

AZADIRACHTIN AS A PRODUCT FOR CONTROL OF COLORADO BEETLES

Summary

*The investigations were carried out in laboratory conditions using a commercially available neem extract: NeemAzal-T/S and Treex Bio containing 10 g of azadirachtin A and 30 g of azadirachtin A+B, respectively. The effect of different concentrations (300 ppm and 500 ppm) of azadirachtin on the mortality, growth and number of laid eggs was tested. All stages of development of *Leptinotarsa decemlineata* were used. Mortality of treated eggs and larvae L1, L2 was very high. The highest mortality of larvae L3 was done for NeemAzal in concentration 300 ppm and Treex Bio in concentration 500 ppm, 66,6% and 56,6%, respectively. Treated larvae L4 were inhibited in their development. In case using NeemAzal – T/S at the recommended dose 45% of imago of second generation was done and 33% after application Treex Bio, only. Reproductive effect was observed when adult insects were fed with foliage treated with two products separately applied in different concentrations. The numbers of hatching eggs mass were very high reduced. These results suggest that both products could be use in protection against this pest in organic potatoes. Results should be further evaluated in field conditions.*

ZASTOSOWANIE AZADYRACHTYNY DO OGRANICZANIA SZKODLIWOŚCI STONKI ZIEMNIACZANEJ

Streszczenie

Azadyrachtyna jest substancją aktywną dopuszczoną do ochrony roślin w rolnictwie ekologicznym i stosowana w innych krajach europejskich. Istnieje bardzo silna potrzeba, aby również w Polsce została ona włączona do środków ochrony roślin dozwolonych do stosowania. Pod nazwą "neem" jest ona stosowana w ochronie jako środek owadobójczy, repelentny i antyfidantny, ma właściwości regulowania rozwoju i zdolności rozrodczych. W sumie około 400 gatunków owadów okazało się wrażliwymi na działanie tej substancji. Niniejsza praca zawiera wyniki badań laboratoryjnych dotyczących wykorzystania azadyrachtyny do ograniczania szkodliwości stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* L.). Stosowano środki zawierające azadyrachtynę w różnych dawkach, które stosowano w dwóch koncentracjach: 300 ppm i 500 ppm. Opryskom poddano stadium jaja, stadia larwalne oraz owady dorosłe. Owady testowe miały podawany pokarm w postaci liści ziemniaka opryskanych środkiem. W przypadku jaj, oprysk wykonano na liściach, na których znaleziono złoża jaj. Wyniki wskazują, że oprysk azadyrachtyną całkowicie wstrzymuje rozwój jaj, powoduje wysoką śmiertelność larw L1 i L2 oraz znacznie obniża tempo rozwoju fizjologicznego. Obserwowano stopniowy wzrost odporności na azadyrachtynę u starszych stadiów rozwojowych szkodnika, jednocześnie obserwowano słabszy wylęg chrząszczy z populacji opryskanych larw L4, które rozpoczynały okres zejścia do gleby w celu przepoczwarczenia. Stwierdzono również hamujący wpływ azadyrachtyny na aktywność pćciową owadów dorosłych i niską liczbę złożonych przez nie jaj. Skuteczność testowanych środków jest zbliżona do siebie, jednocześnie stwierdzono możliwość ich stosowania w dawce obniżonej. W kolejnym roku wykonane zostaną badania polowe. Po zarejestrowaniu w Polsce testowanych środków ochrony roślin mogą one stać się zalecanymi do ochrony upraw ziemniaka, szczególnie w systemie ekologicznym.

Wprowadzenie i cel

Rolnictwo ekologiczne jest technologią produkcji rolniczej, w której nie stosuje się środków produkcji uzyskiwanych metodą przemysłowej syntezy chemicznej. Taki system produkcji rolniczej nie stanowi zagrożenia dla środowiska, a otrzymane produkty znajdują wielu nabywców. Wprowadzenie upraw zgodnie z zaleceniami rolnictwa ekologicznego wymaga jednak, szczególnie w zakresie ochrony roślin, opracowania szczegółowych zaleceń. Obecnie w kraju nie ma środka zwalczającego stonkę ziemniaczaną, będącego jednocześnie zakwalifikowanym dla potrzeb rolnictwa ekologicznego. Jedyny środek biologiczny, oparty na kryształach bakterii *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* o nazwie handlowej Novodor, stracił ważność rejestracji w kraju kilka lat temu. Brak możliwości ochrony upraw ziemniaka ekologicznego w Polsce skutkuje drastycznie zmniejszającą się powierzchnią upraw tego ziemiopłodu.

