



Miljøministeriet
Miljøstyrelsen

Snyltehvepse i raps

Bekæmpelsesmiddel-
forskning nr. 200

Maj 2021

Udgiver: Miljøstyrelsen

Forfattere:

Vibeke Langer, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet

Ole Søgaard Lund, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet

Fotos:

Vibeke Langer,

Anna Wildt,

Katrine Bak

ISBN: 978-87-7038-307-3

Miljøstyrelsen offentliggør rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, som er finansieret af Miljøstyrelsen. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse

Indhold

1.	Forord	4
2.	Sammendrag og konklusion	5
3.	Summary and conclusion	7
4.	Baggrund og formål	9
5.	Forekomst af snyltehvepse	11
5.1	Snyltehvepse: arter, biologi og effekt	11
5.2	Metoder	14
5.2.1	Lokaliteter	14
5.2.2	Indsamling af voksne snyltehvepse (A)	15
5.2.3	Parasiteringsgrad i rapsjordloppelarver (B)	18
5.3	Resultater	18
5.3.1	Forekomst af voksne snyltehvepse i rapsmarker (A)	18
5.3.2	Parasitering af rapsjordlopper (B)	19
5.4	Diskussion og perspektiver	19
6.	DNA baseret identifikation	21
6.1	Baggrund	21
6.2	Metoder	21
6.3	Resultater	22
6.4	Diskussion og perspektiver	22
7.	Litteratur	24

1. Forord

Nærværende etårige pilotprojekt (J.nr.667-0273) er gennemført af Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet under Miljøstyrelsens Program for Bekæmpelsesmiddel-forskning 2017-2020.

Ud over projektdeltagerne har en række personer bidraget til projektets gennemførelse. Landskonsulent Ghita Cordsen Nielsen, SEGES, har fungeret som sparringspartner vedrørende skadedyrenes betydning og det fremtidige potentiale for at udnytte projektets resultater. PhD Josef Berger, Lund Universitet, har i flere omgange og med stor entusiasme stillet sin ekspertise vedrørende identifikation af snyltehvepse i raps til rådighed. Katrine Bak og Anna Wildt, begge agronomstuderende, har med deres bachelorprojekt udvidet projektet med undersøgelser af snyltehvepse på rapsjordlopper.

Endelig skal de 7 landmænd, der har stillet marker til rådighed for undersøgelserne, have tak.

2. Sammendrag og konklusion

Vinterraps tegnede sig i 2017 for 8% af omdriftsarealet i Danmark; men for en langt større andel af den samlede belastning med insekticider. Raps angribes gennem hele vækstsæsonen af en række specialiserede skadedyr, hvis betydning for udbyttet varierer med år, lokalitet og afgrødens evne til at kompensere for skaderne. De vigtigste skadedyr er rapsjordloppen, glimmerbøssen, skulpesnudebillen og skulpegalmuggen. Hos flere af disse skadedyr er der dokumenteret resistens overfor insektmidler, og det vurderes at mindst 2/3 af rapsarealet i Europa nu er berørt af resistensen. Der er derfor et påtrængende behov for, sideløbende med udvikling af monitoring, varsling og bedre sprøjteteknik, at udvikle alternativer til den kemiske bekæmpelse. Alle rapsens betydende skadedyr angribes af snyltehvepse, som indvandrer i rapsmarken i løbet af vækstsæsonen. Undersøgelser i vore nabolande tyder på, at disse snyltehvepse har potentiale til at reducere rapsskadedyrenes antal, men der er behov for viden om deres forekomst under danske forhold, hvis deres forekomst på længere sigt skal indgå i landmændenes bekæmpelsesbeslutninger.

Det gennemførte pilotprojekt bestod af to dele: Forekomsten af voksne snyltehvepse blev undersøgt i april-juni 2018 i to marker på to lokaliteter (Taastrup og Lejre), og parasiteringsgraden af rapsjordloppelarver blev undersøgt i 6 marker på Sjælland i april-maj 2018.

Voksne snyltehvepse blev i foråret 2018 indsamlet i to marker med vinterraps i henholdsvis Taastrup og Lejre. Samtidig blev voksne snyltehvepse indsamlet i klækkefælder ved klækning efter overvintring i jorden i en nærtliggende mark, der var dyrket med vinterraps i 2017 ("sidste års rapsmark"). I "dette års rapsmark" (raps i 2018) blev snyltehvepsene indsamlet med vandfælder, planteprøver eller insektnet. Resultaterne indikerer, at de vigtigste snyltehvepse knyttet til de mest betydende skadedyr forekommer i rapsmarkerne fra vækstsæsonens start og frem til høst. En rapsmark vil i samme periode typisk blive behandlet med insekticid 1-3 gange, afhængig af skadedyrsforekomst, landmandens brug af skadetærskler, markens historik, landmandens risikovillighed etc. Tidlige sprøjtninger rettet mod glimmerbøsser og bladribbesnudebiller vil påvirke især rapsjordloppens snyltehveps (*Tersilochus microgaster*) negativt, og første skridt vil være at inddrage denne viden i rådgivningen om brug af skadetærskler for disse to skadedyr. Projektets anden del bekræfter, at DNA-baseret identifikation kan understøtte morfologisk identifikation, selvom metoder og databaser stadig er under udvikling.

Parasiteringsgraden i rapsjordloppelarver blev undersøgt i 3 økologiske og 3 konventionelle marker på Sjælland. Sidst i april og først i maj 2018 blev hhv. 90 og 60 planter pr mark indsamlet og dissekeret, og de fundne rapsjordloppelarver blev undersøgt for parasitering af snyltehvepse. De tre konventionelle marker var alle behandlet med et pyrethroid mod rapsjordlopper i efteråret 2017, og i to af de tre marker blev ikke fundet rapsjordloppelarver. Antallet af rapsjordloppelarver i de angrebne 4 marker var i gennemsnit 0,6 – 11,5 larver/plante, med den laveste værdi i den konventionelle mark. Heraf var mellem 30% og 61% af larverne parasiteret af snyltehvepse.

Projektets resultater viser:

- At 7 ud af 12 snyltehvepsearter, der karakteriseres som vigtige på europæisk plan, er fundet på de to lokaliteter
- At den tidligste snyltehvepseart, som parasiterer rapsjordloppen, klækker allerede ved vækstperiodens start fra sidste års rapsmark og indvandrer straks til de nye rapsmarker
- At forskellige arter snyltehvepse er til stede i rapsmarken i hele vækstperioden frem til høst
- At tidspunkt for klækning og indflyvning af de første snyltehvepse ser ud til at kunne forudsiges med nogen sikkerhed på grundlag af vejrdata
- At hovedparten af de fundne snyltehvepsearter først reducerer antallet af værtsskadedyret det følgende år
- At betydelige parasiteringsgrader findes i Danmark. For rapsjordloppen, som anses for det vigtigste skadedyr i raps, var op til 60% af jordloppelarverne parasiteret i økologiske marker. Der kan ikke på basis af projektets begrænsede data siges noget om parasiteringens omfang i

konventionelle marker. Derudover betyder jordloppelarvernes evne til at indkapsle snyltehvepsens æg, at effekten af parasitering på populationen er svær at forudsige.

- At DNA-baseret artsidentifikation kan supplere og komplementere morfologisk identifikation
- At DNA-baseret artsidentifikation har en række udfordringer i form af fx manglende sekvenser for en række arter

Pilotprojektets resultater kan anvendes i rådgivningen på kort sigt:

1) ved at påvirke konventionelle landmænds beslutninger omkring insekticidbehandlinger i foråret, rettet mod glimmerbøsser og bladribbesnudebiller, som potentielt rammer både rapsjordloppens, glimmerbøssens og de andre rapsskadedyrs snyltehvepse.

2) ved at synliggøre, at man som både økologisk og konventionel rapsavler kan forvalte "sin snyltehvepsebestand" ligesom man forvalter bedriftens vildtbestand som jæger. Et sådant perspektiv vil betyde, at landmanden ikke sammenligner snyltehvepsenes effekt på skadedyrsangreb med et bekæmpelsesmiddel, men kan lade beskyttelse af snyltehvepsene indgå i en mere langsigtet strategi. Sådanne strategier forudsætter dog øget viden om de faktorer i arealanvendelse og markdrift, der påvirker snyltehvepsene.

