žuželk v smislu razvoja odpornosti, saj je ta lahko posledica številnih okoljskih in drugih dejavnikov, ki vplivajo na kakovost nanosa fitofarmaceutskega sredstva na rastlino ter učinkovitost delovanja aktivne snovi (Heimbach in sod. 2006; Thieme in sod. 2010). Izvedba poljskih poskusov preučevanja učinkovitosti insekticidov za zatiranje repičarja je zamudna, na rezultate lahko vplivajo številni zunanji dejavniki, zaradi katerih lahko prihaja do napačnih sklepanj. Pri ocenjevanju poljskih poskusov je pomemben čas ocenjevanja po izvedbi zatiranja, saj lahko po aplikaciji insekticida prihaja do migracije repičarjev iz okolice, ki jih nevede smatramo kot del odporne populacije (Thieme in sod. 2010). Metode laboratorijskega testiranja odpornosti lahko v primeru ugotovljene zmanjšane učinkovitosti insekticida na hiter in enostaven način pripomorejo k iskanju vzrokov za zmanjšano učinkovitost in so zato lahko ustrezno dopolnilo poljskim poskusom (Heimbach in sod., 2006). Pri interpretaciji rezultatov je potrebno upoštevati omejitvene dejavnike laboratorijskih testiranj pri katerih navadno uporabljamo laboratorijske standarde aktivnih snovi, ki imajo lahko različno učinkovitost v primerjavi s komercialnimi insekticidi, ki se uporabljajo v praksi. Zgolj na podlagi rezultatov obeh načinov preizkušanj lahko dokončno potrdimo ali ovržemo sum glede odpornosti preučevane populacije (Thieme in sod., 2010).

4 SKLEPI

Na podlagi rezultatov laboratorijskega testiranja odpornosti vzorcev štirih populacij iz osrednje Slovenije in Gorenjske lahko sklepamo, da na večini lokacij težav z zmanjšano učinkovitostjo zaradi razvoja odpornosti repičarjev na aktivno snov lambda-cihalotrin ni pričakovati. Rezultati testiranja vzorca populacije iz lokacije Grosuplje kažejo na zmanjšano učinkovitost preučevane aktivne snovi v priporočenem odmerku, vzorec populacije iz lokacije Podbrezje pa glede na rezultat testiranja lahko uvrščamo med odporne, vendar so rezultati mejni. Za dejansko potrditev pojava odpornosti te populacije bi morali število povečati število vzorcev repičarjev in testiranja izvajati več let zaporedoma ter rezultate podkrepiti z izvedbo poljskih preizkušanj učinkovitosti insekticida. Glede na rezultate podobnih raziskav iz drugih evropskih držav, je občutljivost testiranih vzorcev populacij repičarja v naši raziskavi relativno visoka. Kljub temu velja pri odločanju o uporabi insekticidov za zatiranje škodljivcev v oljni ogrščici upoštevati pravila antirezistenčne strategije o menjavanju aktivnih snovi z različnimi načini delovanja.

5 LITERATURA

Ballanger, Y., Détourné, D., Delorme, R., Xavier P. Difficulties to control pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) in France revealed by unusual high level infestations in winter rape fields. GCIRC, 11th International Rapeseed Congress, Copenhagen, July 6-10 2003, 3: 1048-1050.

- Gotlin Čuljak, T., Ančić, M., Pernar, R., Žokalj, A., Rapajić D. 2015. Rezistentnost repičina sjajnika [(*Brassicogethes aeneus* (Fabricius 1775))] na piretroide u Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite, 15, 6: 411-418.
- Hansen, L. M. 2003. Insecticide-resistant pollen beetles (*Meligethes aeneus* F.) found in Danish oilseed rape (*Brassica napus* L.) fields. Pest Management Science, 59:1057–1059.
- Heimbach, U., Müller, A., Thieme T. 2006. First steps to analyse pyrethroid resistance of different oil seed rape pests in Germany. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 58, 1: 1–5.
- Heimbach, U. in Müller, A. 2013. Incidence of pyrethroid-resistant oilseed rape pests in Germany. Pest Management Science, 69, 2: 209-16.
- IRAC. 2009. IRAC susceptibility test methods series—method no: 11. Insecticide Resistance Action Committee
<https://www.irac-online.org/methods/meligethes-aeneus-adults/>
- IRAC Coleoptera Working Group. 2019. Pollen Beetle Resistance Monitoring 2018. Insecticide Resistance Action Committee
<https://www.irac-online.org/documents/pollen-beetle-monitoring-poster-2018/?ext=pdf>
- Kaiser, C., Vagn Jensen, K. M., Nauen, R., Kristensen, M. 2018. Susceptibility of Danish pollen beetle populations against k-cyhalothrin and thiacloprid. Journal of Pest Science, 91: 447-458.
- Mavec K., Laboratorijsko preučevanje odpornosti repičarja (*Meligethes aeneus* F., Coleoptera, Nitidulidae) na piretroide. 2017. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 31 str.
- Nauen, R., Zimmer, C. T., Andrews, M., Slater, R., Bass, C., Ekbohm, B., Gustafsson, G., Monrad Hansen L., Kristensen, M., Zebitz, P. W. C., Williamson, M. S. 2012. Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. Pesticide Biochemistry and Physiology, 103: 173-180
- Slater, R., Ellis, S., Genay, J. P., Heimbach, U., Huart, G., Sarazin, M., Longhurst, C., Müller, A., Nauen, R., Rison, J. L., Robin, F. 2011. Pyrethroid resistance monitoring in European populations of pollen beetle (*Meligethes* spp.): a coordinated approach through the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). Pest Management Science, 67, 6: 633-638.
- Thieme T., Heimbach, U., Müller, A. 2010. Chemical Control of Insect Pests and Insecticide Resistance in Oilseed Rape. V: Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Williams I. H. (ed.). Dordrecht, Springer: 313-335
- Vincek, K. 2018. Ocena stopnje učinkovitosti insekticidov za zatiranje repičarja (*Meligethes aeneus* F.) in ogrščičnega kljunotaja (*Ceutorhynchus napi* G.). Diplomsko delo. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede: 34 str.
- Vrabl, S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, Kmečki glas, knjižica za pospeševanje kmetijstva: 142 str.
- Williams I. H. 2010. The Major Insect Pests of Oilseed Rape in Europe and Their Management: An Overview. V: Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Williams I. H. (ed.). Dordrecht, Springer: 1-43
- Zimmer, C. T. in Nauen, R. 2011. Pyrethroid resistance and thiacloprid baseline susceptibility of European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae) collected in winter oilseed rape. Pest Management Science, 67: 599-608