Azadyrachtyna jest substancją aktywną dopuszczoną do ochrony w rolnictwie ekologicznym i stosowana w wielu krajach europejskich. Jest ona stosowana w ochronie roślin głównie jako środek antyfidantny, ale wykazuje również właściwości repelentne, owadobójcze i hamowania rozwoju oraz ograniczania zdolności rozrodczych owadów. W sumie około 400 gatunków owadów jest wrażliwych na działanie tej substancji [2, 3, 4, 5]. Azadyrachtyna ekstrahowana z miodli indyjskiej, jest stosowana w formie oleju lub ekstraktu (1%, 3%, 4%) przeznaczonego do rozcieńczania w wodzie oraz w formie granułu.

Celem omawianych badań była 1) ocena wpływu różnych form i koncentracji azadyrachtyny na śmiertelność, rozwój fizjologiczny larw i aktywność życiową imago stonki ziemniaczanej (zdolność do składania jaj), 2) porównanie skuteczności polskiego preparatu zawierającego azadyrachtynę ze środkiem dostępnym w handlu zagranicznym, 3) ocena możliwości stosowania testowanych preparatów w dawce niższej od zalecanej.

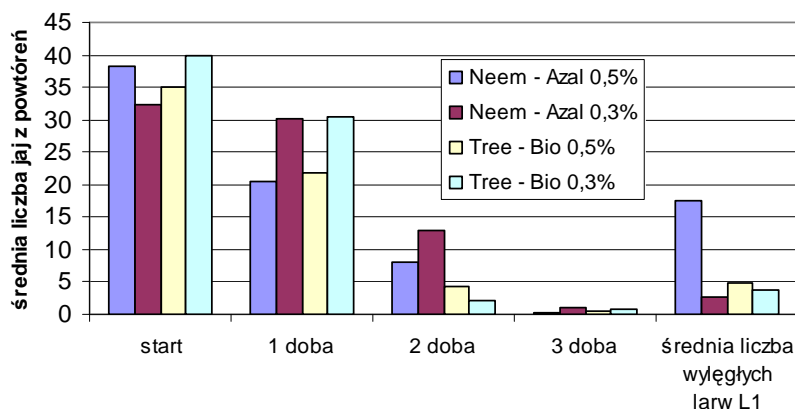
Materiał i metody

Badania wykonano w warunkach laboratoryjnych z zastosowaniem płytek Petriego oraz izolatorów. Ocenie poddano wszystkie stadia rozwojowe stonki ziemniaczanej. Azadirachtynę stosowano w postaci dwóch różnych preparatów. Jeden z nich o nazwie handlowej NeemAzal –T/S (udostępniony przez firmę Trifolio –M), drugi polski preparat o nazwie handlowej Treex Bio, będący w trakcie badań został dostarczony przez firmę Pestinova. Oba preparaty różnią się między sobą. Preparat Neem Azal – T/S zawiera 1% (10 g/l) azadirachtyny A, natomiast w składzie preparatu Treex Bio znajduje się 3% (30 g/l) azadirachtyny w formach A+B. Dawką zalecaną przez producentów do zwalczania stonki w uprawach rolniczych jest 2,5 litra środka rozcieńczonego w 500 l wody/ha, co pozwala uzyskać roztwór o koncentracji 0,5% (500 ppm). W badaniach laboratoryjnych stosowano również koncentracje obniżoną 0,3% (300 ppm) – 1,5 litra środka/500 l wody/ha. Ocenie podlegała śmiertelność traktowanych owadów, ich rozwój fizjologiczny oraz aktywność życiowa chrząszczy (liczba złożonych przez samice jaj). W przypadku tego ostatniego testu wykorzystano izolatory, gdzie umieszczono nać ziemniaczaną opryskaną badanymi środkami oraz po 5 par owadów. Obserwacje prowadzono przez 10 dni. Testy dla jaj i młodszych stadiów larwalnych L1/L2 trwały krócej z uwagi na wysoką skuteczność stosowanych środków. Badania wykonano w 10 powtórzeniach, po 5 owadów w każdym. Opryskom poddawano owady oraz ich pokarm. Dane opracowa-

no analizą ANOVA po ich przekształceniu logarytmicznym Freemana-Tukey'a. Średnie wyniki porównano na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