3. Summary and conclusion

Oilseed rape (OSR) is a main crop in Denmark covering 8% of the agricultural area and contributing with a greater proportion of the total insecticide load in 2017 based on spraying journals from >90% of farmers. Insecticides are used in oilseed rape to control a broad range of insect pests causing considerable but variable crop losses, depending on modifying factors such as crop compensation, timing and pollination. The pests attack over a long time period, beginning in the fall at crop establishment and continuing through spring and flowering. In this project we focused on the 4 most important pests, Cabbage stem flea beetle, the Pollen beetle, the Cabbage seed weevil and the Brassica pod midge. OSR pest species resistance to available insecticides has been widely documented in Europe and there is a need to develop alternatives to chemical control. Data from other European countries show that all of the important pest species in oilseed rape are attacked by parasitoids. This means that the level of parasitism often exceeds the threshold of 30% below which biological control is rarely successful.

The pilot project was carried out in spring 2018 and consisted of two parts: the occurrence of adult parasitoids was investigated in two localities (Taastrup and Lejre, Denmark), and parasitism in cabbage stem flea beetle larvae was studied in six fields in Zealand.

In spring 2018 adult parasitoids were collected in fields grown with winter oilseed rape in 2017 and 2018, respectively. In 2017-OSR fields parasitoids hatching from overwintering were collected in emergence traps. In 2018-OSR fields adult parasitoids were collected with a range of methods: water traps, sweep net and plant samples. The results indicate that the parasitoids parasitizing the most important pests are present in OSR fields from the start of the growing season until harvest. Typically, an OSR field will be treated 1 to 3 times with insecticides during this period, and it is likely that these treatments reduce parasitoid populations, leading to reduced natural pest control. DNA based identification was found to complement morphological identification.

In addition, occurrence of and parasitism in CFB larvae was assessed in 4 fields (3 organic and 1 conventional) attacked by CFB. Plants were collected and dissected, and the collected larvae were visually examined for parasitoid eggs of *Tersilochus microgaster*, the main parasitoid of CFB. Mean density of CFB larvae ranged from 0,6 larvae/plant to 11,5 larvae/plant in the 4 fields. Of these between 30% and 61% were parasitized, containing one or more parasitoid eggs. The visual assessment only counts encapsulated eggs of *T. microgaster* because these are visible. As little is known about how many encapsulated eggs complete development into adult parasitoids, the proportion of parasitized larvae counted with this method cannot be directly translated into population effects.

The results show:

- that 7 of the parasitoids species characterized as important in Europe are found in DK
- that adult parasitoids hatch and immigrate into OSR fields very early, at the start of the growing season
- that parasitoids are present in OSR during the entire growing season
- that most of the parasitoid species found are koinobiont, meaning that their effect on the pest population is seen only the following year
- that the impact of parasitoids on CFB populations may be influenced by host encapsulation of parasitoid eggs
- that DNA based identification can assist morphological identification

The results can be used in two ways by advisors:

- assisting farmer decisions on spring insecticide use in OSR
- to make visible that as OSR producer you may see your parasitoids as a local farm resource, similar to the wildlife on your farm, and manage them accordingly. This will require a further understanding of the landscape and management factors influencing parasitoid populations.

4. Baggrund og formål

Vinterraps tegnede sig i 2017 for 8% af det dyrkede areal i Danmark og for godt 30% af den samlede belastning med insekticider, baseret på opgørelser af sprøjtejournaler fra 96% af landmændene (Miljøstyrelsen, 2019). Raps angribes gennem hele vækstsæsonen af en række specialiserede skadedyr, hvis betydning for udbyttet varierer med år, lokalitet og afgrødens evne til at kompensere for skaderne. De fem vigtigste skadedyr er rapsjordloppen, glimmerbøssen, skulpesnudebillen, skulpegalmyggen og bladribbesnudebillen, som angriber rapsen over en lang periode fra afgrødens etablering i efteråret gennem forårets vækst, blomstring og frøsætning. Selvom skadedyrene varierer i både absolut og relativ betydning mellem år og mellem landsdele, er der bred enighed om deres relative betydning (Tabel 1, Cordsen Nielsen, pers. medd.). For disse 5 vigtige skadedyr træffer landmanden beslutning om kemisk bekæmpelse på grundlag af forskellige former for beslutningsstøtte: bekæmpelsestærsker kombineret med egen monitoring (glimmerbøsse, rapsjordloppe, bladribbesnudebille), central monitoring i Registreringsnettet (en offentligt tilgængelig, landsdækkende, konsulentudført monitoring af rapsjordloppe og bladribbesnudebille) samt vejrbaseret prognose for flyvetidspunkt af skadedyret (skulpegalmyg). Der foreligger ikke detaljeret dokumentation for, hvordan landmændene i praksis træffer beslutninger om og udfører skadedyrsbekæmpelsen i raps, men 2-3 insekticidbehandlinger (1 i efteråret mod rapsjordlopper og 1-2 om foråret) er normalt.

TABEL 1. De vigtigste skadedyr i vinterraps. For insekticidresistens angiver "(+)" få og "-" ingen dokumenterede tilfælde af resistens.

Skadedyr	Betydning i DK ¹⁾ 1 = størst	Insekticidresistens i Europa/ Danmark ²⁾³⁾	Landmænds adgang til beslutningsstøtte
Rapsjordloppe <i>Psylloides chrysocephala</i>	1	+/(+)	Registreringsnet Bekæmpelsestærskel
Glimmerbøsse <i>Meligethes aeneus</i>	2	+ / +	Bekæmpelsestærskel
Skulpesnudebille <i>Ceutorynchus obstrictus</i>	2	+/-	Bekæmpelsestærskel
Skulpegalmyg <i>Dasineura brassicae</i>	3	-	Temperaturbaseret prognose for flyvning
Bladribbesnudebille <i>Ceutorynchus pallidactylus</i>	3	-	Registreringsnet Bekæmpelsestærskel

¹⁾ Cordsen Nielsen, pers comm ²⁾ Højland *et al.* 2015 ³⁾ Heimbach & Brandes 2016

I flere af rapsskadedyrene er der dokumenteret resistens overfor de insektmidler, der er til rådighed for landmændene, og det vurderes at 2/3 af rapsarealet i Europa nu er berørt af resistens overfor insektmidler (EIP-AGRI, 2016). Situationen i eksempelvis Tyskland er forværret indenfor de seneste årtier, så der nu ikke kan findes glimmerbøsse populationer, der er følsomme overfor pyrethroider, og i rapsjordloppen og skulpesnudebillen er der ligeledes konstateret udbredt resistens (Heimbach & Brandes, 2016). I Danmark har vi hidtil kun set resistens i glimmerbøsser overfor pyrethroider mens resistens i de andre rapsskadedyr stadig synes at være sjældent (Kaiser *et al.*, 2018). Mulighederne for at forebygge fremtidig resistensudvikling ved at skifte mellem insekticider med forskellige virkningsmekanismer begrænses af et snævert udbud af alternative insekticider.

Der er derfor et påtrængende behov for, at det sideløbende med udvikling af monitorering, varsling og bedre sprøjteteknik også undersøges, hvorvidt brug af naturligt forekommende fjender af skadedyrene kan udnyttes. Alle de betydende rapsskadedyr angribes af én eller flere arter snyltehvepse, der ligesom skadedyrene indvandrer i rapsmarken i løbet af vækstsæsonen. Snyltehvepsenes effekt på de fem skadedyr, målt ved parasiteringsgrad, er veldokumenteret i andre europæiske lande og ligger i usprøjtede marker ofte over det niveau på ca. 30%, der antages at være begrænsende for skadedyrene (Hawkins & Cornell, 1994). Første skridt for at udnytte den naturlige skadedyrskontrol er at vide, om og hvornår snyltehvepsene er til stede i vinterrapsmarker, således at man ved tilpasning af sprøjtetidspunkt kan skåne snyltehvepsene mest muligt. I en årrække har rådgivningen tilrådt at undgå sprøjtning efter blomstringens start, men mere detaljeret dokumentation om forekomsten af snyltehvepse i danske rapsmarker har været sparsom, bl.a. fordi artsbestemmelse af voksne snyltehvepse ved brug af klassiske morfologiske metoder er krævende.

