

# **Slutrapport för projekt H0733483**

## **Feromonbaserat prognosystem för skidgallmygga i oljeväxter - fortsättningsstudie**

### **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 (Gustafsson et al. 2000). Upprepade behandlingar blir dyra och har dessutom 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 samt 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 (Gunilla Berg, pers medd).

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 gallmyggearter (Bengtsson och Hillbur 2001, Hillbur 2005, Hillbur et al. 1999, 2000, 2001, 2005a, Biddle och Hillbur 2000, 2002a, b, Pillon och Hillbur 2001, Andersson et al. 2009). Systemen är patenterade (bl a Hillbur et al. 2005b och Hillbur och Andersson 2008) och säljs via det SLU-baserade företaget PheroNet AB. Totalt säljs tusentals fällor och beten årligen för prognos av ärtgallmyggan, kålgallmyggan och kornigallmyggan.

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 fortsätta den undersökning av skidgallmyggans feromon som inletts 2007 (SLF projektnummer H0633192) med syfte att på längre sikt utveckla ett prognosystem för skidgallmygga i höst- och våroljeväxter. Ett huvudsyfte med projektet var att med hjälp av

elektrofysiologiska och kemiska analysmetoder identifiera skidgallmyggans feromonsubstanser.

## **MATERIAL OCH METODER**

### *Uppsamling av sexualferomonet*

För uppsamling av sexualferomonet dissekerades ägglägningsröret, 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 ägglägningsröret 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 extraktionsmetod – 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 lokaliserats genom en kombination av gaskromatografi och elektrofysiologiska analysmetoder, GC-EAD. Extrakt förvarades i förseglade ampuller i frysdug vid -18 °C i väntan på vidare analyser.

Vidare samlades doft från levande lockande honor. Cirka 45 honor placerades i en gastvätt-flaska. Inflödet till flaskan kopplades till en pump. För att rena och fukta luften (för att förhindra uttorkning av honorna) placerades mellan pumpen och behållaren med honor ytterligare två gastvätt-flaskor, en innehållande aktivt kol och en innehållande destillerat vatten. Efter behållaren med honor leddes luften över ett filter fyllt med en adsorbent (Super Q) och sedan vidare till en flödesmätare. Flödet genom systemet reglerades till ca 0,5 ml/min. Doft från honorna samlades på filtret under 4 timmar under den period då de lockade, dvs avgav feromon. Därefter eluerades filtret med lösningsmedel (omdestillerad hexan). Det resulterande extraktet förvarades på samma sätt som övriga extrakt.

### *Beteendeförsök*

För att avgöra om extrakten var attraktiva 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.

### *Insektsmaterial*

För att få tillgång till insekter att arbeta med i laboratoriet (extraktion och beteendeförsök), utöver det material som fanns i diapaus i kylförråd sedan insamlingarna föregående säsong, samlades under våren jord in från oplöjda fält som hade haft angrepp av skidgallmygga föregående år. 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. 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 förpupas och de vuxna insekterna kläckas fram.

Under sommaren samlades också angripna skidor in från höstraps, vårrybs och vårraps. De insamlade skidorna lades sedan på ett nät i likadana burar som användes under jordinsamlingen. Under nätet fanns ett substrat bestående av lika delar planteringsjord och sand i vilket larverna kunde krypa ner och förpupas eller forma kokonger för övervintring.

Burarna sattes i en klimatkammare med samma dagslängd, temperatur och luftfuktighet som ovan.

## RESULTAT OCH DISKUSSION

Beteendetesterna i Y-röret visade entydigt att båda typerna av honextrakt samt doftuppsamlingen från lockande honor var biologiskt aktiva. Vi lyckades också genomföra ett antal GC-EAD analyser som indikerade att feromonet troligen består av en eller möjligen två, komponenter. GC-MS-analyser av extrakten gjordes för att försöka fastställa den kemiska strukturen hos de antennaktiva ämnena genomfördes både i vårt eget laboratorium och av professor David Hall vid NRI i England. Professor Hall har nyligen identifierat feromoner från andra arter inom *Dasineura*-släktet och har därför tillgång till ett stort antal referenssubstanser som skulle kunna vara till hjälp vid identifieringen. Dock visade det sig att trots att extrakt och doftuppsamling gjordes från ett stort antal honor innehöll de inte tillräckligt stora mängder av de aktiva substanserna för att möjliggöra kemisk identifiering. Beteendeförsök i fält och laboratorium med syntetiska kopior av feromonet kunde alltså inte genomföras.

Sammanfattningsvis har projektet bidragit till att ta fram effektiva metoder för insamling av insektsmaterial och till att etablera extraktions- och uppsamlingsmetoder för att erhålla biologiskt aktivt feromonextrakt från honor av skidgallmygga. Detta öppnar för en framtida kemisk identifiering av skidgallmyggans sexualferomon och utveckling av en feromonbaserad prognos och monitorering. Projektet har under två år drivits på årlig säsongsbasis (ett fåtal månader per år), men har visat sig vara en utmaning som kräver större omfattning och kontinuitet.

## REFERENSER

Andersson MN, Haftmann J, Stuart JJ, Cambron SE, Harris MO, Foster SP, Franke S, Franke W, Hillbur Y. 2009. Identification of sex pheromone components of the Hessian fly, *Mayetiola destructor*. *J Chem Ecol* 1: 81-95

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, 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. 2005. Pheromones and method of preventing infestation of *Contarinia nasturtii*. (WO/2005/077174). Patent

Hillbur Y, Andersson MN. 2008. Gall midge pheromone mixture. (WO/2008/063119). Patent