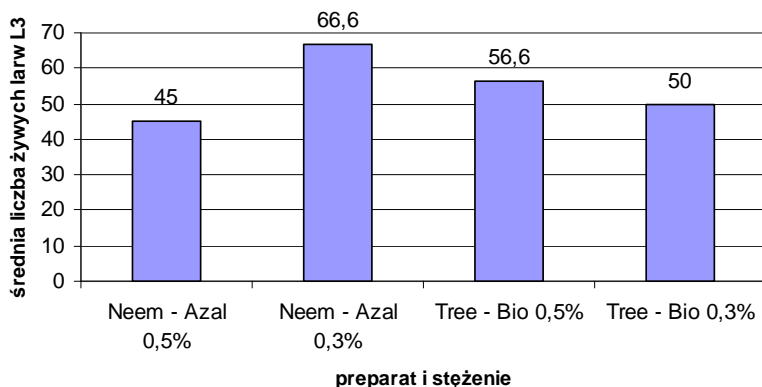
Zestawienie wyników przedstawiono na rysunku 1,2,3 poniżej. Żywotność wszystkich stadiów rozwojowych szkodnika w trzech powtórzeniach kontroli notowano w przedziale od 85% (w odniesieniu do stadium L4) do 100% (stadium jaja, L1, L2, L3). Stadium jaja oraz stadium larwy L1/L2 jest bardzo wrażliwe na działanie azadirachtyny. Jest to sytuacja analogiczna jak dla metody biologicznej, gdzie stosowanie toksyny bakteryjnej jest zalecane w fazie tzw. czarnej główki, a najpóźniej w stadium larwy L2 [1]. W niniejszych badaniach obserwowano bardzo wysoką skuteczność owadobójczą w stosunku do jaj, młodszych stadiów larwalnych oraz zatrzymanie rozwoju fizjologicznego. Podobne tendencje opisali inni badacze stosujący ten sam preparat [3]. Po upływie 3 doby od oprysku złożów obserwowano jedynie pojedyncze zdrowe jaja. W trakcie obserwacji notowano również liczbę wylęgłych larw pierwszego pokolenia. Jak ilustrują wyniki wykresu 1, największą liczbę wylęgłych larw obserwowano w przypadku stosowania preparatu Neem – AzalT/M, ale należy zaznaczyć, że po upływie następnej doby były one już martwe. Dla pozostałych środków i koncentracji obserwowano zbliżoną, niewielką liczbę wylęgłych larw L1.



Rys. 1. Wpływ azadirachtyny na rozwój jaj stonki ziemniaczanej

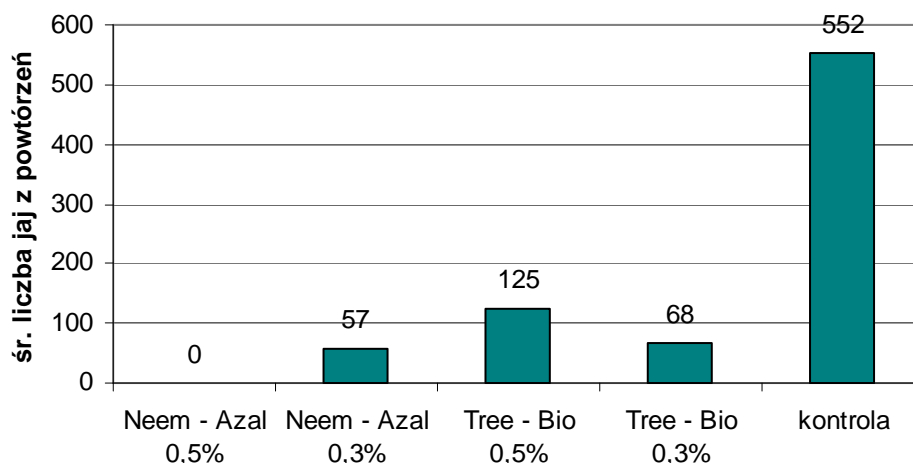
Fig. 1. Influence of azadirachtin on hatching eggs of *Leptinotarsa decemlineata*

Poniżej przedstawiono średni procent żywotności larw L3 po oprysku dwoma preparatami w dwóch koncentracjach.



Rys. 2. Wpływ azadirachtyny na żywotność larw L3

Fig. 2. Influence of azadirachtin on surviving of larvae L3



Rys. 3. Wpływ azadirachtyny na liczbę złożonych jaj przez chrząszcze karmione traktownym pokarmem
 Fig. 3. Influence of azadirachtin on number of laid eggs by imagoes feed with treated leaves.

Tab. 1. Wartości P uzyskane dla kombinacji testów opracowanych analizą wariancji
 Table 1. Values of statistical P level for different tests combinations developed by ANOVA

Stadium larwy L3				
Preparat	P= 0,81 brak różnic			
koncentracja	P= 0,45 brak różnic			
Preparat/koncentracja	P= 0,15 brak interakcji			
Stadium larwy L4				
Preparat	P= 0,053 brak różnic			
koncentracja	P= 0,08 brak różnic			
Preparat/koncentracja	P= 0,90 brak interakcji			
Stadium larwy L1/L2				
	2 doba	3 doba	5 doba	8 doba
Preparat	P= 0,57	P= 0,74	P= 0,03 *	P= 0,89
koncentracja	P= 0,46	P= 0,21	P= 0,75	P= 0,28
Preparat/koncentracja	P= 0,48	P= 0,50	P= 0,58	P= 0,08

* są różnice/significantly different

Średnia żywotność traktowanych larw L3 wahała się w przedziale od 45 do 66%, co pozwala wnioskować, że testowane preparaty pozwalają zredukować populację szkodnika o około 50%. Ten wynik można uznać za zadowalający dla praktyki.