I dette etårige projekt har det derfor været formålet

1. At undersøge, om og hvornår snyltehvepse på de vigtigste rapsskadedyr er til stede i vinterrapsmarker.
2. At undersøge om og hvordan eksisterende DNA baserede metoder kan reducere usikkerheden og tidsforbruget ved bestemmelse af snyltehvepse.

Desuden afrapporteres et selvstændigt bachelorprojekt (Bak & Wildt, 2018), der havde til formål at undersøge parasiteringsgraden på rapsjordlopper.

5. Forekomst af snyltehvepse

5.1 Snyltehvepse: arter, biologi og effekt

Forekomst og biologi af snyltehvepse knyttet til skadedyr i raps er velbelyst på europæisk niveau (Alford, 2003; Williams, 2010). Fra vores nabolande Sverige og Tyskland foreligger detaljerede undersøgelser af arternes forekomst og betydning, og i en nylig opsamling af eksisterende viden om snyltehvepse i raps angives 12 arter snyltehvepse at være tilstrækkelig udbredte og talrige til at have potentiale som at have en populationsregulerende effekt på skadedyrene (Ulber, 2017). Af disse 12 arter snyltehvepse forventes kun de 10 at være af betydning i Danmark, idet arten *Tersilochus fulvipes* parasiterer rapsstængelsnudebilen, *Ceutorhyncus napi*, som ikke er et skadedyr i Danmark, og glimmerbøssesnyltehvepsen *Diospilus capito* fortrinsvis findes i vårrapsmarker (Berger, 2019). Af disse 10 arter er de 7 med sikkerhed fundet i nærværende projekt (mærket med * i tabel 2). Deres biologi gennemgås nedenfor med fokus på de biologiske træk, der er relevante for artens potentielle rolle i reduktion af skadedyrspopulationer og som kan indgå i landmænds "forvaltning" af snyltehvepsene.

TABEL 2. Biologiske karakteristika for de 10 vigtigste arter af snyltehvepse i raps. Alle snyltehvepsearter angriber værten i larvestadiet. *Platygaster* sp. kan derudover angribe i ægstadiet.

Skadedyr	Snyltehveps	Antal generationer pr år	Endo/Ekto-parasit	Hvornår ses effekt?
Rapsjordloppe	<i>Tersilochus microgaster</i> *	1	Endo	Året efter
Glimmerbøsse	<i>Phradis interstitialis</i> *	1	Endo	Året efter
	<i>Phradis morionellus</i>	1	Endo	Året efter
	<i>Tersilochus heterocerus</i> *	1	Endo	Året efter
Bladribbesnudebille	<i>Tersilochus obscurator</i> *	1	Endo	Året efter
Skulpesnudebille	<i>Trichomalus perfectus</i> *	Flere	Ekto	Samme år
	<i>Mesopolobus morys</i> *	Flere	Ekto	Samme år
	<i>Stenomalina gracilis</i> *	Flere	Ekto	Samme år
Skulpegalmug	<i>Omphale clypealis</i>	Flere	Endo	Året efter
	<i>Platygaster subuliformis</i> **	Flere	Endo	Året efter

* fundet i nærværende projekt

**denne eller nærtstående art fundet af Axelsen (1990)

Livscyklus og parasiteringsmåde

Snyltehvepsearter af slægterne *Tersilochus* og *Phradis*, der er knyttet til rapsjordloppe, glimmerbøsse og bladribbesnudebille, har alle - ligesom deres vært - én generation om året og overvintrer i den rapsmark, hvori de har fundet deres vært. Fælles for disse arter er, at de parasiterede skadedyrslarver fortsætter både deres udvikling og fødeindtag, selv efter at snyltehvepsen har lagt deres æg i dem (koinobiont). Den videre udvikling til voksen snyltehveps begynder først i det øjeblik hvor den parasiterede værtslarve, ligesom de ikke-parasiterede larver, lader sig falde til jorden og forpupper sig i jorden. Herefter fortsætter de ikke-parasiterede larver med at udvikle sig til voksne skadedyr, som klækker og forlader marken for at overvintr

enten i udyrkede områder eller, i rapsjordloppens tilfælde, i den nyetablerede, angrebne rapsmark. I de parasiterede larver fuldender snyltehvepsen sin udvikling i værtens kokon og overvintrer i denne som voksen i jorden. Den voksne snyltehveps klækker fra kokonen det følgende forår og lokaliserer derefter en ny rapsmark. For disse to slægter af snyltehvepse ses effekten af parasiteringen således først på antallet af skadedyr, der klækker det følgende forår.

De 3 arter snyltehvepse, *Trichomalus perfectus*, *Mesopolobus morys* og *Stenomalina gracilis* som er knyttet til skulpesnudebillen, er alle såkaldte idiobionter, dvs. at værtslarvens udvikling og ædeaktivitet stopper, når snyltehvepsen lægger sit æg i larven. I modsætning til *Tersilochus* og *Phradis*-arterne kan parasiteringen således begrænse skulpesnudebillens skade allerede samme år. Kendskabet til disse arters livscyklus er sparsom, men ifølge europæiske undersøgelser har de sandsynligvis flere generationer om året og overvintrer fortrinsvis som voksne i udyrkede områder.

Tidlig indflyvning bestemt af forårsvejret

De europæiske studier viser, at snyltehvepsene indvandrer løbende i rapsmarken helt fra det tidlige forår til lige før høst i en rækkefølge, der er synkroniseret med deres værtsskadedyr. Den første art er *Tersilochus microgaster*, der angriber rapsjordloppelarver, der har overvintret i rapsens bladstilke og stængler. Deres ankomst i rapsmarken bestemmes af vejret, idet klækning fra sidste års rapsmark ifølge den tyske ProPlant model (Johnen *et al.*, 2010) kræver 3 dages stigende maksimumtemperaturer, en vis middeltemperatur samt solskin. Selvom betingelserne er gode for klækning, kan snyltehvepsene ikke flyve til de nye rapsmarker, hvis vindhastigheden overstiger 6,5 m/s. ProPlant modellens forudsigelser blev i projektet bekræftet ved, at første fangst af *T. microgaster* i 2018 var hhv. 8. april og 9. april i nye rapsmarker på begge lokaliteter, hvor april startede med tre varme dage efter en kold marts måned med sne ved månedsskiftet.

Effektiv værtssøgning og høj mobilitet

Efter klækning fra sidste års rapsmark eller fremkomst fra overvintringsstedet søger de voksne snyltehvepse efter indeværende års rapsmark. Mekanismerne ved lokalisering af værtsplanter og derefter af værter er ikke velbelyst for alle de vigtige arter snyltehvepse, men den foreliggende dokumentation giver et billede af en gruppe snyltehvepse, der kan bevæge sig over betydelige afstande og lokalisere raps ligesom de skadedyr, de parasiterer. Det er veldokumenteret fx i vindtunnelforsøg, at mange af snyltehvepsearterne bruger duft til at finde værtsplanten. For 3 af arterne, *Phradis interstitialis*, *Tersilochus obscurator* og *Platygaster subuliformis*, snyltehvepse på hhv. glimverbøsse, bladribbesnudebille og skulpegalmug, er det yderligere bekræftet i markforsøg, at snyltehvepsene ved såkaldt upwind anemotaxi lokaliserer rapsmarken. Upwind anemotaxi betyder, at snyltehvepsene konsekvent flyver mod vinden og ved hjælp af flyvning på tværs af vinden hele tiden holder sig inde i rapsens duftstrøm (Williams *et al.*, 2007). Samme undersøgelse viser, at snyltehvepsene laver uventede afstikkere til nabohabitater som markkanter og levende hegn, selv efter at de har lokaliseret rapsmarken. Dette antages at betyde, at de voksne snyltehvepse har brug for at indtage føde inden eller i løbet af deres parasiteringsaktiviteter, og at de således skifter mellem fødesøgning og værtssøgning. Denne tolkning bekræftes af, at glimverbøssesnyltehvepsen *T. heterocerus* ved klækning fra sidste års rapsmark har små sukkerreserver, og at disse allerede ved ankomsten til den nye rapsmark er øget ved fødeindtag enten i rapsen eller i blomster i det omgivende landskab (Rusch *et al.*, 2013). Det kan også forklare, hvorfor stor tæthed af småbiotoper både tæt på rapsmarken (250 m) og på landskabsskala (1500-2000 m) øger forekomsten af *T. heterocerus* (Rusch *et al.*, 2011). Selvom de enkelte arters mobilitet er dårlig belyst, konkluderer Rusch *et al.* (2011), at voksne snyltehvepse formentlig kan indvandre til rapsmarker fra sidste års marker 1250 til 2000 m væk. Samstemmende fremhæver Berger (2019), at hans resultater ikke støtter den almindelige antagelse, at snyltehvepse bruger landskabet på mindre skala end skadedyrene, men snarere viser det modsatte, nemlig at de hyppigst forekommende snylte-

hvepse i raps er gode flyvere og stærke værtsfindere. Denne viden om snyltehvepsenes bevægelser i landskabet, drevet af deres føde- og værtssøgning, er relevant for fremtidige strategier for beskyttelse og understøttelse af snyltehvepspopulationerne.

Tidlig indflyvning bestemt af forårsvejret

Snyltehvepses effekt på skadedyrspopulationen og på udbyttet afhænger af parasiteringsgraden og af, i hvilket omfang og på hvilket tidspunkt skaden påvirkes af parasiteringen. De mange arter snyltehvepse med forskellig biologi gør en samlet vurdering af potentialet vanskelig. Som nævnt ovenfor er de fleste snyltehvepse såkaldt koinbionte, dvs. de fuldender først deres udvikling, når skadedyret har gennemført alle larvestadier. Det betyder, at larvens ædeaktivitet og dermed udbyttetabet ikke påvirkes i indeværende år. Nogle få arter har dog effekt på skaden allerede samme år, som de angriber skadedyret, men omfanget af parasiteringens effekt på larveskaden kendes ikke. Axelsen (1994) modellerede effekten af snyltehvepse på skulpegalmug-populationen over en 10-årig periode, og Ulber (2017) har forsøgt at evaluere andre mortalitetsfaktorer ved at anslå antallet af uparasiterede glimmerbøsser, der kan forventes at klække i fravær af snyltehvepse. Den samlede potentielle effekt af parasiteringen på rapsskadedyrene må dog siges at være særdeles vanskelig at kvantificere på det foreliggende grundlag.

TABEL 3. Graden af parasitering af snyltehvepse på skadedyr i vinterraps. Den relative betydning af de enkelte arter snyltehvepse varierer med indsamlingssted. Tyske data bygger på data indsamlet 1993-2016¹⁾.

Skadedyr	Snyltehvepse	Eksempler på parasiteringsgrader i Tyskland, England og Danmark
Rapsjordloppe	<i>Tersilochus microgaster</i>	5-44% ¹⁾ 0-61% ²⁾
Glimmerbøsse	<i>Tersilochus heterocerus</i> <i>Phradis sp.</i>	45-83% ¹⁾
Bladribbesnudebille	<i>Tersilochus obscurator</i>	20-50% ¹⁾
Skulpesnudebille	<i>Mesopolobus morys</i> <i>Stenomalina gracilis</i> <i>Trichomalus perfectus</i>	30-70% ¹⁾
Skulpegalmug	<i>Omphale clypealis</i> <i>Platygaster subuliformis/oebalus</i>	<3% ³⁾ <3% ⁴⁾ 0-74% ³⁾

¹⁾ Ulber 2017 ²⁾ Bak og Wildt 2018 ³⁾ Williams *et al.* 2010 ⁴⁾ Axelsen 1991

5.2 Metoder

Den følgende metodebeskrivelse omfatter aktiviteter i pilotprojektet, der har fokus på forekomst af voksne snyltehvepse (A), og aktiviteter i et sideløbende bachelorprojekt med fokus på parasitering af rapsjordloppelarver (B).

5.2.1 Lokalteter

Lokalteter til indsamling af voksne snyltehvepse (A)

Voksne snyltehvepse blev indsamlet på to lokaliteter, Taastrup og Lejre i foråret 2018. På hver af de to lokaliteter blev voksne snyltehvepse indsamlet i to marker (Tabel 4). I "foregående års rapsmark" (dyrket med raps i 2017) blev voksne snyltehvepse indsamlet, når de klækkede efter overvintring i jorden (marts 2018). I "dette års rapsmark" (dyrket med raps i 2018) blev voksne snyltehvepse indsamlet løbende fra april til juni 2018. I Taastrup var afstanden mellem 2017- og 2018-rapsmarker 490 m. I Lejre havde 2018-rapsmarken to 2017-rapsmarker som nabo. Dog blev der indsamlet voksne snyltehvepse i en 2017-rapsmark 1,7 km væk fra 2018-rapsmarken, fordi den oprindeligt planlagte 2018-rapsmark måtte udgå pga dårlig vækst og opløjning. Vækstforløbet i de to 2018-rapsmarker var parallelt, med vegetativ vækst fra vækstperiodens start i første uge af april frem til starten af maj (begyndende blomst 6.maj), fuld blomst 18.maj og helt afblomstret 7.juni. "Sidste års mark" i Taastrup bestod af et 200 m² stort areal i en ellers konventionelt dyrket rapsmark, der ikke blev behandlet med insekticid gennem hele vækstsæsonen 2016/17. I 2018-rapsmarken i Taastrup blev voksne snyltehvepse indsamlet i et 1,6 ha usprøjtet areal i en konventionelt drevet mark. Begge marker i Lejre var drevet økologisk og således ubehandlet med pesticider.

TABEL 4. Oversigt over marker anvendt til indsamling af voksne snyltehvepse 2018

Lokalitet	Mark nr.	Areal	Afgrøde 2018	Afgrøde 2017	Jordbehandling efter rapshøst 2017	Insekticider
Taastrup	1	2 ha	Vinterhvede	Vinterraps	Ikke pløjet	Usprøjtet 2017
	2	6 ha ¹⁾	Vinterraps	Vinterbyg	-	Usprøjtet 2018
Lejre	3	7 ha	Vinterhvede	Vinterraps	Pløjet	Økologisk
	4	9 ha	Vinterraps	Lucerne/græs	-	Økologisk

¹⁾ Det meste af Mark 2 blev på grund af et kraftigt angreb af glimmerbøsser pløjet ned i maj 2018, således at forsøgsarealet med raps kun udgjorde 1,6 ha raps.

Lokalteter til bestemmelse af parasiteringsgrad i rapsjordloppe (B)

Parasitering af rapsjordloppens larver blev undersøgt i 3 økologiske og 3 konventionelle marker på Midsjælland i foråret 2018. Da 2 af de konventionelle marker var uden angreb af rapsjordloppelarver, omfattede undersøgelsen af parasiteringsgrad kun 4 marker (Tabel 5).