W przypadku larwy starszej (L4), która po oprysku zeszła na przepoczwarzanie obserwowano znaczne obniżenie liczby wylęgłych owadów drugiego pokolenia, średnio dla NeemAzal i Treex Bio odpowiednio 45% i 33% wyjściowej populacji larw L4 (wyniki nie obrazowane wykresem).

Na wykresie (rys. 3) przedstawiono wpływ preparatów na aktywność życiową, której wykładnikiem w niniejszym artykule jest średnia liczba złożonych jaj przez stonkę karmioną traktowanym pokarmem. Uzyskane różnice pozwalają wnioskować, że azadirachtyna, bez względu na jej formę (A lub B) i koncentrację, bardzo silnie ogranicza zdolność szkodnika do reprodukcji, co jest bardzo ważne z uwagi na liczebność drugiego pokolenia szkodnika, bardziej żarłocznego niż pokolenie pierwsze.

Analiza statystyczna prócz jednego przypadku, nie wykazała istotnych różnic w skuteczności środków w zależności od zawartości i koncentracji substancji aktywnej oraz jej wpływu na poszczególne stadia rozwojowe szkodnika. Skuteczność obu środków jest porównywalna. Z danych zawar-

tych w tab. 1 wynika, że nie uzyskano istotnych różnic w wynikach różnych kombinacji testów, z jednym wyjątkiem – dopiero po upływie 5. doby obserwowano różnice w skuteczności działania obu zastosowanych środków w stosunku do młodszych larw stonki. Porównując średnie liczby obserwowanych zdrowych larw L1/L2 (0,37 i 1,63 dla Neem - Azal i Treex Bio, odpowiednio) stwierdzono, że w piątej dobie po oprysku występuje istotnie większa liczba zdrowych larw, co może świadczyć o istotnie statystycznie wolniejszym tempie działania polskiego preparatu (Treex Bio).

Wnioski

Oprysk testowanymi środkami całkowicie wstrzymuje rozwój jaj i powoduje bardzo wysoką śmiertelność wśród larw L1 i L2 (rzędu 90-100%). Preparat polski wykazuje wolniejsze tempo działania, ale nie notowano istotnych różnic w śmiertelności traktowanych owadów. W przypadku larw starszych (L3 i L4) obserwowano znacznie opóźniony rozwój fizjologiczny. W praktyce oprysk azadirachtyną starszych larw stonki nie spowoduje natychmiastowego obniżenia liczebności szkodnika. Należy stosować tą substancję głównie jako wstrzymującą rozwój fizjologiczny, a nie jako insektycyd.

1. Najwyższą śmiertelność wśród larw L3 (66,6%) uzyskano po oprysku środkiem NeemAzal o koncentracji 300 ppm, a w przypadku środka Treex Bio obserwowano 56,6% śmiertelności po jego zastosowaniu w koncentracji 500 ppm.
2. Obserwowano hamujący wpływ azadirachtyny na aktywność życiową owadów dorosłych i stwierdzono niską liczbę złożonych przez nie jaj.
3. Azadirachtyna jest substancją, która po zarejestrowaniu w kraju może być z powodzeniem wykorzystywana w ochronie ekologicznych upraw ziemniaków przed żarłocznością larw. Ponadto istnieje możliwość zastosowania testowanych środków w dawce obniżonej

Literatura

- [1] Lipa J.J. Stosowanie biopreparatów opartych na *Bacillus thuringiensis* w ochronie warzyw kapustnych. Instrukcja wdrożeniowa Instytut Ochrony Roślin ss.11 1976
- [2] Szczepanik M., Grabarczyk M., Olejniczak T., Paruch E., Wawrzeńczyk Cz., Szczepanik E. Effect of terpenoid lactones and azadirachtin on food consumption and growth rate of Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata* Say. Journal of Plant Protection Research, vol. 40, No.3/4 193-197, 2000
- [3] Pavela R. Holy K. Effects of azadirachtin on larvae of *Lymantria dispar*, *Spodoptera littoralis* and *Mamestra brassicae*. Scientific works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Horticulture and Vegetable Growing, 22(3): 434-441, 2003
- [4] Weathersbee A.A., Tan Q Y.Q. Effect of neem seed extract on feeding, growth, survival, and reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). J. Econ. Entomol. 95(4):661-667, 2002
- [5] Surviliene H., Raudonis L. Effect of neemazal-T/S on pests under greenhouse conditions. Scientific works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Horticulture and Vegetable Growing, 22(3): 367-376, 2003.