TABEL 5. Oversigt over marker anvendt til undersøgelse af parasiteringsgrad i rapsjordloppelarver

Lokalitet	Mark nr.	Areal	Insekticider efterår 2017	Plantetæthed april 2018	Tæthed af rapsjordloppelarver april 2018
Roskilde	1K	10 ha	Bejdset med neonicotinoid Karate sept.2017	26 pl/m ²	0,6 larver/plante
Roskilde	1Ø	9 ha	Økologisk	27 pl/m ²	11,5 larver/plante
Ringsted	2Ø	11 ha	Økologisk	19 pl/m ²	5,0 larver/plante
Ringsted	3Ø	11 ha	Økologisk	41 pl/m ²	1,7 larver/plante

5.2.2 Indsamling af voksne snyltehvepse (A)

I pilotprojektet blev voksne snyltehvepse indsamlet i de to 2017-rapsmarker med klækkefælder, og i de to 2018-rapsmarker med 3 forskellige metoder: vandfælder (gule og grønne fangbakker), sweep-net og planteprøver (se figur 1 A, B og C). De tre metoder blev brugt parallelt, fordi de er velegnede til forskellige snyltehvepsearter, forskellige indsamlingstidspunkter og til at sikre indsamling under varierede vejrforhold (Williams *et al.*, 2003, Berger, pers.komm.). Mens sweep-net kræver stille vejr og en tør afgrøde, udmærker vandfælder sig ved at fange kontinuert, uanset vejret. Svagheden ved vandfælderne er, at de fanger mange flyvende insekter og at sorteringsarbejdet derfor er stort. Desuden er de, eftersom de står på jorden, mindre effektive overfor snyltehvepse knyttet til blomster og skulper i takt med at afgrøden vokser. Hyppigheden og tidspunkterne for indsamlingen varierede mellem de to lokaliteter, men da projektets formål har været at få indsamlet flest mulige forskellige snyltehvepse og ikke at sammenligne lokaliteter, er dette ikke et problem.

Klækkefælder

Voksne snyltehvepse blev indsamlet med 12 klækkefælder pr. mark i hver af de to marker med raps i 2017 i perioden 27.marts til 14.maj i Taastrup (5 indsamlingsdatoer) og 4.april til 24.maj i Lejre (3 indsamlingsdatoer). Klækkefælderne var på hver lokalitet fordelt på 6 hvide fælder og 6 mørke klækkefælder (figur 1A). De hvide fælder var netbure, 60x60 cm, med 1 gul og 1 hvid vandfælde i burets bund til fangst af klækkede snyltehvepse (figur 1B). De mørke fælder bestod af en metalcirkel (diameter 40 cm) med en kegleformet top beklædt med mørkt stof, hvor snyltehvepse og andre insekter indsamles fra et glas på toppen (Münster-Swendsen, 1973). Vi anvendte begge typer klækkefælder, fordi vi i tidligere år havde oplevet variable resultater med de mørke, kegleformede fælder, fx at edderkopper åd insekterne i fangglasene. Klækkefælder giver både et absolut estimat for antallet af snyltehvepse pr. arealenhed, der har overvintret i jorden, og et præcist tidspunkt for deres klækning (Klingenberg & Ulber, 1994). Kvaliteten af de resultater, som kan opnås i klækkefælder, afhænger især af, hvor de placeres og om de har været i funktion i hele klækkeperioden. I dette projekt var der fokus på at undersøge det tidsmæssige forløb af snyltehvepsenes fremkomst og ikke på at kunne estimere tætheden.

Vandfælder

Voksne snyltehvepse blev indsamlet i 6 fangbakker pr mark. I Taastrup var vandfælderne udsat fra 5.april til 16.maj (6 indsamlingsdatoer), mens fælderne i Lejre var udsat 6.april til 15.maj (5 indsamlingsdatoer). I hver mark blev udsat 3 gule og 3 grønne plastikbakker (IKEA, mål 38 x 26 cm) fyldt med vand og opvaskemiddel. Vandfældernes indhold blev siet i marken i et sæt sier med maskestørrelse 4 mm, 1 mm og 0,1 mm og derefter opbevaret i 70% ethanol indtil sortering i snyltehvepse og andre insekter i laboratoriet.

Sweep-net

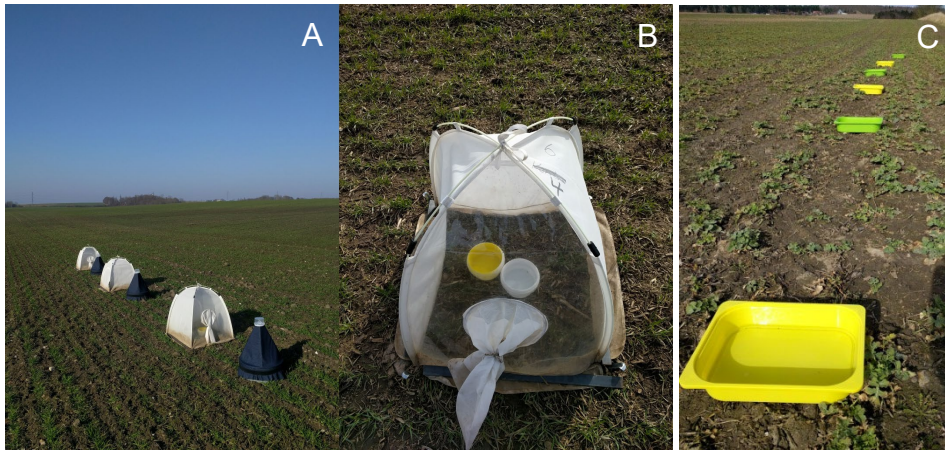
Voksne snyltehvepse blev indsamlet med sweep-net (diameter 38 cm) i hver af de to marker med raps i 2018, 3 gange i perioden 5.maj til 1.juni i Taastrup og 4 gange i perioden 29.april til 7.juni i Lejre. Hver indsamling bestod i 5-10 transekter á 25 slag, dvs. at nettet slås hurtigt gennem toppen af afgrøden. For hver transekt blev voksne snyltehvepse indsamlet direkte fra nettet med aspirator (sugeflaske) i marken og opbevaret i 70% ethanol indtil identifikation.

Planteindsamlinger

Voksne snyltehvepse blev indsamlet i planteprøver i rapsmarken i Taastrup i 2018. Planterne blev indsamlet på 5 tidspunkter mellem 4.maj og 26.maj. Ved indsamlingen 4.maj blev 10 hele planter udtaget, mens der ved de efterfølgende indsamlinger blev indsamlet 10 blomsterstande (7.maj, 14.maj, 16.maj, 26.maj). De afskårne planter eller blomsterstande blev placeret separat i poser og nedfrosset individuelt. Efter optøning blev de voksne snyltehvepse indsamlet fra posen.

Identifikation af snyltehvepse

De indsamlede snyltehvepse blev morfologisk identificeret ved anvendelse af Ferguson *et al.*, (2010) og Vidal (2003). Begge nøgler er målrettet lavet med henblik på at kunne bruges til identifikation af snyltehvepse, indsamlet i raps eller klækket fra rapsskadedyr, af ikke-specialister. Målgruppen var først og fremmest snyltehvepse, der blev fundet i både sidste års og i dette års rapsmark. Ud over de arter og slægter, der kunne identificeres ved hjælp af de to nøgler, blev andre snyltehvepse, der forekom hyppigt i både dette og sidste års rapsmark, forsøgt bestemt til familie eller slægt. Typiske eksemplarer af de fundne arter blev derefter konfirmeret af Josef Berger, Lund Universitet, og andre eksemplarer blev konfirmeret ved sekventering som beskrevet i afsnit 5.3.



FIGUR 1. To typer klækkefælder i sidste års rapsmark (vinterhvede 2018) ved vækstsæsonens start 4. april 2018 (A). De voksne snyltehvepse klækker efter overvintring i jorden og opsamles i glas placeret på den mørke fældes top eller i to vandfælder i den hvide fældes bund (B). Vandfælder i årets rapsmark ved vækstsæsonens start 2018 (C).



FIGUR 2. Snyltehvepsen *Tersilochus microgaster*, som parasiterer rapsjordloppen. Voksen snyltehveps med tydelig læggebrod (A) og rapsjordloppelarve med synligt mørkt æg af *T. microgaster* (B).

5.2.3 Parasiteringsgrad i rapsjordloppelarver (B)

I et sideløbende bachelorprojekt blev forekomst og parasitering af rapsjordloppelarver bestemt ved indsamling af rapsplanter i fire vinterrapsmarker (Tabel 5). Planterne blev indsamlet langs 3 parallelle transekter i hver mark 23-25. april 2018 (90 planter/mark) og 4. maj 2018 (60 planter/mark). Tilfældigt udvalgte planter langs transekten blev afskåret ved grunden med 5-8 skridts mellemrum afhængig af markens størrelse, og derefter pakket individuelt i nummererede poser. Imellem indsamling og dissektion blev planterne opbevaret på køl. Antal larver/plante blev opgjort ved dissektion af alle bladstilke og stængler inden for en uge fra indsamlingsdagen. Alle larvestadier inkl. døde larver blev talt. Standardmetoden for bestemmelse af parasiteringsgrad er dissektion af jordloppelarverne (Williams *et al.*, 2003). Da det mørkfarvede, indkapslede æg fra rapsjordloppens snyltehveps *T. microgaster* er tydeligt synligt ved visuel inspektion af larven under mikroskop (figur 2B) blev parasiteringen her opgjort visuelt uden dissektion. Ved visuel opgørelse vil man ifølge Ulber (pers. komm.) finde størstedelen af de parasiterede jordloppelarver, idet forekomsten af ikke-pigmenterede æg af *Tersilochus microgaster* normalt er lille. På basis af dissektion af 30 jordloppelarver, som viste god overensstemmelse mellem resultatet af dissektion af værtslarven og visuel opgørelse, blev parasiteringsgraden her bestemt ved visuel inspektion. Det betyder, at vores resultater viser andelen af parasiterede larver uden hensyntagen til æggenes overlevelse, dvs. om larven vil klække som voksen rapsjordloppe eller som voksen snyltehveps.

5.3 Resultater

Nedenfor præsenteres resultaterne fra pilotprojektet, der undersøgte forekomst af voksne snyltehvepse (A)(5.3.1), samt resultaterne af bachelorprojektets undersøgelser af parasitering af rapsjordloppelarver (B)(5.3.2).

5.3.1 Forekomst af voksne snyltehvepse i rapsmarker (A)

Der blev indsamlet mere end 800 voksne snyltehvepse de fire forsøgsmarker (2 marker med raps 2017, 2 marker med raps i 2018). Halvdelen af de indsamlede snyltehvepse tilhørte de syv arter listet i Tabel 6. Talrige var især slægterne *Tersilochus* og *Phradis*, som alle overvintrer i sidste års rapsmark og tilsyneladende er gode flyvere og værtsfindere.

Resultaterne bekræfter, at de voksne snyltehvepsene ankommer tidligt til rapsmarken og forbliver helt til høst. I 2018 var tidligste fangst af rapsjordloppens snyltehveps *T. microgaster* således 8. april og 9. april i de nye rapsmarker på begge lokaliteter. Marts måned 2018 var usædvanlig kold og endte med sne. I starten af april gav 3 dage med stigende temperaturer og mange solskinstimer gode betingelser for klækning og migration af *T. microgaster* (Johnen *et al.*, 2010). Det afspejles i, at fangsterne i klækkefælder er næsten samtidige med fangsterne i de nye rapsmarker, dvs. de voksne snyltehvepse har hurtigt været i stand til at lokalisere de nye marker efter klækning fra de gamle rapsmarker.

TABEL 6. Tidspunkt for voksne snyltehvepses fremkomst fra sidste års rapsmark og varighed af deres tilstedeværelse i dette års rapsmarker i foråret 2018. For alle arter er et antal individer bekræftet ved COI sekvenser (se afsnit 5) og bekræftet ved morfologisk identifikation af Josef Berger, Lunds Universitet.

Snyltehveps	Vært	Tidligste forekomst i 2018		April				Maj				Juni					
		i sidste års mark	i dette års mark														
<i>T. microgaster</i>	Rapsjordloppe	11.april	8.april														
<i>T. perfectus</i>	Skulpesnudebille	11.april	18.april														
<i>S. gracilis</i>	Skulpesnudebille	11.april	8.april														
<i>T. obscurator</i>	Bladribbesnudebille	3.maj	6.maj														
<i>P. interstitialis</i>	Glimmerbøsse	23.april	6.maj														
<i>T. heterocerus</i>	Glimmerbøsse	-	6.maj														
<i>Mesopolobus sp.</i> 1)	Skulpesnudebille	-	7.juni														

1) Ifølge Josef Berger forekommer både *M. morys* og *M. gemellus* i vores materiale

5.3.2 Parasitering af rapsjordlopper (B)

Som det fremgår af tabel 5, var tætheden af rapsjordloppelarver i de fire undersøgte rapsmarker højere i de 3 økologiske end i den ene konventionelle mark. Parasiteringsgraden er andelen af fundne larver indeholdende et snyltehvepseæg i april 2018 lige inden larverne forlader planten og forpupper sig i jorden. Som det ses i tabel 7, var parasiteringsgraden høj i alle fire marker, og da rapsjordloppen anses for at være den alvorligste af rapsskadedyrene, er resultatet lovende. Det var ikke på grundlag af det beskedne materiale muligt at forklare forskelle imellem marker. Udfordringen er at operationalisere denne viden til en mere praktisk forvaltning.

TABEL 7. Angrebsgrad og parasitering af *Tersilochus microgaster* på larver af rapsjordloppen i 4 marker i 2018.

Mark	Gns. larver/plante	% parasitering
1 ØKO	11,5	47
2 ØKO	5,0	61
3 ØKO	1,7	48
1 KONV	0,6	30

5.4 Diskussion og perspektiver

Vores indsamlinger af voksne snyltehvepse understøtter billedet fra andre europæiske lande og viser, at man med de benyttede, simple metoder på blot to danske lokaliteter kan finde 7 ud af 10 snyltehvepsearter, der karakteriseres som vigtige på europæisk plan. Selvom dette tyder på, at disse arter er udbredte i det danske agerland, skal det bekræftes ved yderligere undersøgelser.

Den tidligste snyltehvepseart, *T. microgaster*, som angriber rapsjordloppen, viser sig at klække fra foregående års rapsmark allerede ved vækstperiodens start og indvandrer straks til de nye rapsmarker. Som det ses i tabel 6, klækker og indvandrer de andre arter snyltehvepse efterføl-

gende til rapsmarken, hvilket betyder, at alle insekticidspøjtninger i rapsen i foråret vil reducere snyltehvepsebestanden. En eventuel efterårsbehandling med insekticid mod rapsjordloppen må derimod forventes at have lille eller ingen effekt på de arter af snyltehvepse, der overvintrer i jorden i den høstede rapsmark. For de få arter snyltehvepse, der overvintrer som voksne, kendes effekten af efterårsbehandling ikke.

De biologiske træk ved de forskellige arter snyltehvepse er relevante for at vurdere, dels hvilke effekter parasiteringen kan forventes at have på populationen af skadedyr, dels hvordan de enkelte arter kan fremmes ved at indtænke både afgrødeplacering og landskabskompleksitet på forskellig skala. Især rapsjordloppens snyltehveps, *T. microgaster*, ser ud til at være både talrig og udbredt, og resultatet af det udførte bachelorprojekt viser, at op til 60% af rapsjordloppelarverne kan være parasiterede. Det skal bemærkes, at på grund af rapsjordloppens evne til at indkapsle snyltehvepsens æg kan andelen af parasiterede larver ikke oversættes direkte til reduktion i jordloppespopulationen det følgende år.

På længere sigt kan markmonitoring af denne art måske udvikles til at kunne indgå i landmandens beslutninger om bekæmpelse af glimmerbøsser og andre rapsskadedyr.

6. DNA baseret identifikation

6.1 Baggrund

Morfologisk identifikation af snyltehvepse kræver ekspertise og er især for ikke-eksperter forbundet med nogen usikkerhed. Hvis man med henblik på en mere målrettet forvaltning af snyltehvepsene dels vil foretage mere omfattende undersøgelser af snyltehvepsenes forekomst, dels vil undersøge om snyltehvepsenes markforekomst på længere sigt vil kunne monitoreres ude i praksis, er det relevant at undersøge om DNA baserede metoder kan gøre identifikation hurtigere og sikrere. Derfor har en del af pilotprojektet haft til formål at teste, hvorvidt molekylær identifikation af snyltehvepse indsamlet i raps kan understøtte og supplere den morfologiske identifikation.

For øjeblikket baseres molekylær taxonomi på artsniveau indenfor insekter hovedsagelig på *COI* genet som koder for proteinet Cytochrome oxidase *c* subunit I (Herbert *et al.* 2003). *COI* genet er velegnet til identifikation af enkeltindivider, fordi det nemt kan amplificeres ved brug af konventionel PCR-teknologi (Folmer *et al.*, 1994, Barari *et al.*, 2005). Hvis man arbejder med blandede prøver, bestående af fx både plantemateriale og insekter, er *COI*-genet mindre velegnet, dels fordi det er et langt DNA fragment (>500 bp), dels fordi det udviser forholdsvis stor variation i de dele af genet, der bruges som bindingssted for primeren (Park *et al.*, 2010, Clarke *et al.*, 2014). Valget af et mere robust gen såsom mitochondriegenet 16S, som er kortere (<300 bp) og mere konserveret, vil muliggøre analyser af blandet materiale (Clarke *et al.*, 2014, Elbrecht *et al.*, 2016). For de fleste insekter, herunder snyltehvepsene, foreligger imidlertid kun *COI* sekvenser, og analyser af blandet materiale forudsætter derfor, at 16S sekvenserne genereres og gøres tilgængelige for de arter, der specifikt søges undersøgt. Derfor var det et yderligere formål at levere ny DNA-sekvensinformation for de mest betydende danske snyltehvepse i raps til brug i fremtidige undersøgelser i Danmark og Nordeuropa.

6.2 Metoder

Voksne snyltehvepse indsamlet i planteprøver samt i klække- og vandfælder i 2018 i Taastrup og Lejre blev sorteret i arter eller grupper baseret på morfologiske karakterer. For hver morfologisk art eller gruppe blev et antal individer sekventeret individuelt. Hvert individ blev homogeniseret i TE buffer og efterfølgende dattet på DNA-bindende FTA membrankort (Harvey, 2005). På hvert FTA kort, dvs. for hvert individ, blev to DNA targets (*COI* og 16S) amplificeret og sekventeret ved hjælp af eksisterende PCR-metoder: amplifikation af *COI* DNA fulgte Miller *et al.* (2013), og amplifikation af 16S fulgte Elbrecht *et al.* (2016). Vi anvendte LCO1490 og HCO2198 som henholdsvis forward og reverse primere til *COI* (Folmer *et al.*, 1994). For 16S genet anvendtes primerparret Ins16S_1 (Clarke *et al.*, 2014). Identifikation på artsniveau blev foretaget ved sammenligning med DNA-sekvenser af annoterede *COI*-gener i databaserne GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) og BOLD (<http://www.boldsystems.org/>), hvor som minimum 99% identitet kunne observeres mellem databasen og den testede sekvens på et 350 bp langt DNA fragment. For hver annoteret art er mindst to individer sekventeret.

Vi fokuserede på at confirmere identifikationen af de snyltehvepsearter, der i litteraturen angives hyppigt at parasitere de vigtigste rapsskadedyr (tabel 2). Derudover var der blandt de mange andre indsamlede snyltehvepse en række grupper, der blev indsamlet i større antal, dels på begge lokaliteter, dels både i sidste års og dette års rapsmark. Vi antog derfor, at disse enten "hører til rapssystemet" og er knyttet til andre og mindre betydende skadedyr (fx kålflue eller minérfluer) eller at de forekommer allevegne. De hyppigst forekommende af disse blev forsøgt identificeret morfologisk til familie, slægt eller art og derefter sekventeret.

6.3 Resultater

For syv arter snyltehvepse fandt vi fuld overensstemmelse (99-100% sammenfald) mellem COI sekvenserne af de indsamlede individer og sekvenser i databaser, annoteret som kendte snyltehvepse i raps (Tabel 8). Individer af de 7 arter var morfologisk bekræftet af Josef Berger, Lund Universitet. 16S sekvenser genereret fra de indsamlede snyltehvepse grupperede sig i 7 distinkte grupper på samme måde som COI sekvenserne. Genererede COI og 16 S sekvenser fra projektet vil blive gjort tilgængelige i Genbank/ BOLD ved videnskabelig publikation af resultater.

TABEL 8. COI match med indsamlede individer

Snyltehvepseart	COI sekvens Bedste match i Gen- Bank eller BOLD	% identity	Vært
<i>Tersilochus microgaster</i>	KX759021 (SE)	99	Rapsjordloppe
<i>Tersilochus heterocerus</i>	KX759027 (SE)	99	Glimmerbøsse
<i>Phradis interstitialis</i>	KX759029 (SE)	99	Glimmerbøsse
<i>Trichomalus perfectus</i>	MG382218 (CAN)	99	Skulpesnudebille
<i>Mesopolobus morys</i>	BCMHYM196714.COI-5P (DE)	99	Skulpesnudebille
<i>Stenomalina gracilis</i>	MG376218 (CAN)	99	Skulpesnudebille
<i>Tersilochus obscurator</i>	KX759033 (SE)	99	Bladribbesnudebille

6.4 Diskussion og perspektiver

Resultatet viser, at DNA-analyser kan bruges til at confirmere den morfologiske identifikation af snyltehvepse i raps. I projektet har vi konfirmeret den morfologiske identifikation af de 7 ud af de 10 forventede vigtige arter på grundlag af sekvensinformation tilgængelig i BOLD eller GENBANK. De resterende 3 arter, *Omphale clypealis*, *Platygaster subuliformis* og *Phradis morionellus*, er enten ikke fundet eller fundet i så små antal, at de er bevaret til morfologisk identifikation.

Projektets tilvejebringelse af 16S sekvenser for de 7 arter af rapsrelaterede snyltehvepse vil med stor sandsynlighed gøre det muligt at udvikle DNA-baserede metoder, der kan analysere artssammensætningen også i komplekse samples (fx fra vandfælder med mange dyr) eller direkte i plantemateriale evt. med parasiterede værter. Dermed vil det være muligt at gennemføre også større økologiske undersøgelser ved hjælp af DNA-data.

Brugen af DNA sekventering er imidlertid også forbundet med en række usikkerheder. Databaserne bygger på, at fagmiljøer gør sekvenser tilgængelige, baseret på morfologisk identifikation. For en række af de snyltehvepsearter, der vurderes at være vigtige i reguleringen af raps-skadedyr, angives det i litteraturen, at de er svære at adskille morfologisk fra nærtstående arter (Ulber *et al.*, 2010). Det betyder, at der for nemt identificerbare arter ligger et stort antal sekvenser, der er annoteret til art, mens andelen af sekvenser, der kun går til slægtsniveau, ofte er større ved svært identificerbare arter. Det gælder eksempelvis skulpegalmgysnyltehvepsen *Platygaster subuliformis*, som angives "nemt at kunne forveksles med *P. minuta*, *P. oebalus* og *P. tisis*" (Ulber *et al.*, 2010, Buhl 2006). Slægten *Platygaster* er repræsenteret med 774 records i BOLD databasen, men kun 159 af disse er koblet til arter og kun 13 forskellige arter er repræsenteret med verificerede sekvenser. Til sammenligning er andelen af sekvenser, der er verificeret til art, væsentlig større indenfor slægten *Tersilochus*, som omfatter *T. microgaster*

(på rapsjordloppen), *T. heterocerus* (på glimmerbøssen) og *T. obstructor* (på bladribbesnudebillen), som er nemmere at adskille morfologisk. For undersøgelser, der har fokus på parasitering, afhænger betydningen af en korrekt artsidentifikation af, om eventuelle nærtstående arter alle er dokumenteret at parasitere det pågældende rapsskadedyr. Fx figurerer et antal morfologisk svært adskillelige arter af slægten *Platygaster* alle som snyltehvepse på skulpegalmuggen, hvorfor artsidentifikationen fra et praktisk synspunkt kan forekomme mindre afgørende.

På trods af de nævnte usikkerheder er erfaringen fra dette pilotprojekt, at den morfologiske og den DNA-baserede diagnostik både supplerer og komplementerer hinanden og tilsammen vil gøre det muligt at få en mere sikker og præcis viden om snyltehvepsenes forekomst og biologi.

7. Litteratur

- Alford DV (ed.) 2003. Biocontrol of oilseed rape pests. Blackwell Science Ltd.
- Axelsen JA 1991. Parasitoiders betydning for værtspopulationen i et landbrugsøkosystem, belyst ved feltundersøgelser, laboratorieforsøg og computersimuleringer. PhD dissertation, Aarhus Universitet.
- Axelsen JA 1994. Host-parasitoid interactions in an agricultural ecosystem: a computer simulation. *Ecological Modelling* 73: 189-203
- Bak, K & Wildt, A 2018. Undersøgelse af parasiteringen af *Tersilochus microgaster* på rapsjordlopper som potentiale til naturlig regulering i Danmark. Bachelor Thesis, Københavns Universitet, 39 p.
- Barari H, Ferguson AW, Piper RW, Smith E, Quicke DLJ, Williams IH 2005. The separation of two hymenopteran parasitoids, *Tersiachus obscurator* and *Tersilochus microgaster* (*Ichneumonidae*), of stem-mining pests of winter oilseed rape using DNA, morphometric and ecological data. *Bull Entomol Res* 95:299-307.
- Berger, J 2019. Ecology of parasitoids and their hosts in oilseed rape fields. PhD Dissertation, Department of Biology, Lund University. 168 pp.
- Buhl PN 2006. Key to Platygaster (Hymenoptera, Platygasteridae) from Denmark, with descriptions of new species. *Steenstrupia* 29 (2): 127–167
- Clarke LJ, Soubrier J, Weyrich LS, Cooper A 2014. Environmental metabarcodes for insects: *in silico* PCR reveals potential for taxonomic bias. *Mol Ecol Resources* 14:1160-1170.
- EIP-AGRI Focus Group. IPM for Brassica. Final Report, January 2016.62 pp. <http://ec.europa.eu/eip/agriculture/en/content/integrated-pest-management-ipm-focus-brassica-species>
- Elbrecht V, Taberlet P, Dejean T, Valentini A, Usseglio-Polatera P, Beisel JN, Croissac E, Boyer F, Leese F, 2016. Testing the potential of a ribosomal 16S marker for DNA metabarcoding of insects. *PeerJ*
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Marine Biol & Biotechnol* 3:294-299.
- Ferguson AW, Williams IH, Castle LM, Skellern M, 2010. Key Parasitoids of the Pests of Oilseed Rape in Europe: A Guide to Their Identification. I: Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests, IH Williams (ed.), Chapter 3, 77-114
- Harvey ML 2005. An alternative for the extraction and storage of DNA from insects in forensic entomology. *J Forensic Sci* 50, 3: 1-3
- Hawkins BA, Cornell HV, 1994. Maximum parasitism rates and successful biological control. *Science* 266: 1886.
- Heimbach U, Brandes M, 2016. Pyrethroid resistance of insect pests in oilseed rape in Germany since 2005. *Integrated Control in Oilseed Crops IOBC-WPRS Bulletin Vol. 116, 2016: 17-22*
- Herbert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci* 270:313-321.
- Højland DH, Nauen R, Foster SP, Williamson MS, Kristensen M, 2015. Incidence, Spread and Mechanisms of Pyrethroid Resistance in European Populations of the Cabbage Stem Flea Beetle, *Psylliodes chrysocephala* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *PLoS One* 10: 12
- Johnen A, Williams IH, Nilsson C, Klukowski Z, Luik A, Ulber B, 2010. The proPlant Decision Support System: Phenological Models for the Major Pests of Oilseed Rape and Their Key Parasitoids in Europe. I: Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests, IH Williams (ed.), Chapter 15, 381-403

- Kaiser C, Jensen K-M V, Nauen R, Kristensen M 2018. Susceptibility of Danish pollen beetle populations against k-cyhalothrin and thiacloprid. *J Pest Sci* 91:447–458
- Miljøstyrelsen 2019. Bekæmpelsesmiddelstatistik 2017. J.E. Ørum & M.S. Holtze (eds.) 85 p.
- Miller GL, Carmichael A, Favret C, Scheffer SJ 2013. Room temperature DNA storage with slide-mounted aphid specimens. *Insect Conservation and Diversity* 6:447-451.
- Münster-Swendsen M, 1973. En klækkefælde og faldgrubefælde til insekt-økologiske undersøgelser. *Flora og Fauna* 79: 85-92
- Park DS, Suh SJ, Oh HW, Herbert PDN 2010. Recovery of the mitochondrial COI barcode region in diverse Hexapoda through tRNA-based primers. *BMC Genomics* 11:423.
- Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou J-P, Roger-Estrade, J 2011. Multi-scale effects of landscape complexity and crop management on pollen beetle parasitism rate. *Landscape Ecology* 26: 473-486
- Rusch A, Suchail S, Valantin-Morison M, Sarthou JP, Roger-Estrade J 2013. Nutritional state of the pollen beetle parasitoid *Tersilochus heterocerus* foraging in the field. *BioControl* 58: 17-26
- Ulber B, Williams I, Klukowski Z, Luik A, Nilsson C, 2010. Parasitoids of oilseed rape pests in Europe: key species for conservation biocontrol. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests*, IH Williams (ed.), Chapter 2, p. 45-75
- Ulber B 2017. Identity of parasitoids and their potential for biocontrol of oilseed rape pests in Europe. Presentation at EPPO Workshop on integrated management of insect pests in oilseed rape. https://www.eppo.int/media/uploaded_images/MEETINGS/Meetings_2017/ipm/32-Ulber.pdf
- Vidal S 2003. Identification of hymenopterous parasitoids associated with oilseed rape pests. I: Alford DV (ed.) 2003. *Biocontrol of oilseed rape pests*. Chapter 11, 162-179, Blackwell Science Ltd.
- Williams IH, Büchi R, Ulber B 2003. Sampling, trapping and rearing oilseed rape pests and their parasitoids. Chapter 10, 145-160. In: Alford, DV ed. *Biocontrol of oilseed rape pests*, 2003. Wiley Online Library
- Williams IH, Frearson DJT, Barari H, McCartney A. 2007. First field evidence that parasitoids use upwind anemotaxis for host-habitat location. *Entom Exp Appl* 123: 299-307
- Williams, IH 2010. The major insect pests of oilseed rape in Europe and their management: an overview. In: *Biocontrol-based integrated management of oilseed rape pests*, IH Williams (ed.), Chapter 1, p. 1- 43

Snyltehvepse i raps

Vinterraps tegnede sig i 2017 for 8% af omdriftsarealet i Danmark; men for en langt større andel af den samlede belastning med insektmidler. Raps angribes gennem hele vækstsæsonen af en række specialiserede skadedyr. De vigtigste skadedyr er rapsjordloppen, glimmerbøssen, skulpesnudebiller og skulpegalmyggen. Hos flere af disse skadedyr er der dokumenteret resistens over for insektmidler. Der er derfor behov for at undersøge alternative bekæmpelsesstrategier. Alle skadedyrene angribes af snyltehvepse, som indvandrer i rapsmarken i løbet af vækstsæsonen.

Det gennemførte pilotprojekt undersøgte forekomsten af voksne snyltehvepse i april-juni og parasiteringsgraden af rapsjordloppelarver april-maj.

Resultaterne indikerer, at de vigtigste snyltehvepse knyttet til de mest betydende skadedyr forekommer i rapsmarkerne fra vækstsæsonens start og frem til høst. En rapsmark vil i samme periode typisk blive behandlet med insektmiddel 1-3 gange, afhængig af skadedyrsforekomst, landmandens brug af skadetærskler, markens historik, landmandens risikovillighed etc. Tidlige sprøjtninger rettet mod glimmerbøsser og bladribbesnudebiller vil påvirke især rapsjordloppens snyltehveps (*Tersilochus microgaster*) negativt, og første skridt til at kunne udnytte snyltehvepsens skadedyrsbekæmpende effekt bedre, vil være at inddrage denne viden i rådgivningen om brug af skadetærskler for disse skadedyr.

Projektets anden del bekræfter, at DNA-baseret identifikation af snyltehvepse kan understøtte morfologisk identifikation, som er langsommelig og kræver stor ekspertise, selvom DNA-metoder og databaser stadig er under udvikling.



Miljøstyrelsen
Tolderlundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk