



Miljø- og
Ligestillingsministeriet
Miljøstyrelsen

Snyltehvepse i raps –en overset ressource i bekæmpelse af rapsskadedyr

Bekæmpelsesmiddel-
forskning nr. 232

Februar 2025



Udgiver: Miljøstyrelsen

Forfattere:

Vibeke Langer,
Signe Marie Jensen,
Ole Søgaard Lund

Inst. f. Plante- og Miljøvidenskab
Københavns Universitet

ISBN: 978-87-7038-707-1

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	5
2.	Sammendrag	6
3.	Summary	7
4.	Baggrund og formål	8
4.1	Skadedyr i raps – hvad er problemet?	8
4.2	Snyltehvepse som naturlige fjender – det generelle	9
4.2.1	Typen af snyltehvepse	9
4.2.2	Fælles biologiske træk for snyltehvepse på rapsjordloppe, glimmerbøsse og skulpesnudebille	9
4.2.3	Parasitering	12
4.2.3.1	Mål for snyltehvepsens forekomst og aktivitet	12
4.3	De tre skadedyr og deres snyltehvepse	16
4.3.1	Rapsjordloppen og dens snyltehvepse	16
4.3.2	Glimmerbøssen og dens snyltehvepse	17
4.3.3	Skulpesnudebiller og dens snyltehvepse	17
4.4	Identifikation af rapsskadedyrenes snyltehvepse – en barriere i forskning og forsøg	17
4.5	Landskabsfaktorer af betydning for forekomst og effekt af snyltehvepse	18
5.	Metoder	20
5.1	Lokaliteter	20
5.2	Forekomst af voksne snyltehvepse i danske rapsmarker	20
5.2.1	Indsamling og morfologisk identifikation	20
5.2.2	DNA baseret identifikation	21
5.2.3	Detektion af rapssnyltehvepse i blandinger af insekter	22
5.2.4	Test af ikke-destruktiv DNA-ekstraktion	22
5.2.5	Test af detektion af parasitering med amplikonsekventering	22
5.3	Snyltehvepsenes aktivitet: parasitering	23
5.3.1	Indsamling af planter	23
5.3.2	Opgørelse af parasitering: dissektion og klækning	23
5.3.2.1	Indsamling af larver af rapsjordloppe og glimmerbøsse	23
5.3.2.2	Dissektion af rapsjordloppe og glimmerbøsse	23
5.3.2.3	Indsamling og klækning af skulpesnudebillens snyltehvepse	25
5.4	Sammenhæng mellem det lokale landskab og forekomst og aktivitet af snyltehvepse	28
5.4.1	Landskabsanalyser	28
5.4.2	Landskabsvariable	29
5.4.3	Statistisk analyse af sammenhæng mellem landskabsfaktorer og snyltehvepsenes forekomst og aktivitet	30
6.	Resultater	33
6.1	Rapsjordloppens snyltehvepse	33
6.1.1	Forekomst og parasitering	33

6.1.2	Superparasitering	34
6.1.3	Indkapsling	35
6.2	Glimmerbøssens snyltehvepse	38
6.2.1	Forekomst og parasitering	38
6.2.2	Superparasitering	40
6.3	Skulpesnudebillens snyltehvepse	41
6.3.1	Forekomst og parasitering	41
6.4	Rapsskadedyr og deres snyltehvepse i forskellige landskaber	42
6.4.1	Rapsjordloppe	43
6.4.2	Glimmerbøsse	45
6.4.3	Skulpesnudebille	49
6.5	Forekomst af voksne snyltehvepse i danske rapsmarker	52
6.6	DNA metoder til identifikation og monitoring	53
6.6.1	Detektion af kendte arter af snyltehvepse i blandinger af insekter	53
6.6.2	Sammenligning af destruktiv og non-destruktiv ekstraktion	55
6.6.3	Test af detektion af parasitering med amplikonsekventering	56
6.6.4	Perspektiver i brug af DNA-metoder	57
7.	Diskussion	58
7.1	Snyltehvepsenes betydning	58
7.2	Hvor præcis er opgørelsen af parasiteringsgraden?	58
7.3	Kan skadedyrene beskytte sig mod parasitering og hvad betyder det for parasiteringens effekt?	59
7.4	Hvordan hænger lokale landskabsfaktorer sammen med forekomst og parasitering af snyltehvepse på rapsskadedyr?	59
8.	Konklusion og perspektiver	62
9.	Referencer	64
10.	Bilag 1	70
11.	Bilag 2 Metodebeskrivelse af amplikonsekventering	77
11.1	Amplikonsekventering v.h.a COI-genet.	77
11.2	Amplikonsekventering v.h.a 16S-genet:	78
12.	Bilag 3 Metodebeskrivelse af dissektion af glimmerbøsselarver	81

1. Forord

Dette projekt er en opfølgning på pilotprojektet Snyltehvepse i raps, som blev gennemført i 2018 under Miljøstyrelsens Bekæmpelsesmiddelforskningsprogram. Projektet viste ved undersøgelser i et lille antal rapsmarker, at mange af de snyltehvepsearter, der karakteriseres som vigtige på europæisk plan, var til stede og aktive, og at der var snyltehvepse til stede i rapsmarken i hele vækstperioden. Vi fandt betydelige, men variable parasiteringsgrader, og ambitionen i nærværende projekt var at få et overblik over udbredelsen og betydningen af snyltehvepsene på de tre vigtigste rapsskadedyr.

Denne rapport er skrevet på dansk med henblik på at formidle viden til landmænd, konsulenter og forskere.

Tak til de mange landmænd, som har stillet rapsmarker til rådighed. Tak til de mange konsulenter, som med grundighed har indsamlet og pakket rapsplanter og -skulper og sendt dem til KU. Tak til de 14 KU-studerende, der har kørt landet tyndt i sol og regn, samlet materiale, tømt vandfælder og dissekeret mange tusinde insektlarver - det første år under skarpe coronarestriktioner i mennesketomme laboratorier uden meget mulighed for adspredelse.

Tak for godt samarbejde til Ghita Cordsen Nielsen, Rita Hørfarter, Rasmus Emil Jensen og Stine Styrup Bang fra SEGES Innovation, som har identificeret rapsmarker, gennemført GIS-landskabsanalyser og interviewet et stort antal landmænd om deres markdrift. Tak for kompetent og engageret udførelse af DNA-ekstraktioner til laborant Lene Klem, KU.

Endelig en stor tak til Dr. Josef Berger, Lund Universitet, for uvurderlig eksperthjælp til identifikation af voksne snyltehvepse.

Vibeke Langer
Signe Marie Jensen
Ole Søgaard Lund

2. Sammen drag

Projektet har haft til formål at bidrage til forståelsen af forekomsten af rapsskadedyr og deres snyltehvepse, med henblik på at sætte landmænd i stand til at understøtte den naturlige regulering af rapsskadedyr. Vi har ønsket at besvare følgende spørgsmål:

1. Hvor udbredte er vigtige snyltehvepse på rapsjordloppe, glimmerbøsse og skulpesnudebille i danske rapsmarker?
2. I hvilken grad parasiterer snyltehvepsene de tre skadedyr?
3. Hvilke landskabsfaktorer er associeret med forekomst og parasitering af de tre skadedyr og deres snyltehvepse?
4. Kan DNA-baserede identifikationsmetoder være nyttige i fremtidig forskning og monitorering af rapsskadedyr og deres snyltehvepse?

Indsamlinger i 85 rapsmarker i 2020 og 2021 viser, at rapsjordlopper, glimmerbøsser og skulpesnudebiller samt deres snyltehvepse er tilstede i næsten alle danske rapsmarker, konventionelle som økologiske.

Snyltehvepsenes parasitering af skadedyrene varierer fra mark til mark og fra år til år, men både skadedyrenes forekomst, aktivitet og parasitering er påvirket af tilstedeværelsen af udyrkede arealer samt af størrelse og beliggenhed af rapsarealet. Rapsarealet ændrer sig fra år til år, og antallet af snyltehvepse er mindre i marker, hvor rapsarealet i det omgivende landskab er øget, sammenlignet med det foregående år (fortynding). Tilsvarende ses flere snyltehvepse (koncentration) i marker, hvor rapsarealet er reduceret, sammenlignet med det foregående år.

Effekten af parasitering på skadedyrspopulationerne er vanskelig at kvantificere, fordi: 1) parasitering kun er én ud af mange populationsbegrænsende faktorer, 2) der er biologiske feedback mekanismer (superparasitering kombineret med indkapsling), der dels reducerer effekten af snyltehvepsenes parasitering, dels kan dæmpe svingningerne i snyltehvepspopulationerne. Hvis man imidlertid bruger en parasiteringsgrad på en trediedel som "kritisk grænse" for en forventet effekt af parasitering på skadedyrspopulationen, opnås dette i kun en lille del af markerne for rapsjordloppen, i over halvdelen af markerne for glimmerbøssen og i næsten alle marker for skulpesnudebiller. Skulpesnudebilleren er det eneste af de tre skadedyr, hvor parasitering har en øjeblikkelig "bekæmpelseseffekt" og er derfor det skadedyr, der har størst potentiale som showcase for fremtidig biologisk bekæmpelse (conservation biocontrol) i praksis. At både rapsjordloppens, glimmerbøssens og skulpesnudebillens snyltehvepse kan findes i rapsmarkerne allerede i april, hvor glimmerbøsserne bekæmpes med insekticider, skal inddrages i landmandens beslutning om bekæmpelse.

Forhåbningen om at kunne identificere specifikke dyrkningsmetoder (fx jordbehandling) eller målrettet placering af rapsmarkerne (fx langt fra eller tæt på sidste års rapsmark), der alene kan sikre effektiv biologisk bekæmpelse af de tre skadedyr, har ikke kunnet opfyldes. Hypoteserne om, at jordbehandling og sprøjtning af sidste års rapsmark påvirker de overvintrende snyltehvepse (*Tersilochus* sp. og *Phradis* sp.), har således ikke kunnet bekræftes. Resultaterne tyder imidlertid på, at selvom de undersøgte snyltehvepse findes i alle landskaber, optræder de i større antal i landskaber med mange udyrkede arealer, en viden som landmændene kan bruge til at handle aktivt for generelt at fremme snyltehvepse.

Vores undersøgelser af DNA-baserede metoder til identifikation af snyltehvepse viser, at det er muligt at "skræddersy" universelle molekulære metoder (PCR og Amplikonsekventering) til målrettet at identificere relevante enkeltarter, i dette tilfælde de 6-7 hyppigst forekommende snyltehvepsarter, i blandinger af insekter. På længere sigt kan sådanne metoder fjerne den barriere, som morfologisk identifikation udgør, i undersøgelser hvor der er fokus på de almindeligt forekommende snyltehvepsarter og deres funktioner. De vil derimod ikke være egnede til undersøgelser af generel artsdiversitet eller af sjældne arter, idet de ikke kan detektere arter udenfor målskiven. Hvis sådanne målrettede metoder skal bruges til monitorering, fx til synliggørelse af naturlige fjender i enkeltmarker, skal de være hurtigere og billigere, men metoden kan allerede nu anvendes i videre forskning af biologisk bekæmpelse af rapsskadedyr.

3. Summary

The purpose of this project has been to contribute to an understanding of the occurrence of three important insect pests and their parasitoids in order to improve the possibilities for farmers' to support natural pest regulation in winter oilseed rape. We have investigated the following questions:

1. How are parasitoids of pollen beetle, cabbage stem flea beetle and cabbage seed weevil distributed in Danish winter oilseed rape fields?
2. To what degree do the parasitoids parasitize their hosts?
3. Are parasitoid occurrence and activity associated with characteristics of the local landscape?
4. Do DNA-based identification methods hold potential in future research and monitoring of oilseed rape pests and parasitoids?

Field samples from 85 fields during two years show, that cabbage stem flea beetle, pollen beetle and cabbage seed weevil as well as their parasitoids are found in almost all Danish winter oilseed rape fields, both conventional and organic. Parasitisation of cabbage stem flea beetle larvae was generally low (mean of fields 11 and 13% in the two years), pollen beetle medium but very variable (40 and 22%) and cabbage seed weevil was consistently high (74 and 75%).

The occurrence of both the three pests and their parasitoids vary between fields and are associated mainly with the size and location of the local oilseed rape resource as well as the area of uncropped habitats in the local landscape. For cabbage stem flea beetle, oilseed rape fields located in landscapes with many and close oilseed rape fields in the previous year can be expected to have more flea beetles and more parasitoids. For pollen beetle and cabbage seed weevil, inter-annual changes in oilseed rape area is a good predictor, so that more pests and parasitoids are found in fields in landscapes where the oilseed rape area has been reduced ("crowding") than in fields in landscapes, where the oilseed rape area has increased ("dilution"). For all three pests, more parasitoids are found in landscapes with more uncropped areas. In conclusion, there are no associations simple and consistent enough to be used in designing landscape for pest control, apart from securing sufficient areas of uncropped areas well distributed in the local landscape.

The work with DNA-based methods for research and monitoring demonstrate, that it is possible to develop "tailor made" primers to target a small range of relevant species. In this case the most important and frequently occurring parasitoid species were successfully detected in bulk samples from field water traps, which traditionally are time consuming and messy to work with.

4. Baggrund og formål

4.1 Skadedyr i raps – hvad er problemet?

Vinterraps tegnede sig i 2022 for 10% af omdriftsarealet i Danmark og for en trediedel af den samlede belastning med insekticider (Miljøstyrelsen, 2024). 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, skulpesnudebille, skulpegalmyggen og bladribbesnudebille, som angriber rapsen over en lang periode fra afgrødens etablering i efteråret gennem forårets vækst, blomstring og frøsætning. Selvom skadedyrene varierer i absolut betydning mellem år og mellem landsdele, er der bred enighed om deres relative betydning (tabel 1). For disse fem 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 årlige 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. De tre arter fremhævet med **fed** indgår i projektet.

Skadedyr	Betydning i DK ¹⁾ 1 = størst	Insekticidresistens i Europa/ Danmark ²⁾⁽³⁾	Landmænds adgang til beslutningsstøtte
Rapsjordloppe <i>Psylliodes chrysocephala</i>	1	+ /(+)	Registreringsnet Bekæmpelsestærskel
Glimmerbøsse <i>Meligethes aeneus</i>	2	+ / +	Bekæmpelsestærskel
Skulpesnudebille <i>Ceuthorynchus obstrictus</i>	2	+/-	Bekæmpelsestærskel
Skulpegalmyg <i>Dasineura brassicae</i>	3	-	Temperaturbaseret prognose for flyvning
Bladribbesnudebille <i>Ceuthorynchus 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 over for de insektmidler, der er til rådighed for landmændene, og det vurderes at hovedparten af rapsarealet i Europa er berørt af resistens overfor insektmidler (EIP-AGRI, 2016). Situationen i eksempelvis Tyskland er forværret indenfor det seneste årti, så der nu ikke kan findes glimmerbøsse populationer, der er følsomme overfor pyrethroider (Brandes & Heimbach, 2018b), og i rapsjordloppen og skulpesnudebille er der ligeledes konstateret udbredt resistens (Willis *et al.*, 2020; Heimbach & Brandes, 2016). I Danmark er der set resistens overfor pyrethroider i både glimmerbøsser og rapsjordloppen (Højland & Kristensen, 2018; Kaiser *et al.*, 2018). Mulighederne for at forebygge fremtidig resistensudvikling ved at skifte mellem insekticider begrænses af et snævert udbud af insekticider med forskellige virkningsmekanismer. Der er derfor et påtrængende behov for, at det sideløbende med udvikling af monitoring, 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 ved parasitering slår skadedyrene ihjel. Snyltehvepsenes parasitering af de fem vigtigste skadedyr er veldokumenteret i andre europæiske lande, og parasiteringsgraden ligger i usprøjtede marker ofte over det kritiske niveau på ca. 30%, der

antages at kunne begrænse skadedyrenes populationer (Hawkins & Cornell, 1994). En praktisk anvendelse af den omfangsrige viden om de relevante snyltehvepse, fx som en faktor i landmænds beslutninger om insekticidsprøjtning, begrænses imidlertid af mangel på dokumentation af parasiteringens effekt på populationen af skadedyrene (Heimbach et al., 2016).

Første skridt for at udnytte den naturlige skadedyrsbekæmpelse 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.

De specialiserede snyltehvepse, der ses i tabel 2, er gode kandidater til "conservation biological control", dvs. udnyttelse af eksisterende naturlige fjender (Stenberg et al., 2021). I 2018 viste et pilotprojekt "Snyltehvepse i raps" (Langer & Lund, 2021), at rapsjordloppens vigtigste snyltehveps var tidligt fremme, var udbredt og at der var stor variation mellem marker i parasiteringsgraden (dvs. andelen af skadedyr, der er angrebet af snyltehvepse) fra 0% til 60% af rapsjordloppelarverne (Bak and Wildt, 2018).

På grund af snyltehvepsenes biologi kan opgørelser af forekomst og parasiteringsgrad ikke oversættes direkte til simple kontrolstrategier. Udfordringen ved at operationalisere disse resultater er, at det er vanskeligt både at forudsige og kvantificere snyltehvepsenes reelle populationseffekt i en konkret situation, og at naturlig regulering derfor i landmandens beslutninger kommer til kort, når der sammenlignes med traditionel skadedyrsbekæmpelse med skadetærskler og pesticidanvendelse. Derfor skal naturlig regulering kommunikeres med andre ord og vurderes efter andre kriterier end pesticidanvendelse. Der er behov for at dokumentere og synliggøre tilstedeværelsen af snyltehvepsene i marken og deres effekter på skadedyrene i et område over tid. Kommunikationen omkring snyltehvepse skal formidle, at landmænd ved at understøtte og beskytte deres "lokale bestand af snyltehvepse" kan træffe kloge beslutninger om pesticidanvendelse. Derfor er der også et behov for udvikling af DNA baserede monitoringsmetoder, der kan gøre det nemmere at synliggøre og mindske den barriere, som udgøres af besværligheder ved morfologisk identifikation

På denne baggrund var formålet med projektet at besvare følgende spørgsmål om snyltehvepse i danske rapsmarker:

1. Hvor udbredte er vigtige snyltehvepse på rapsjordloppe, glimmerbøsse og skulpesnudebille?
2. I hvilken grad parasiterer snyltehvepsene de tre skadedyr?
3. Hvilke landskabsfaktorer er associeret med forekomst og parasitering af de tre skadedyr og deres snyltehvepse?
4. Kan DNA baserede identifikationsmetoder være nyttige til påvisning af snyltehvepse i fremtidig forskning og monitoring af rapsskadedyr og deres snyltehvepse?

4.2 Snyltehvepse som naturlige fjender – det generelle

I det følgende gennemgås de grundlæggende biologiske træk ved de mest udbredte snyltehvepse, der angriber rapsjordloppen, glimmerbøssen og skulpesnudebille. Fokus er på de træk, der er relevante for forståelsen af snyltehvepsenes potentielle rolle i den naturlige regulering af disse tre skadedyr, ikke mindst snyltehvepsenes brug af landskabet og deres samspil med skadedyrene både gennem sæsonen og fra år til år, som gør det vanskeligt i praksis at forudsige deres potentiale som biologisk bekæmpelse. En detaljeret gennemgang af rapsskadedyrenes snyltehvepse kan findes i Ulber et al. (2010).

4.2.1 Typer af snyltehvepse

Snyltehvepsenes styrker og svagheder som biologiske bekæmpelsesorganismer af rapsskadedyr hænger tæt sammen med, hvordan de interagerer med skadedyret, og det er nyttigt at fokusere på nogle simple forskelle inden for gruppen af rapssnyltehvepse. Snyltehvepse kan være solitære eller selskabelige, afhængig af hvor mange snyltehvepse der normalt klækker fra en enkelt vært. Alle de vigtige rapssnyltehvepse er solitære. Desuden kan de være enten endo- eller ektoparasitter, afhængig af om snyltehvepsens larve udvikler sig inden i eller udenpå skadedyret, og de kan have én eller flere generationer årligt. Endelig kan de være koinobionte eller idiobionte, afhængig af om udviklingen af snyltehvepsen "afventer", at skadedyrslarven fuldender sin udvikling, eller om snyltehvepselarven "slår til" med det samme. De mest udbredte snyltehvepse og deres karakteristika ses i tabel 2.

4.2.2 Fælles biologiske træk for snyltehvepse på rapsjordloppe, glimmerbøsse og skulpesnudebille

De hyppigst forekommende snyltehvepsesarter relateret til de tre rapsskadedyr angriber alle deres vært i larvestadiet med undtagelse af *Phradis interstitialis*, som også angriber æg af glimmerbøssen (tabel 2).

TABEL 2. Biologiske karakteristika for de 10 vigtigste arter af snyltehvepse i raps i Europa.

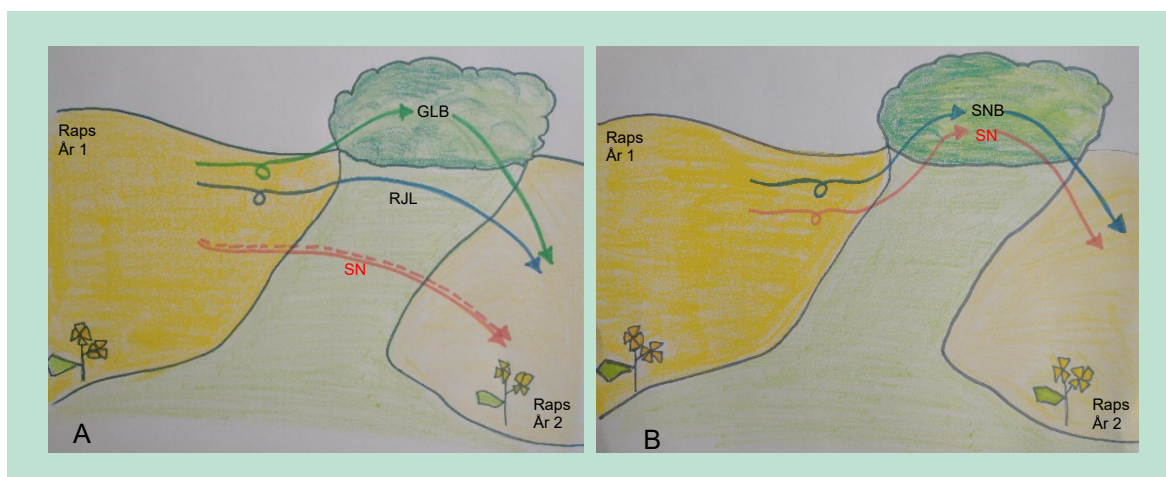
Skadedyr	Snyltehveps	Antal generationer pr år	Endo/ Ekto- parasit	Hvornår ses effekt?
Rapsjordloppe	<i>Tersilochus microgaster</i>	1	Endo	Året efter
Glimmerbøsse	<i>Phradis interstitialis</i>	1	Endo	Året efter
	<i>Phradis morionellus</i>	1	Endo	Året efter
	<i>Tersilochus heterocerus</i>	1	Endo	Året efter
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
Bladribbesnudebille	<i>Tersilochus obscurator</i>	1	Endo	Året efter
Skulpegalmyg	<i>Omphale clypealis</i>	Flere	Endo	Året efter
	<i>Platygaster subuliformis</i>	Flere	Endo	Året efter

Snyltehvepsearter af slægterne *Tersilochus* og *Phradis*, der er knyttet til rapsjordloppe og glimmerbøsse, 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 skadedyrslarverne fortsætter deres udvikling og fødeindtag og dermed deres skade på afgrøden, også efter at snyltehvepsen har lagt æg i dem (koinobiont)(figur 1). Den videre udvikling til voksen snyltehveps begynder først i det øjeblik, hvor den parasiterede værtslarve, ligesom de ikke-parasiterede larver, forlader rapsplanten 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 overvintrere enten i udyrkede områder eller, i rapsjordloppens tilfælde, i den nyetablerede, angrebne rapsmark. I de parasiterede rapsjordloppe- eller glimmerbøsselarver fuldender snyltehvepsen sin udvikling i værtsens kokon og overvintrer i denne som voksen i jorden. Den voksne snyltehveps klækker fra kokonen det følgende forår og lokaliserer derefter den nye rapsmark (figur 2A). For rapsjordloppens og glimmerbøssens snyltehvepse ses effekten af parasiteringen således først på antallet af skadedyr, der angriber afgrøden den følgende sæson.

Et helt andet billede ses hos skulpesnudebillens tre snyltehvepsearter, *Trichomalus perfectus*, *Mesopolobus morys* og *Stenomalina gracilis*, som klækker fra rapsskulperne inden høst. Disse er alle idiobionter, dvs. at værtslarvens udvikling og ædeaktivitet stopper, når snyltehvepsen lægger sit æg i larven (figur 1). I modsætning til *Tersilochus* og *Phradis*-arterne kan parasiteringen således reducere skulpesnudebillens skade allerede samme år. Kendskabet til disse tre arters livscyklus er sparsom, men ifølge europæiske undersøgelser har de sandsynligvis flere generationer om året og overvintrer fortrinsvis som voksne i udyrkede områder (figur 2B)(Ulber et al., 2010).



FIGUR 1. To typer snyltehvepse, der er karakteriseret ved forskelligt samspil med deres vært. Eksempler på idiobionte ektoparasitoider er skulpesnudebillens snyltehvepse (*Trichomalus perfectus*, *Stenomalina gracilis* og *Mesopobolus morys*), mens rapsjordloppens og glimmerbøssens snyltehvepse (*Tersilochus microgaster*, *Tersilochus heterocerus* og *Phradis interstitialis*) alle er koinobionte endoparasitoider (tabel 2).



FIGUR 2. Rapsskadedyrene (RJL=rapsjordloppe, GLB=glimmerbøsse, SNB=skulpesnudebille) og deres snyltehvepse (SN)(røde pile) bruger landbugslandskabet forskelligt. (A) Rapsjordloppens og glimmerbøssens snyltehvepse er stærkt knyttet til rapsmarker, hvori de overvintrer, mens skulpesnudebillens snyltehvepse overvintrer i udyrkede arealer (B).

Hvordan finder snyltehvepsene deres værter? Lokalisering af vært og mobilitet

Fælles for de tre skadedyrs snyltehvepse er, at de har effektiv værtssøgning (Williams & Ferguson, 2010) og stor mobilitet. Den almindelige antagelse har været, at snyltehvepse bruger landskabet på mindre skala end skadedyrene, men flere studier tyder på, at de hyppigst forekommende snyltehvepse i raps er gode flyvere og stærke værtsfindere (Berger,

2019; Rusch et al., 2011). Baseret på eksisterende undersøgelser af snyltehvepsenes bevægelser i landskabet er der nu almindelig enighed om, at områder med en diameter på 1-2 km er mest relevante, når man undersøger sammenhænge mellem det lokale landskab og snyltehvepsenes betydning som biologisk bekæmpelse i raps (Thies & Tscharncke, 2010).

Efter klækning fra sidste års rapsmark eller fremkomst fra overvintringsstedet søger de voksne snyltehvepse efter indeværende års rapsmarker (figur 2). Mekanismerne ved snyltehvepsenes lokalisering af værtsplanter og derefter af værter er ikke velbelyst for alle de vigtige arter af snyltehvepse, men den foreliggende dokumentation giver et billede af en gruppe snyltehvepse, der kan bevæge sig over betydelige afstande og lokalisere rapsen ligesom de skadedyr, de parasiterer (Williams & Cook, 2010). Vindtunnelforsøg har vist, at mange af snyltehvepsesarterne bruger duft til at finde værtsplanten og sandsynligvis kan skelne mellem rapsblomster og –blade, angrebet og beskadiget af skadedyr (Berger et al., 2015). For tre af snyltehvepsene, *Phradis interstitialis*, *Tersilochus obscurator* og *Platygaster subuliformis*, som parasiterer hhv. glimdebøsse, bladribbesnudebille og skulpegalmug, er det yderligere bekræftet i markforsøg, at snyltehvepsene lokaliserer rapsmarken ved såkaldt "upwind anemotaxi". Upwind anemotaxi ses også hos mange af skadedyrene på korsblomstrede planter og består i, at skadedyr eller snyltehveps konsekvent flyver mod vinden og ved hjælp af flyvning på tværs af vinden hele tiden holder sig inde i rapsens duftfane (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 er blevet tolket således, at de voksne snyltehvepse har brug for at indtage føde inden eller parallelt med deres æglægning i værtslarverne, og at de således skifter mellem fødesøgning og værtssøgning. Denne tolkning bekræftes af, at glimdebøssesnyltehvepsen *T. heterocerus* ser ud til at klække fra sidste års rapsmark med meget små sukkerreserver, men at den åbenbart er i stand til at "tanke op" inden den ankommer til den nye rapsmark 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). Hvorvidt det samme gælder for rapsjordloppens snyltehveps, *T. microgaster*, som bevæger sig fra sidste års rapsmark til dette års rapsmark meget tidligt på foråret, hvor blomsterressourcerne er små, vides ikke, men vil være relevant for fremtidige strategier for beskyttelse og understøttelse af snyltehvepspopulationerne.

4.2.3 Parasitering

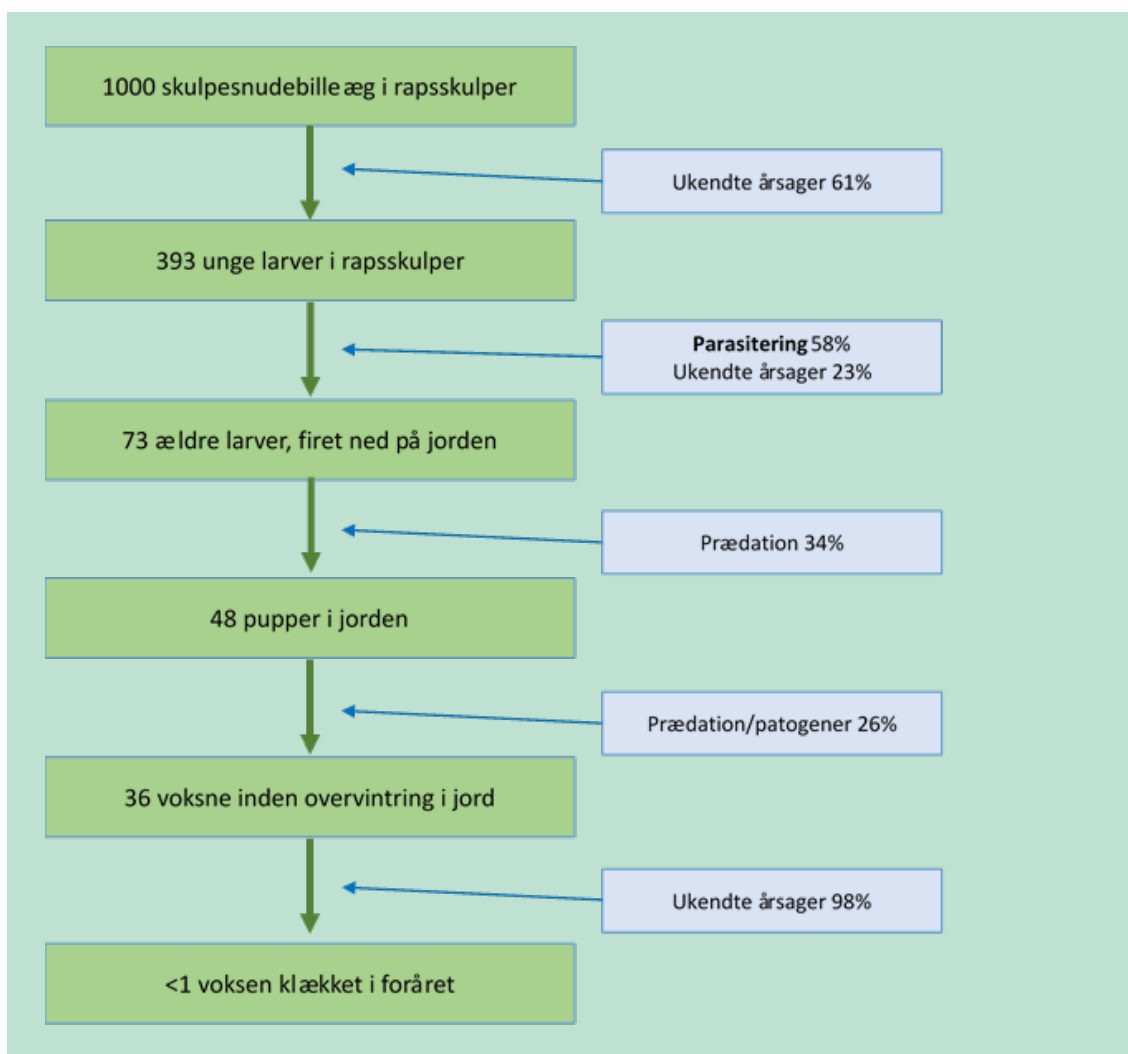
4.2.3.1 Mål for snyltehvepses forekomst og aktivitet

Snyltehvepses antal og aktivitet kan beskrives fra to vinkler: 1) hvordan påvirker snyltehvepsene populationen af det skadedyr, de er knyttet til (værterne rapsjordloppe, glimdebøsse og skulpesnudebille) i det samme og det følgende år, samt 2) hvordan opretholder snyltehvepsene deres egen population, specifikt hvor succesfuldt udnytter snyltehvepsene det udbud af værter, der er til rådighed, til at reproducere sig selv.

Parasiteringsgrad

Snyltehvepses påvirkning af en værtspopulation opgøres traditionelt ved at opgøre parasiteringsgraden, dvs. andel af skadedyrene, der er parasiteret og derfor antages at dø. I de fleste undersøgelser af skadedyr og deres snyltehvepse antages det implicit, at en høj parasiteringsgrad har potentiale til at reducere eller ovenikøbet regulere skadedyrspopulationen. Som Kidd & Jervis (2007) påpeger, skal mortaliteten forårsaget af parasitering imidlertid ses i sammenhæng med anden mortalitet, som skadedyrene rammes af igennem alle deres livsstadier. Derudover har nogle snyltehvepse andre negative effekter på skadedyrene end selve parasiteringen, fx at de voksne snyltehvepse æder direkte på værtslarver (host-feeding). I sådanne tilfælde vil man underestimere snyltehvepsenes effekt på skadedyret, hvis man udelukkende ser på parasiteringsgraden (Kidd & Jervis, 2007).

Der foreligger kun få grundige populationsundersøgelser for de tre aktuelle skadedyr, hvor parasiteringen indgår sammen med andre mortalitetsfaktorer, fx prædatorer, sygdomme og overvintringsdødelighed. Parasiteringsgraden har derfor været opfattet som et mål for den potentielle betydning af parasiteringen for skadedyrspopulationen, men det vil i mange tilfælde være en forsimplet slutning. Dette kan illustreres af en række populationsundersøgelser af skulpesnudebiller, der viser betydningen af parasitering sammen med andre faktorer (Haye et al., 2010). De viser, at under 1% af de skulpesnudebilleæg, der lægges i rapsskulperne i forsommeren, overlever til voksenstadiet det følgende forår. Som det ses i figur 2, dør knap 50% af populationen af skulpesnudebiller i æg-, larve- og puppestadiet, hvor mortaliteten i gennemsnit udgør hhv. 9-12% i ægstadiet, 25-28% i larvestadiet og 4-6% i puppestadiet. De resterende 50% af de oprindelige individer dør i løbet af vinteren. Selvom parasiteringsgraden af skulpesnudebillelarverne isoleret set er høj (60-70% af larvestadiet), udgør den således en mindre del (7-15%) af den totale mortalitet (Haye et al., 2010).



FIGUR 3. Eksempel på simpel life-table for skulpesnudebille (*Ceuthorrhynchus obstrictus*) baseret på data fra fem populationer i Schweiz 2006 (Haye et al., 2010). Blå bokse viser mortaliteten indenfor det enkelte livsstadie. Det ses, at dødelighed under overvintring er den vigtigste populationsregulerende faktor, mens parasitering af snudebillelarverne samlet set udgør 15% af den totale mortalitet.

Hvordan opgøres parasiteringsgraden og hvor sikker er den?

Metoder til opgørelse af parasiteringsgraden afhænger af, hvilken type snyltehvepse der er tale om. For ektoparasitoiderne, fx på skulpesnudebille, er opgørelsen simpel. Her kan parasiteringsgraden nemt bestemmes ved klækning af ikke-parasiterede snudebillelarver og voksne snyltehvepse fra rapsskulperne. For disse idiobionte snyltehvepse, der dræber deres vært straks, er parasiteringen desuden en "bekæmpelseseffekt" på linje med et insekticid, idet skadedyrets skadevirkning på afgrøden og den overlevende population af skadedyret reduceres.

For de koinobionte endoparasitoider, som for rapsskadedyrene omfatter de vigtigste snyltehvepse på rapsjordlopper og glimmerbøsser, opgøres parasiteringsgraden derimod oftest ved dissektion af værtslarven (Ferguson et al., 2006). Kun yderst sjældent opgøres parasiteringsgraden ved klækning af snyltehvepse fra værtslarven, fordi snyltehvepsene først klækker det følgende forår og derfor skal overvintres i laboratoriet med alle de tekniske udfordringer, det giver. De få studier, der har gennemført overvintring og klækninger under kontrollerede forhold, har fundet lave og meget variable andele af snyltehvepse, der klækker (Barari et al., 2004).

Ved dissektion af værtslarverne opgøres parasiteringsgraden som andelen af larver, der indeholder et eller flere snyltehvepseæg eller -larver. Parasiteringsgraden er et øjebliksbillede af antallet af indsamlede larver, der på indsamlingstidspunktet er parasiteret. Timing af indsamlingen af værtslarver er derfor af stor betydning. Parasiteringsgraden kan underestimeres effekten, hvis populationen af larver endnu ikke har nået det larvestadie, der foretrækkes af snyltehvepsen. Alternativt kan det fejlestimeres, hvis de tidligst udklækkede værtslarver har forladt planterne og er "gået i jorden" inden indsamlingen, som det ses hos rapsjordloppen og glimmerbøsser. Derudover siger parasiteringsgraden noget om, hvilke

skadedyrslarver der indeholder snyltehvepseæg eller –larver, men ikke noget om succesraten for reproduktion af snyltehvepse fra de angrebne værtslarver, dvs. om de parasiterede værtslarver altid dør og hvorvidt de producerer nye snyltehvepse. De to vigtigste årsager til denne usikkerhed, som behandles i det følgende afsnit, er superparasitering (at snyltehvepsen lægger mere end ét æg i værten og således "spilder" sine æg) og indkapsling (at værtslarven med sit immunsystem uskadeliggør snyltehvepseæg og –larver i sin krop) (Box 2 og 3).

Box 1 Hvad betyder parasitering for skadedyrspopulationen?

Når man skal vurdere potentialet for biologisk bekæmpelse hos eksempelvis en snyltehveps, forsøger man at kvantificere, hvad snyltehvepsens parasitering betyder for populationen det aktuelle skadedyr. De fleste undersøgelser af parasitering begrænser sig, ligesom i dette projekt, til en opgørelse af parasiteringsgraden af et bestemt stadie, fx larvestadiet, i en bestemt kontekst. Parasiteringsgraden giver ikke nødvendigvis et retvisende billede af, om parasiteringen spiller en rolle for skadedyrets population over en årrække, fordi parasiteringen kun er én af mange årsager til skadedyrets død (Macfadyen et al., 2015). Nedenfor illustreres to måder, hvorpå parasiteringsgraden kan indgå i en vurdering af snyltehvepses betydning for skadedyr.

Livstabeller

En livstabel (life table) for et skadedyr viser, hvordan de forskellige stadier (æg, larve, puppe og voksen) er udsat for dødelighed gennem en generation, som for de tre skadedyr, der er undersøgt her, er et år. Typisk følger man en kohorte bestående af fx 1000 æg af skadedyret, der bliver lagt ved sæsonens start. Derefter beskrives dødeligheden, både indenfor det enkelte udviklingsstadium og for hele generationen, af forskellige mortalitetsårsager, fx andelen af skadedyr, der dør af parasitering, bliver ædt af prædatorer eller dør af svampesygdomme. Livstabeller illustrerer således, at parasitering blot er én af mange mortalitetsfaktorer, hvoraf mange kan være vigtigere. For en stor del af dødeligheden, især vintermortaliteten, kender man ikke de præcise årsager. I figur 3 ses et eksempel på en livstabel for skulpesnudebillen.

Kritisk grænse for populationseffekter

En anden og ofte citeret tilgang bygger på den antagelse, at der for ethvert snyltehveps-vært forhold er en stabil andel af værterne, der kan undslippe parasitering på grund af deres biologi, uanset hvor mange snyltehvepse, der er tilstede. På basis af et stort antal eksempler på parasiteringsgrader af skadedyr opnået ved introduktion af snyltehvepse som biologisk bekæmpelse blev det undersøgt, om den biologiske bekæmpelse var en succes eller en fiasko, altså om "det virkede" (Hawkins et al., 1993; Hawkins & Cornell, 1994). Det blev konkluderet, at der sjældent ses "succesfuld biologisk bekæmpelse", hvis den maksimale parasiteringsgrad er under 32%. Tilgangen blev meget diskuteret, da den blev publiceret i 90'erne (Hawkins, 1994; Myers et al., 1995; Williams & Hails, 1995), men de ~32% er siden blevet udbredt citeret som en tommelfingerregel (fx Thies et al., 2008; Krimmer et al., 2021), dog uden særlig præcise angivelser af, hvordan den skal forstås (Macfadyen et al., 2015). I diskussionen nævnes både 30% (Hawkins, 1994) og 32% (Hawkins & Cornell, 1994), og der synes ikke at være behov for en mere præcis grænse, givet at variationen er betydelig. I denne rapport bruger vi en parasiteringsgrad på 32% som "kritisk grænse" for populationseffekter, først og fremmest for at illustrere forskelle i parasiteringsgraden i de tre skadedyr, der er undersøgt her (se figur 30-35, bilag 1).

Superparasitering og indkapsling

Superparasiterede larver af glimmerbøsser eller rapsjordlopper er larver, hvori der findes flere snyltehvepseæg eller – larver (box 2). Jourdeuil (1960) fandt ved dissektion af 83 rapsjordloppelarver, at næsten halvdelen af de 67% parasiterede jordloppelarver var superparasiterede med mellem 2 og 8 snyltehvepse. Også Ulber et al. (2010) angiver, at superparasitering forekommer hyppigt for både rapsjordloppe- og glimmerbøsselarver, selv ved lave parasiteringsgrader. Ved høje parasiteringsgrader, fx 97%, kan 95% af glimmerbøsselarverne indeholde mere end ét snyltehvepseæg (Williams, 2006).

Traditionelt har man opgjort parasiteringsgrad som tilstedeværelse af snyltehvepseæg eller -larver i skadedyret, med den antagelse, at alle snyltehvepse fuldfører deres udvikling og dræber deres vært. Nogle værter kan imidlertid med deres immunforsvar forsvare sig mod parasitering ved at indkapsle det fremmedlegeme, som snyltehvepsens æg eller larver udgør (box 3). Jourdeuil (1960) dokumenterede gennem meget detaljerede undersøgelser, at fx rapsjordloppens larver er i stand til at indkapsle æg og larver af snyltehvepse i løbet af få dage. Der foreligger imidlertid få senere undersøgelser af, i hvilken grad rapsjordloppens indkapsling af æg og larver af den væsentligste parasitoid *T. microgaster* spiller en rolle for parasiteringens effekt på populationen. I de fleste studier af parasitering af rapsjordloppen er der ikke skelnet mellem indkapslede og ikke-indkapslede æg. Ulber (2017) rapporterer, som en af de eneste, data fra 2002, der viser fordelingen af indkapslede og ikke-indkapslede æg i 352 parasiterede rapsjordloppelarver. Han finder cirka 25% rapsjordloppelarver med ét ikke-indkapslet snyltehvepseæg eller –larve, 50% med én ikke-indkapslet snyltehveps plus op til 4 indkapslede snyltehvepseæg eller –larver. I de resterende 25% rapsjordloppelarver er alle snyltehvepseæg og -larver indkapslede, og disse rapsjordloppelarver vil formentlig ikke dø, selvom de er parasiterede. Dette understøttes af, at Jourdeuil (1960) fandt voksne rapsjordlopper indeholdende indkapslede snyltehvepseæg. Fordelingen mellem indkapslede snyltehvepseæg, der uskadeliggøres af jordloppelarven og de, der overlever indkapslingen, er imidlertid ikke kendt. Man må dog antage, at rapsjordloppelarvernes evne til at indkapsle snyltehvepsenes tidlige stadier potentielt kan påvirke snyltehvepsenes populationseffekt i betydelig grad. Derudover tilføjer det en stor usikkerhed på parasiteringsopgørelserne, fordi fordelingen mellem indkapslede og ikke-indkapslede snyltehvepseæg og –larver ændrer sig på en ukendt måde over tid (box 3).

Box 2 Superparasitering: spild af snyltehvepseæg eller en god strategi?

Ved superparasitering har snyltehvepse placeret mere end ét æg i rapsjordloppe- eller glimmerbøsselarven. Æggene kan være placeret enten af samme voksne snyltehveps, eller flere æglæggende snyltehvepse har lagt ét æg hver i værten. Eftersom de aktuelle snyltehvepse er solitære, vil kun ét af æggene udvikle sig til en voksen snyltehveps, i modsætning til de såkaldte selskabelige snyltehvepse, hvor mange voksne snyltehvepse kan klækkes fra samme vært.

Set fra et bekæmpelsesperspektiv kan superparasitering anskues som et tab af bekæmpelseseseffekt, fordi færre skadedyr vil dø, end hvis snyltehvepsen kun placerer ét æg i hver larve. Samtidig reducerer superparasitering antallet af snyltehvepse, der klækker det følgende år. Biologisk set har superparasitering tidligere været set som en fejl fra snyltehvepsens side, som "spild" af æg. Det har imidlertid vist sig, at superparasitering ikke nødvendigvis skyldes, at snyltehvepsehunnerne ikke kan identificere allerede parasiterede værtslarver, idet den samme hun ofte selv lægger flere æg i samme værtslarve. Superparasitering anskues derfor også som snyltehvepsens strategi for at maximere overlevelsen af de æg, den lægger i værten. Det gælder især for værter, der er i stand til at indkapsle snyltehvepseæg og –larver, som fx rapsjordlopper og glimmerbøsser (box 3). Her formodes tilstedeværelsen af flere æg i samme værtslarve at kunne "udmatte" værtens immunforsvar og dermed øge chancen for, at andre snyltehvepseæg kan overleve og fuldende deres udvikling.

Box 3 Indkapsling er rapsjordloppens måde at undslippe snyltehvepsen

Rapsjordloppens larve er et eksempel på en vært, der er i stand til at afværge angreb af snyltehvepse og dermed overleve parasiteringen. Snyltehvepsen *Tersilochus microgaster* lægger sit hvide æg i rapsjordloppelarven, hvis immunsystem reagerer ved i løbet af få dage at indkapsle ægget, så det bliver sort. De nyklækkede snyltehvepselarver kan ligeledes blive indkapslede. Figur 6 og 7 viser æg og larver af *T. microgaster*, der er helt eller delvist indkapslede og som fremstår som sorte ved dissektion af værtslarven. Indkapslingen betyder i de fleste tilfælde, at snyltehvepsen stoppes i sin udvikling og ikke dræber rapsjordloppelarven. Effekten af parasiteringen på antallet af rapsjordlopper det følgende år reduceres således. Ligeledes bliver antallet af snyltehvepse, der klækkes det følgende forår, mindre.

Det giver derfor mening at tale om både brutto-parasiteringsgrad (% rapsjordloppelarver, der indeholder æg eller larver af snyltehvepse) og om effektiv parasiteringsgrad (% rapsjordloppelarver med mindst ét ikke-indkapslet snyltehvepseæg eller -larve) (Meloche & Guppy, 1990). Indkapslingen af snyltehvepsene er en proces, der foregår igennem hele rapsjordloppelarvens udviklingsperiode, og det er ikke velundersøgt, hvor stor en andel af de indkapslede snyltehvepse, der alligevel overlever og dræber værten. Derfor er forskellen mellem brutto- og effektiv parasiteringsgrad usikker, og opgørelsen af den afhænger af opgørelses-tidspunktet.

4.3 De tre skadedyr og deres snyltehvepse

Biologien af de tre undersøgte skadedyr og deres snyltehvepse er yderst detaljeret gennemgået i "Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests" (ed. Williams, 2010) og "Biocontrol of Oilseed Rape Pests" (ed. Alford, 2003). Nedenfor opsummeres derfor kun de træk ved de tre skadedyrs biologi, der har betydning for samspillet med deres respektive snyltehvepse.

4.3.1 Rapsjordloppen og dens snyltehvepse

Voksne rapsjordlopper indvandrer i eftersommeren i nyetablerede rapsmarker, begnaver de nyfremspirede rapsplanter og lægger æg ved planternes rodhals. De klækkede larver overvintrer siddende i bladstilke på de unge rapsplanter. De voksne rapsjordlopper bekæmpes med insekticider om efteråret på basis af monitoring i registreringsnettet i september-oktober. Udviklingen fra æg til larve strækker sig således over en lang periode (Mathiasen, 2015), og synkronisering mellem rapsplanternes udvikling og jordloppens indflyvning og æglægning, variation i vintertemperaturer samt i rapsplanternes evne til at kompensere for skader resulterer i store variationer i skadens omfang og den resulterende udbyttereduktion forårsaget af rapsjordlopper (Conrad et al., 2021)

Tidligt på foråret angribes rapsjordloppelarverne af snyltehvepsen *Tersilochus microgaster*, som på dette tidspunkt klækkes fra sidste års rapsmark og flyver ind i den nyetablerede rapsmark (figur 2A). *T. microgaster* angives at være langt den vigtigste af de snyltehvepse, der angriber rapsjordlopper (Ulber et al., 2010). Flere studier, herunder et tidligere dansk pilotstudie finder nyklækkede voksne snyltehvepse i nyetablerede rapsmarker næsten samtidig med, at de klækkes fra sidste års rapsmark i nærheden, hvilket tyder på, at de både er mobile og effektive i lokalisering af værtsplanter (Langer & Lund, 2021). Snyltehvepsenes ankomst til 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 understøttes af, at vi i pilotprojektet så de første *T. microgaster* allerede 8-9. april i nye rapsmarker på flere lokaliteter, efter en kold marts måned med sne ved månedsskiftet, fulgt af tre varme dage (Langer & Lund, 2021).

4.3.2 Glimmerbøssen og dens snyltehvpese

De voksne glimmerbøsser ankommer fra overvintringssteder i udyrkede arealer til den nye vinterrapsmark tidligt på vækstsæsonen, mens rapsplanterne er i det tidlige knopstadium (figur 2A). Den voksne glimmerbøsse angives at kunne bevæge sig >10 km (Taimr et al., 1967), men bevæger sig i foråret ofte kun et par km fra overvintringsstedet i skov og andre uforstyrrede steder til rapsmarken (Juhel et al., 2017). De voksne glimmerbøsser lægger æg over en lang periode, og larverne opholder sig først i knopperne, senere i blomsterne. På et givet tidspunkt vil man derfor kunne finde både små første stadie larver og de større andet stadie larver i rapsen. Skaden på rapsplanterne er afhængig af antallet af larver, af rapsplanternes udviklingstrin og af planternes evne til at kompensere. Hen over hele perioden angribes glimmerbøsselarverne af snyltehvpese, hvoraf *T. heterocerus* og *Phradis*-arter er de vigtigste. De er nært beslægtede med *T. microgaster*, der angriber rapsjordloppen, og flyver ligesom denne til årets rapsmark fra sidste års rapsmarker i lokalområdet.

4.3.3 Skulpesnudebiller og dens snyltehvpese

Både skulpesnudebiller og dens snyltehvpese indvandrer i foråret til rapsmarken fra overvintringssteder i udyrkede arealer (figur 2B). Skulpesnudebiller lægger æg i de unge skulpter, og larverne æder frøene. Når larven er fuldt udviklet, forlader den skulpen ved at gnave sig gennem skulpevæggen og fire sig ned til jordoverfladen, hvor den forpupper sig i de øverste jordlag. Normalt lægges kun et enkelt snudebilleæg i hver skulpe, idet snudebiller efter æglægning afsætter et duftstof på skulpen, som afholder andre snudebiller fra at lægge æg i samme skulpe. Biologien af de tre hyppigst forekommende snyltehvpese, *Trichomalus perfectus*, *Mesopolobus morys* og *Stenomalina gracilis*, antages at være nogenlunde ens, men er ikke velbelyst. Fx vides det ikke, om voksne snyltehvpese af de tre arter har behov for nektar og pollen som fødekilder (Hausmann & Brandes, 2022). Snyltehvpesehunnerne lokaliserer skulpter angrebet af snudebillelarver med deres følehorn (Kozłowski et al., 1983) og lægger æg i skulpterne udefra. I modsætning til de snyltehvpese, der angriber glimmerbøssen og rapsjordloppen, æder snyltehvpesens larve sin værtslarve med det samme, dvs. at snudebillelarven straks holder op med at æde rapsfrø og skaden dermed reduceres.

4.4 Identifikation af rapsskadedyrenes snyltehvpese – en barriere i forskning og forsøg

Både i forskning og i monitoring udgør morfologisk identifikation af snyltehvpese en betydelig barriere, fordi det kræver stor taksonomisk ekspertise og er tidskrævende, selv hvis man har stor erfaring. For de snyltehvpese, vi arbejder med i dette projekt, ligger udfordringerne især i undersøgelserne af de voksne snyltehvpes forekomst i marken og mindre i opgørelsen af parasitering af deres værter, rapsskadedyrene. Udfordringen er at kunne identificere relevante voksne snyltehvpeseindivider (dvs. voksne snyltehvpese, der parasiterer de vigtige rapsskadedyr) fra de vandfælde, vi har anvendt i feltarbejdet og som indeholder en mængde andre insekter. Eksempelvis har det tidligere været anset for meget vanskeligt morfologisk at adskille to af de hyppigst forekommende snyltehvpese, *Tersilochus microgaster*, som parasiterer rapsjordloppen, og *T. obscurator*, som parasiterer bladribbesnudebiller (Barari et al., 2005). Det skyldes, at de to arter har betydelige overlap i de morfologiske kendetegn, som bruges til at adskille dem. Ved hjælp af DNA-baseret identifikation har man kvantificeret disse overlap og omskrevet bestemmelsesnøglerne, således at man ved at bruge flere karakterer kan få en artsidentifikation på højde med en DNA-baseret identifikation (Barari et al., 2005; Ferguson et al., 2010).

Udfordringerne med at identificere relevante snyltehvpese i blandede fældefangster ligner dem, man har i plantesundhedskontrollen, hvor man bl.a. overvåger forekomsten af skadevoldende og potentielt invasive arter (Batovska et al., 2021), eller i naturbeskyttelse, hvor truede insektarter monitoreres, fx i ferskvand (Thomsen et al., 2011). Samme problemer giver undersøgelser af sammensætningen af bestøverpopulationer (Tang et al., 2015) eller undersøgelser af samspil mellem insekter, fx bladlus, deres snyltehvpese, hyperparasitoider og bakterielle endosymbionter (Ye et al., 2017). I alle disse tilfælde ønsker man at fastslå tilstedeværelsen og eventuelt mængden af nogle få arter i et stort og divers materiale og er ikke interesseret i andre organismegrupper eller i diversiteten i sig selv. Dette er et andet udgangspunkt end den tilgang, hvor det er den genetiske diversitet per se i materialet, der er interessant, fremfor sammensætningen af bestemte arter og slægter. Vi har således i projektet ønsket at udforske potentialet i DNA-baseret monitoring af nogle få, på forhånd kendte arter, både for at kvalitetssikre artsbestemmelsen (barcodes) og som redskab til at kunne analysere mange individer på en gang i bulk-prøver (vandfældefangster).

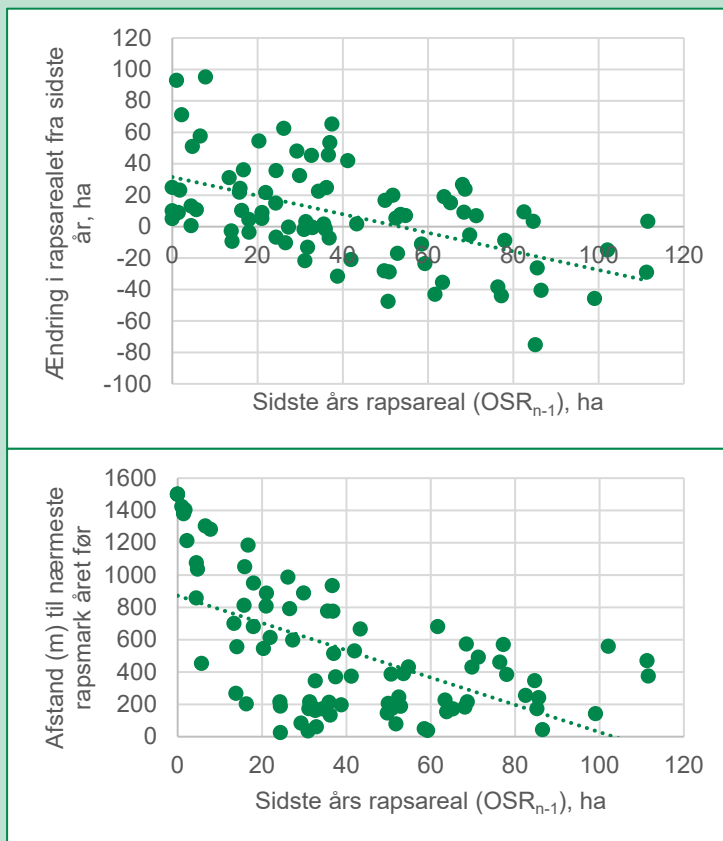
4.5 Landskabsfaktorer af betydning for forekomst og effekt af snyltehvepse

Både skadedyrene og deres snyltehvepse bevæger sig rundt i det lokale landskab og bruger de ressourcer (føde, værter og overvintringssteder), der findes i landskabet, afhængigt af deres udviklingsstadiet. Det lokale landskabs udyrkede arealer, fx småbiotoper og vedvarende græsarealer, er ret stabile fra år til år. Alligevel ændrer landskabet sig, set fra skadedyrenes og snyltehvepsenes synspunkt, fordi afgrøderne i de enkelte marker skifter fra år til år, og afgrødemosaikken og dermed adgangen til ressourcer i det lokale landskab således er dynamisk.

De fleste undersøgelser af sammenhænge mellem landskabsfaktorer og rapsskadedyrene og deres snyltehvepse konkluderer, at sammenhængen ikke er simpel, og at der er mere end én landskabsfaktor, der har betydning for skadedyret og dets snyltehvepse (se fx Rusch et al., 2011; Scheid et al., 2011; Thies et al., 2008; Berger et al., 2018; Kovacs et al., 2018). De hyppigst identificerede landskabsfaktorer af betydning for deres forekomst falder i to grupper: 1) rapsarealets størrelse, beliggenhed og drift i indsamlingsåret og det foregående år, samt 2) forekomsten og kvaliteten af udyrkede arealer.

Rapsjordloppen, glimmerbøssen og skulpesnudebillerne tilbringer alle en del af deres liv i udyrkede arealer, fx levende hegn eller skov, og flytter sig i løbet af deres liv rundt mellem disse arealer og vinterrapsmarkerne. I en række studier af rapsskadedyrenes brug af landskabet er rapsarealet, det foregående års rapsareal, ændringer i rapsarealet (øget eller reduceret areal) eller afstanden til sidste års rapsmarker undersøgt for deres sammenhæng med antallet af skadedyr (Sulg et al., 2024). I modsætning til rapsjordloppen og glimmerbøssen er rapsjordloppens og glimmerbøssens vigtigste snyltehvepsearter tæt knyttet til selve rapsafgrøden hele deres liv, idet de overvintrer i rapsmarker og blot flytter sig videre til næste års rapsmark om foråret. Forekomsten af både skadedyrene og deres snyltehvepse varierer således med en dynamisk rapsresource. De eksisterende undersøgelser benytter sig af en række forskellige variable, hvoraf mange er tæt forbundne, til at beskrive rapsressourcen, fx rapsarealet i indeværende år og i foregående år, ændringer i rapsarealet, afstand til sidste års nærmeste rapsmark mm. Deres indbyrdes afhængighed, som er illustreret i figur 3, forklarer formentlig, hvorfor der i landskabsstudier findes både positive, negative og ingen sammenhænge mellem eksempelvis dette års rapsareal og parasitering af fx glimmerbøsser (Berger, 2018).

En del studier undersøger, om afstanden til sidste års nærmeste rapsmark hænger sammen med snyltehvepsenes forekomst og aktivitet. Inden og under rapsens blomstring indvandrer de tre vigtigste arter snyltehvepse på rapsjordlopper (*Tersilochus microgaster*), og glimmerbøsser (*T. heterocerus* og *Phradis interstitialis*) fra den mark, hvori de det foregående år parasiterede hhv. rapsjordlopper og glimmerbøsser og derefter har overvintret. Derfor antages det, at rapsmarker med en lille afstand til sidste års rapsmark vil blive besøgt af flere snyltehvepse end rapsmarker med stor afstand til sidste års rapsmark. Rusch (2011) undersøgte parasitering af glimmerbøsser i 42 rapsmarker i to år i områder med lav eller høj tæthed af rapsmarker året før, og med stor eller lille landskabskompleksitet fra simple, åbne landbrugslandskaber til mere lukkede landskaber med op til 58% udyrkede arealer. De fandt, at parasiteringen af glimmerbøsser var højere i rapsmarker, hvis afstanden til sidste års rapsmark var lille og hvis andelen af udyrkede arealer i området var stor. Thies & Tcharntke (2010) fandt at udyrkede arealer understøttede snyltehvepse på glimmerbøssen. Desuden var der en fortyndingseffekt, der resulterede i lavere parasitering i rapsmarker beliggende i områder, hvor rapsarealet var øget siden sidste år, og vice versa. De konkluderede, at parasiteringsgraden på glimmerbøssen ikke oversteg de kritiske ~32% i områder, hvor udyrkede arealer udgjorde mindre end cirka 20% af det samlede areal eller hvis rapsarealet var markant øget fra sidste år til i år med mere end 5% af det samlede areal.



A

B

FIGUR 4. Sammenhænge mellem rapsrelaterede landskabsvariable i 85 områder (diameter 3000 m, areal ~700 ha) omkring 85 undersøgte rapsmarker i 2020 og 2021. A) Sidste års rapsareal og ændringer i rapsareal i 85 områder med radius 1500 meter ($y = -0.59x + 31.55$, $P < 0.0001$). Sidste års rapsareal og ændringer i rapsarealet fra år til år er tæt forbundne. I områder med store OSR arealer året før reduceres OSR arealet oftere end i områder med små OSR arealer. B) Sidste års rapsareal og afstand fra dette års fokusmark til nærmeste rapsmark året før. ($Y = -8.45x + 873$, $P < 0.0001$). Et stort rapsareal i fjor øger chancen for, at sidste års nærmeste rapsmark ligger tæt på dette års rapsmark.

5. Metoder

5.1 Lokalteter

Et af projektets formål er at kortlægge forekomsten af rapsskadedyrenes vigtigste snyltehvepse i danske vinterrapsmarker. I samarbejde med SEGES og lokale planteavlskonsulenter blev i 2020 udpeget 39 konventionelle rapsmarker i Registreringsnettet (<https://registreringsnet.dlbr.dk/#/home>) samt 5 økologiske marker. I 2021 blev der udpeget 29 konventionelle rapsmarker i Registreringsnettet samt 12 økologiske rapsmarker, i alt over de to år 85 marker (figur 5). I alle konventionelle rapsmarker blev der afmærket et areal på 720 m², der ikke blev sprøjtet med insektmidler i vækstsæsonen, dvs. fra rapsens etablering i efteråret.

I de 28 konventionelle marker beliggende i Midt- og Nordjylland (2020: 12 marker, 2021: 16 marker) blev indsamlingerne af planter til bestemmelse af angreb af rapsjordlopper, glimmerbøsser og skulpesnudebiller samt parasiteringsgrad foretaget af lokale konsulenter, der efter indsamlingerne fremsendte materialet til KU. I resten af landet blev indsamlingerne udført af KU efter samme protokol. I de 56 marker i Sydjylland og på Øerne blev der udover planteprøver indsamlet voksne snyltehvepse i vandfælder i 2020. For rapsjordloppen udgik en enkelt mark, mens der begge år udgik i alt 20 marker i indsamlingen af glimmerbøssen (7 marker i 2020; 13 marker i 2021) pga. problemer ved forsendelse af planteprøver (figur 29, bilag 1).



FIGUR 5. Lokalisering af marker i 2020 og 2021. Indsamling af rapsplanter til bestemmelse af angrebs- og parasiteringsgrad er sket i alle fire regioner (Sjælland, Fyn, Sydjylland og Midt-Nordjylland). Indsamling af voksne snyltehvepse i vandfælder i 2020 er kun gennemført i Sydjylland og på Øerne.

5.2 Forekomst af voksne snyltehvepse i danske rapsmarker

5.2.1 Indsamling og morfologisk identifikation

Voksne snyltehvepse blev indsamlet i fangbakker placeret i det usprøjtede areal i marken i 2020 med det formål at få et groft mål for diversiteten af snyltehvepse på den enkelte mark. Vandfælderne var udsat i tre perioder á tre dage samtidig med planteindsamlingerne, dvs. henholdsvis i slutningen af april, i midten af maj og i slutningen af juni. Fælderne blev

såvidt muligt udsat ved udsigt til tre dage med tørt og solrigt vejr. I hver mark blev udsat 3 gule plastikbakker (IKEA, mål 38 x 26 cm) fyldt med vand og sulfo (figur 5) med minimum 4 meters afstand. Fælderne var placeret på jorden i bunden af rapsafgrøden. Vandfældernes indhold blev ved indsamlingen 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 (figur 5). På grund af det store tidsforbrug ved morfologisk identifikation blev kun snyltehvepse indsamlet i 22 marker ved første indsamling i april identificeret. Identifikation til familie, slægt eller art med fokus på de hyppigst forekommende og mest relevante snyltehvepse blev udført af PhD Josef Berger, Lunds Universitet.



FIGUR 6. Indsamling og grovsortering af voksne snyltehvepse i rapsmarker. Vandfælder var eksponeret i tre døgn i hhv. maj, juni og juli 2020. Ved tømning blev indholdet siet i tre fraktioner, gemt i 70% alkohol og grovsorteret i laboratoriet.

5.2.2 DNA baseret identifikation

Valg af target

DNA-baseret artsbestemmelse af dyr tager normalt udgangspunkt i det såkaldte COI-gen fra mitokondrier (Cytochromoxidase subunit I) (Folmer et al., 1994). Genet findes i alle dyr og optræder kun i én genotype pr. individ (maternal nedarvning af mitokondrier). Specielt for insekter er det for nyligt blevet foreslået at bruge en del af det mitokondrielle 16S gen som et alternativ (Clarke et al. 2014; Elbrecht et al. 2016). I et tidligere projekt om snyltehvepse i raps (Langer & Lund, 2021) lykkedes det at artsbestemme individer fra syv kendte snyltehvepsearter i raps (tabel 3). Fra morfologisk artsbestemte dyr af hver af de syv arter blev efterfølgende sekventeret både et ca. 600 nukleotider (nt) langt fragment af COI-genet og et ca. 250 nt langt fragment af 16S-genet. Efter de indledende forsøg med PCR-amplifikation af mitokondrielt 16S DNA i dette projekt besluttede vi imidlertid at skifte til det fylogenetisk bedre undersøgte COI-gen. Årsagen til dette skift i target-sekvens skyldtes dels, at 16S sekvensen fungerede suboptimalt i selve PCR reaktionen og gav dårlig amplifikation, dels at det var vanskeligt at opnå selektivitet for snyltehvepse i forhold til andre insekter. Desuden anvendes COI-genet i de fleste fylogenetiske analyser af insekter, så de offentlige databaser er langt mere komplette for COI-genet sammenlignet med 16S sekvensen. De syv COI-fragmenter kunne alle matches til kendte verificerede sekvenser i kuraterede databaser, hvorimod de tilsvarende 16S fragmenter fra alle syv arter var nye (tabel 3).

TABEL 3. DNA-sekvenser opnået i Snyltehvepseprojekt 2017-18 (Langer & Lund, 2021). DNA-sekvenser af alle COI og 16S fragmenter er vist i Bilag 2.

Artsnavn	Individ-kode	COI-gen Antal nt sekventeret	16S gen Antal nt sekventeret
<i>Tersilochus heterocerus</i>	VL 17,2-1	696	262
<i>Tersilochus microgaster</i>	Sn6 2018	685	276
<i>Tersilochus obscurator</i>	VL17, 3-1	691	234

<i>Phradis interstitialis</i>	L17,4-1	692	245
<i>Trichomalus perfectus</i>	VL27,1	606	262
<i>Mesopolobus morys</i>	VL42,1-a	556	237
<i>Stenomalina gracilis</i>	VL64,1	249*	270

*For *S. gracilis* opnåedes kun en kort COI-sekvens (249 nt). En samlet længde på 640 nt sekvens af COI kunne dog opnåes ved at samle dette 249 nt fragment (VL64,1) med et overlappende 471 nt fragment for *Stenomalina gracilis* hentet fra Genbank (MG376218)

5.2.3 Detektion af rapssnyltehvepse i blandinger af insekter

Til bestemmelsen af snyltehvepsearter i blandinger anvendte vi amplikonsekventering, hvor DNA fra mange forskellige individer co-amplificeres i en indledende PCR reaktion, hvorefter op mod 100.000 DNA individuelle fragmenter fra PCR-reaktionen efterfølgende sekventeres individuelt og ved brug af bioinformatik grupperes i arter, så en artsfordeling kan ses. Med udgangspunkt i en tidligere anvendelse af metoden på svampe (Garcia-Lemos et al., 2019) udviklede vi en metode, målrettet mod snyltehvepse. Den bedst fungerende metode er baseret på co-amplifikation af et ca. 300 basepar langt fragment fra det mitokondrielle COI-gen (bilag 2). Forsøg på at bruge det andet mitokondrielle gen, 16S, som mål-gen for metoden gav imidlertid ikke tilfredsstillende resultater. Vi testede, om kendte arter af snyltehvepse kunne genfindes i blanding med hinanden (mock sample A) og i blanding med andre insekter (mock sample B). DNA i hver blanding blev ekstraheret, og der blev der kørt to uafhængige PCR-reaktioner (gentagelser), som efterfølgende blev amplikonsekventeret. Mock sample A bestod af en blanding af fire kendte arter af snyltehvepse (*T. heterocerus* (3 individer), *T. microgaster/obscurator* (3 individer, et artskomplex der er vanskeligt at adskille morfologisk), *T. perfectus* (4 individer) og *P. interstitialis* (3 individer)). Desuden blev en ukendt art af snyltehveps tilsat til blandingen (4 individer). Mock sample B var en blanding af to kendte arter snyltehvepse (*T. heterocerus* (5 individer) og *Trichomalus perfectus* (3 individer)) og 29 individer af ukendte mindre insekter indsamlet i vandfælder i rapsmarker.

5.2.4 Test af ikke-destruktiv DNA-ekstraktion

Vi testede en metode foreslået af Batovska et al. (2021) til målrettet at detektere invasive insektarter på et tidligt tidspunkt i deres optræden. Her ekstraheres DNA fra blandinger af insekter uden anvendelse af homogenisering. Fordelen ved metoden er, at post-ekstraktions eksemplarer af insekter bevares, så de kan gøres til genstand for dels fornyet morfologisk undersøgelse, dels fornyet ekstraktion for at confirmere tidligere resultater (Batovska et al., 2021). Metoden, som anvender en kommerciel ekstraktionsbuffer (Lucigen), blev testet på de ovenfor beskrevne mock samples A og B. Inden de to prøver, A og B, blev homogeniseret til DNA ekstraktion, foretog vi en ikke-destruktiv ekstraktion med Lucigen således at resultaterne kan sammenlignes.

5.2.5 Test af detektion af parasitering med amplikonsekventering

Parasitering af glimmerbøssens larve opgøres normalt ved manuel dissektion af enkeltlarver. De mørke æg af glimmerbøssens dominerende snyltehveps, *T. heterocerus*, kan normalt ses uden dissektion. Da man ikke kan se alle æg, vil en visuel opgørelse give et groft billede af parasiteringsgraden af *T. heterocerus*, som dog kan være underestimeret. Derudover parasiteres glimmerbøsser også af *Phradis interstitialis*, hvis æg er hvide og ikke kan opgøres uden dissektion. Vi ønskede at undersøge, om tilstedeværelsen af snyltehvepseæg i værtslarven gav tilstrækkeligt DNA til at kunne detekteres. Der blev indsamlet seks larver af glimmerbøsser uden synlige tegn på parasitering og seks larver med synlige tegn på parasitering (æg synligt som mørkt legeme i larven). Ved hjælp af den destruktive metode blev DNA fra de to grupper af larver ekstraheret og amplikonsekventeret.

5.3 Snyltehvepsenes aktivitet: parasitering

5.3.1 Indsamling af planter

Snyltehvepsenes parasitering af rapsjordloppen, glimmerbøssen og skulpesnudebiller blev undersøgt ved indsamling af rapsplanter i de usprøjtede dele af de udpegede rapsmarker. Larver af rapsjordlopper blev indsamlet ultimo april (vækststadie 65) ved udtagning af 20 hele planter/mark, mens larver af glimmerbøssen blev indsamlet medio maj på blomsterstande fra 20 planter pr mark. Ved opgørelsen af larver af skulpesnudebiller blev ultimo juni/starten af juli (stadie 80-81) indsamlet skulper fra 10 tilfældigt udvalgte planter langs en transekt tværs gennem arealet. Fra hver plante blev indsamlet 5 tilfældige skulper fra hovedskuddet og 5 skulper fra 3. sideskud, ialt 100 skulper/mark. Vi undgik ved indsamlingen skulper, der var synligt angrebne af skulpegalmyg (gule og opsprungne). De indsamlede planter eller skulper blev pakket i individuelle plastposer og lagt på køl indtil opgørelsen. For at kunne beregne antal skadedyrslarver og antal snyltehvepse pr. m² for rapsjordlopper og glimmerbøsser blev plantetætheden opgjort. I marker, hvor indsamlingerne blev foretaget af konsulenter (9 marker i 2020, 16 marker i 2021) blev en imputeret værdi på 39,9 planter/m² anvendt, svarende til gennemsnittet af marker med data for plantetæthed.

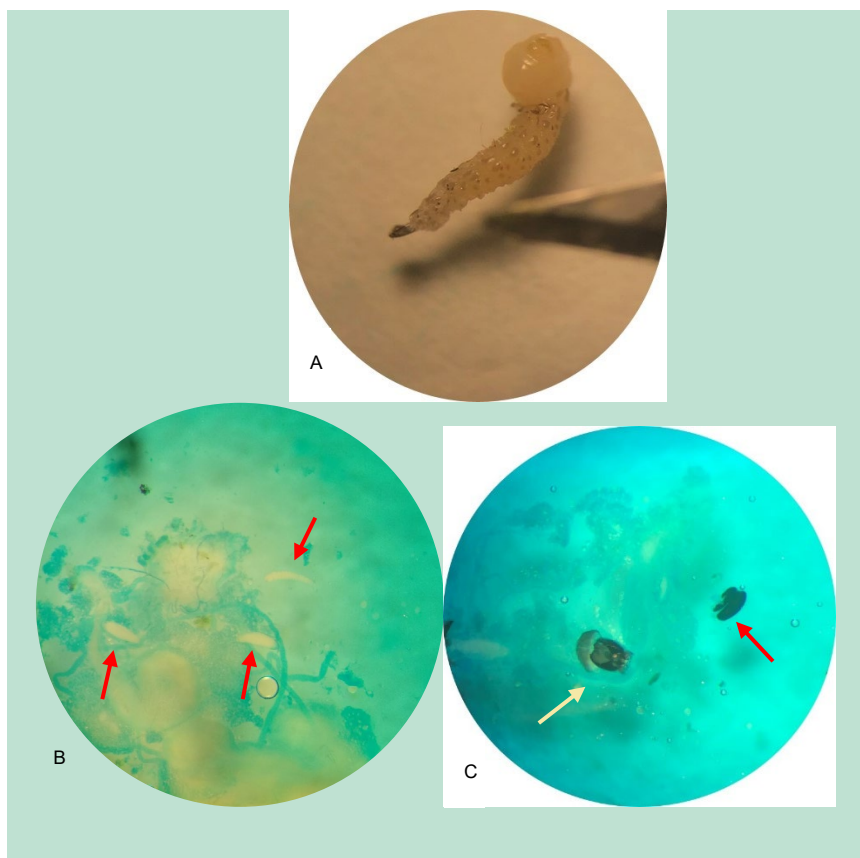
5.3.2 Opgørelse af parasitering: dissektion og klækning

5.3.2.1 Indsamling af larver af rapsjordloppe og glimmerbøsse

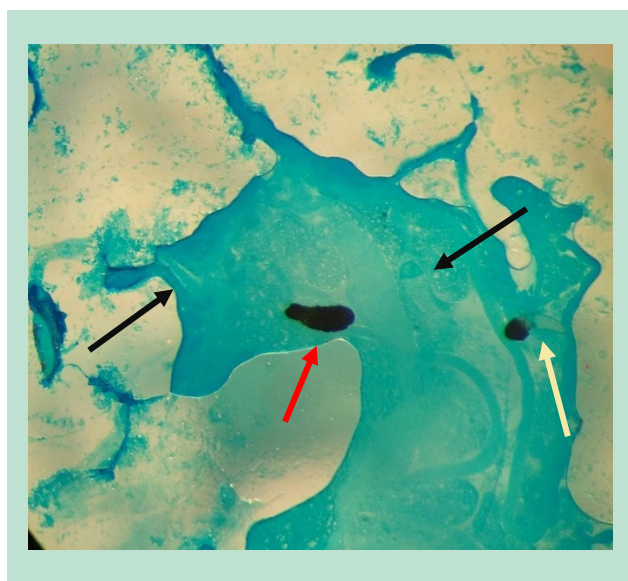
Larver af rapsjordlopper sidder i bladvævet og blev opgjort på de indsamlede planter ved dissektion af bladstilke og hovedstængel. Larver af glimmerbøsser sidder på stilke og blomsters overflade og blev indsamlet ved at banke planterne hårdt i en bakke og efterfølgende indsamle larverne. For både rapsjordlopper og glimmerbøsser blev larverne opbevaret ved -18°C indtil dissektion.

5.3.2.2 Dissektion af rapsjordloppe og glimmerbøsse

Parasiteringsgraden af rapsjordloppe- og glimmerbøsselarver blev bestemt ved dissektion under stereomikroskop med op til 40x. Samtlige fundne rapsjordloppelarver (alle tre larvestadier) blev dissekeret, mens kun andet-stadium larver af glimmerbøssen blev dissekeret, idet disse foretrækkes af snyltehvepsene. I 2020, hvor angrebsniveauet af glimmerbøsser var højt, blev maximum ti andet-stadium glimmerbøsselarver pr. plante dissekeret, mens alle fundne andet-stadium glimmerbøsselarver blev dissekeret i 2021, hvor angrebsniveauet var lavere. Larverne blev dissekeret ved at skære hovedet af larven med en skalpel og presse indholdet ud på et objektglas (figur 6A). Mørke æg af glimmerbøssens snyltehveps *Tersilochus heterocerus* er nemme at se, mens hvide æg og larver af *Tersilochus microgaster* (i rapsjordloppen) eller *Phradis* sp. (i glimmerbøssen) kun kan tælles, hvis præparatet farves med frugtfarve som foreslået af Nilsson (pers.komm; bilag 3). Endelig kan indkapslede æg af *T. microgaster* i rapsjordloppelarver nemt opgøres, idet de er helt eller delvis sortfarvede (figur 7B-C, figur 8). I larver af rapsjordloppe blev antal indkapslede og ikke-indkapslede æg op-talt på enkeltlarver for at undersøge fordelingen af indkapslede og ikke-indkapslede snyltehvepseæg med henblik på at opgøre effektiv parasiteringsgrad og frekvensen af superparasitering. I glimmerbøsselarverne blev forekomsten af superparasitering ligeledes opgjort i 2020, mens det totale antal snyltehvepseæg i 2021 kun blev opgjort på planteniveau, således at den præcise fordeling af snyltehvepseæg på enkeltlarver ikke kendes.



FIGUR 7. Dissektion af larver af rapsjordloppe kræver farvning med frugtfarve. A) Hovedet skæres af og indholdet presses ud på et objektgals, hvorefter der tilføres en dråbe frugtfarve og pålægges dækglass. B) To ikke-indkapslede æg og en ikke-indkapslet larve af snyltehveps, C) To indkapslede snyltehvepseæg (rød pil) samt synligt hoved og brystskjold af rapsjordloppelarve (gul pil).



FIGUR 8. Larver af snyltehvepse (formentlig *Tersilochus microgaster*) på rapsjordloppe. Indkapslet larve (rød pil), to ikke-indkapslede larver (sort pil) samt en larve under indkapsling (hvid pil).

5.3.2.3 Indsamling og klækning af skulpesnudebillens snyltehvepse

De indsamlede rapsskulper (100/mark) blev placeret i klækkefælder indeholdende 20 skulper/fælde (Langer & Jensen, 2023). Klækkefælder bestod af halv-liters yoghurtbeholdere med en udskåret åbning, dækket af påstrøget strygelærred for ventilation (figur 8). Bægerets åbning passer til 50 ml centrifugerør, hvis dette påsættes en elastik. De klækkede snyltehvepse søger op i røret (Veromann et al., 2011) og kan nemt indsamles ved udskiftning af røret. Rørene blev opbevaret ved -18°C indtil identifikation. Efter 60 dage i klimakammer ved 20 grader (2020) eller ved stuetemperatur (2021) blev fælderne åbnet, og klækkede skulpesnudebillelarver og voksne snyltehvepse optalt. Skulperne blev efterset individuelt og alle udgangshuller på skulperne blev optalt. I 2020 blev de klækkede snyltehvepse identificeret ved hjælp af identifikationsnøglen i Ferguson et al. (2010).



FIGUR 9. Klækning af skulpesnudebiller og dens snyltehvepse. Rapsskulper placeres i en halv-liters yoghurtbeholder med en udskåret åbning, dækket af strygelærred for ventilation. Bægerets åbning passer til 50 ml centrifugerør, hvis der påsættes en elastik. Klækningen kan følges tidsmæssigt, fordi snyltehvepsene søger op i røret. Efter mindst 60 dage optælles udgangshuller, klækkede og oftest indtørrede skulpesnudebillelarver samt eventuelle klækkede snyltehvepse, der er forblevet i æsken.



FIGUR 10. Larve af skulpesnudebille i rapsskulpe. Hvis den ikke parasiteres af én af de tre ektoparasitiske snyltehvepse, æder den 5-6 frø, mens en parasiteret larve kun når at æde 2-4 frø, før den dør.



FIGUR 11. Udgangshuller fra skulpesnudebillens snyltehveps *Trichomalus perfectus*, med fin, skarp kant i modsætning til udgangshuller fra skulpesnudebillens larve (figur 11). Større huller ses ved klækning af snyltehvepsehunner, mens de mindre huller normalt ses ved klækning af de mindre hanner af *T. perfectus*. Billedet til højre viser en skulpe, hvorfra der undtagelsesvis er klækket to snyltehvepse, sandsynligvis en han og en hun.



FIGUR 12. Udgangshuller af skulpesnudebillelarve. Hullerne kan normalt adskilles fra snyltehvepsenes udgangshuller ved deres tydelige, ofte mørkfarvede kant.

5.4 Sammenhæng mellem det lokale landskab og forekomst og aktivitet af snyltehvepse

5.4.1 Landskabsanalyser

For hver af de 85 marker blev udført en landskabsanalyse af det omgivende lokale landskab, bestående af en cirkel med den undersøgte rapsmark i centrum og en radius på 1500 m, i alt cirka 700 ha (figur 12). Data fra de 85 observationer blev analyseret som uafhængige, da de 85 undersøgte landskaber ikke overlappede.

De lokale landskaber har ligget i alle dele af Danmark, og der er, ikke overraskende, stor variation i arealanvendelsen.

Som det ses i tabel 4 og 5 udgjorde det dyrkede areal (omdriftsarealer og permanente arealer) i de lokale landskaber i gennemsnit 60% (485 ha ud af 700 ha). Heraf udgjorde rapsarealet i undersøgelsesåret i gennemsnit 10%. I begge år var rapsarealet øget en smule fra det foregående år, fra hhv 9% (2020) og 7% (2021). Rapsarealet i de analyserede landskaber varierede meget, fra at udgøre over 20% af det dyrkede areal til <1%.

TABEL 4. Arealanvendelsen i lokale landskaber (~700 ha) omkring 85 undersøgte rapsmarker

Arealanvendelse	Gennemsnit, ha (range)
Rapsareal (ha)	48 (3-115)
Rapsareal foregående år (ha)	40 (0-112)
Ændring i rapsareal (ha)	+7.8 (-75 - +95)
Skov (ha)	79 (0-300)
Beskyttet natur (ha)	36 (1-222)
Hegn (km)	35 (2-35)
Skovbryn (km)	18 (0-60)
Udyrket areal i alt (ha)	164 (11-365)
Dyrket areal (ha)	485 (163-645)
Areal i omdrift (ha)	424 (80-614)

TABEL 5. Arealanvendelsen i lokale landskaber omkring 85 undersøgte rapsmarker i %

Andel rapsareal (% af dyrket)	10
Andel rapsareal (% af total areal)	7 (0.4-16.2)
Andel skov (% af total areal)	11.1 (0-42.3)
Andel udyrket (% af total areal)	23.1 (1.6-51.5)
Andel omdrift (% af total areal)	59.8 (11.3-86.7)
Ændring i rapsarealet (i år/sidste år)	1.1 (-10.6 til +13.4)
Hegn (km/100 ha)	4.9 (0.2-17.3)

Når man skal sammenligne resultater af lignende undersøgelser af mobile skade- og nyttedyr, lavet i forskellig landskabskontekst, er kendskab til arealanvendelsen afgørende. Undersøgelserne kan eksempelvis være lavet i landskaber med langt flere udyrkede områder end vi normalt finder i danske landbrugslandskaber. Det gælder fx Vilumets et al., (2023), som undersøgte rapsmarker beliggende i landskaber, hvoraf det gennemsnitlige areal med udyrkede arealer var 35-38% og 97% af markerne lå i landskaber med >18% udyrkede arealer. Til sammenligning gjaldt dette kun 60% af de danske landskaber, vi har undersøgt i dette projekt.

5.4.2 Landskabsvariable

I analysen af sammenhænge mellem forekomsten af rapsskadedyrene og deres snyltehvepse og det lokale landskab brugte vi to grupper af landskabsvariable. Den ene gruppe var relateret til det lokale landskabs mere stabile landskabs-elementer: længde af levende hegn og skovbryn, areal med beskyttet natur, skovareal, areal med omdriftsmarker samt udyrket areal i alt. Den anden gruppe variable var relateret til den dynamiske ressource, som rapsen udgør for de undersøgte skadedyr og snyltehvepse: rapsarealet i undersøgelsesåret og året før samt afstanden til den nærmeste af det foregående års rapsmarker. Den rumlige placering af det foregående års rapsmarker i forhold til den undersøgte rapsmark blev derudover beskrevet ved et proximity index foreslået af Rusch et al. (2012). Indexet kombinerer arealet af sidste års mark med afstanden til dette års undersøgte rapsmark, for samtlige rapsmarker i det omgivende landskab sidste år (figur 12). For hver undersøgte rapsmark beregnes proximity indexet således:

$$Proximity = \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{d_i^2}$$

hvor a_i er arealet af rapsmark i i år n , d_i er afstanden mellem den undersøgte rapsmark i år og rapsmark i , fra kant til kant. Proximity indexet er nul for undersøgte rapsmarker beliggende i landskaber uden rapsmarker det foregående år. Indexet for en given rapsmark stiger med antal, areal og nærhed af sidste års rapsmarker i det lokale landskab. Afstand til den nærmeste af sidste års rapsmarker samt proximity index blev beregnet med MapInfo Professionel version 19.

Spørgsmålet om, hvorvidt forårssprøjtning med insekticider i sidste års rapsmark eller jordbehandling efter høst er associeret med variationen i forekomst af snyltehvepse, blev undersøgt i 37 ud af de 84 rapsmarker. Disse oplysninger forudsætter direkte kontakt med landmændene, da de ikke kan hentes fra andre kilder. I 2020 interviewede vi derfor de 68 brugere af 146 rapsmarker, der i 2019 var beliggende indenfor en afstand på 1500 meter fra de rapsmarker, vi undersøgte i 2020 (røde marker figur 12), om insekticidanvendelse i forår/sommer 2019 samt om jordbehandling efter høst. Samme fremgangsmåde blev brugt i 2021, hvor 54 landmænd blev interviewet om 91 2020-rapsmarker.



FIGUR 13. Eksempel på det lokale landskab omkring rapsmark (mark 14, 2020). Otte marker indtegnet med rødt viser størrelse og beliggenhed af sidste års (2019) rapsmarker. Gule streger viser afstanden fra dette års fokusmark til sidste års marker, som anvendes i beregning af variablerne Afstand nærmeste og Proximity index, baseret på afstand og areal.

5.4.3 Statistisk analyse af sammenhæng mellem landskabsfaktorer og snyltehvepsenes forekomst og aktivitet

Sammenhængen mellem landskabsfaktorer og forskellige aspekter af snyltehvepsenes forekomst og aktivitet blev undersøgt gennem univariate og multivariate analyser på tværs af de to år (2020 og 2021). Data blev først analyseret med univariate modeller for at undersøge sammenhænge mellem et stort antal mulige prediktorer og skadedyr, snyltehvepse og parasitering. Derefter undersøgte vi ved hjælp af en multivariabelmodel inferens tilgang den relative vigtighed af et reduceret antal variable samt fandt den bedst prediktive model.

For rapsjordlopper og glimmerbøsser blev sammenhængen mellem landskabsfaktorer og hhv. antallet af skadedyr pr. m^2 , antal parasiterede skadedyr pr. m^2 og det totale antal snyltehvepseæg pr. m^2 alle analyseret med univariate samt multivariate lineære mixed modeller med landskabsfaktorer som fixed effekt og år som tilfældig effekt, og resultaterne

præsenteres som det modelbaserede estimerede antal pr. m². Sammenhængen mellem landskabsfaktorer og parasiteringsgraden blev for rapsjordløpper og glimmerbøsser analyseret i univariate og multivariate generaliserede lineære mixed modeller med antagelse om binomialfordelte data, også kaldet mixed model logistisk regression, med landskabsfaktorer som fixed effekt og år, mark og plante som tilfældige effekter. Resultaterne af disse analyser er præsenteret som odds ratioer (OR) med 95% konfidensintervaller, hvor OR > 1 svar til en positiv sammenhæng, mens OR <1 svarer til en negativ sammenhæng mellem prædiktor og paraciteringsgraden.

For skulpesnudebiller blev antal skadedyr og antal af skulpesnudebillens snyltehvepse pr. 100 skulper analyseret ved brug af generaliserede lineære mixed modeller under antagelse af en Poisson fordeling, med landskabsvariable som fixed effekt og år og mark som tilfældige effekter. Resultaterne fra disse præsenteres som rate ratioer (RR) med 95% konfidensintervaller, hvor RR > 1 svarer til en positiv sammenhæng, mens RR <1 svarer til en negativ sammenhæng mellem prædiktor og paraciteringsgraden. For skulpesnudebillen blev parasiteringsgraden analyseret ved brug af logistiske mixed modeller med år, mark og klækkefælde som tilfældige effekter, og resultater fra disse præsenteres som OR med 95% konfidensintervaller. For alle de beskrevne modeller gjaldt det, at modellerne ved konvergensproblemer blev simplificeret ved at udelade en eller flere tilfældige effekter. For en yderligere illustration af, hvad resultaterne af de statistiske analyser betyder konkret, analyserede vi derudover enkelte variable i en dikotomiseret form, fx "positive versus negative ændringer i rapsarealet fra foregående år" eller "areal med beskyttet natur i det omgivende landskab over eller under 30 ha". Disse analyser fulgte samme modeltype som beskrevet ovenfor.

For at undgå en for høj grad af co-linearitet mellem de indgående variable, var de multivariate analyser baseret på et reduceret antal af de landskabsfaktorer, der blev undersøgt i univariate analyser. To typer landskabsvariable indgik; dels variable der beskrev rapsarealets størrelse, placering og ændringer over år, dels variable der beskrev landskabselementer i det omgivende landskab. Indenfor hver af de to grupper variable var flere variable indbyrdes korrelerede (fx afstand til sidste års mark, sidste års rapsareal og ændring i rapsarealet; figur 3). Derfor udvalgte vi for hvert par skadedyr/snyltehvepse et reduceret sæt af variable, som antages at opfange den vigtigste landskabsinformation, der forventes at være biologisk relevant for netop dette skadedyr og dens snyltehvepse (tabel 6). Eksempelvis indgik pløjning af sidste års rapsmark efter høst i analysen af forekomsten af rapsjordløppers og glimmerbøssens snyltehvepse, fordi disse overvintrer i sidste år rapsmark og derfor kunne være påvirket af pløjning, mens denne faktor ikke blev inddraget for skulpesnudebillens snyltehvepse, som alle forlader rapsmarken og derfor ikke bliver påvirket af jordbehandling.

TABEL 6. Variable anvendt til analyse af sammenhængen mellem landskabsfaktorer i landskaber (radius = 1500m) omkring 85 undersøgte rapsmarker og forekomsten af skadedyr (rapsjordløpper (RJL), glimmerbøsser (GLB), skulpesnudebiller (SNB)), forekomsten af deres snyltehvepse samt parasiteringsgrad.

Variabel	Enhed	Univariat analyse	Multivariat analyse RJL/GLB/SNB	Forklaring
Raps _n	Ha	X		Rapsareal i undersøgelsesåret
Raps _{n-1}	Ha	X	x/x/x	Rapsareal foregående år
Ændring Raps	Ha	X	x/x/x	Stigning eller fald i rapsarealet (Raps _n - Raps _{n-1})
Proximity	-	X	x/x/x	Proximity index (areal x (afstand ²) ⁻¹) af Raps _{n-1} marker
Afstand nærmeste	M	X	0/x/0	Afstand fra focusmark til nærmeste Raps _{n-1} mark
Raps _{n-1} usprøjtet	Ha	X	x/x/x	Foregående års usprøjtede rapsareal ^{a)}
Raps _{n-1} opløjet	Ha	X	x/x/0	Foregående års opløjede rapsareal ^{a)c)}
Proximity usprøjtet	-	X		Proximity index af usprøjtede raps _{n-1} marker ^{a)}
Proximity opløjet	-	X		Proximity index af opløjede raps _{n-1} marker ^{a)}
Hegn	Km	X	x/x/x	Længde af levende hegn
Skovbryn	Km	X		Længde af skovbryn
Skov	Ha	X		Skovareal
Beskyttet natur	Ha	X	x/x/x	§3 arealer ^{b)} (enge, vandhuller, småskove, vedv. græs, etc.)
Lineære biotoper	Km	X		Sum (km hegn og km skovbryn)
Udyrket areal	Ha	X	0/x/0	Sum af udyrkede arealer (skov, §3 arealer ^{b)} , brak, vedvarende græs)
Omdrift	Ha	X	x/0/x	Areal af marker i omdrift

Antal værter	Antal	X	x/x/x	Antal RJL, GLB og SKSB. Kun for snyltehvepse og parasiteringsgrad
--------------	-------	---	-------	---

- a) Baseret på et begrænset datasæt på 37 marker
- b) §3 arealer er små udyrkede arealer, der er beskyttet mod ændringer og fjernelse
- c) kun for snyltehvepse

Vi brugte en multi-model inferens tilgang beskrevet i Rusch et al. (2011) for at undersøge den relative vigtighed af de udvalgte variable. Kort fortalt blev alle mulige kombinationer af variable i de reducerede sæt af landskabsfaktorer fundet og brugt som prædiktorer i multivariable analyser for hver af de undersøgte responsvariable. Alle modeller blev herefter sammenlignet ved hjælp af Akaikes informations kriterie (AICc), og disse AICc værdier blev brugt til at estimere vægte, der igen blev summeret for at beskrive den relative vigtighed af de enkelte variable. Resultatet præsenteres som den relative vægt af de enkelte variable, baseret på sandsynligheden for, at de indgår i den bedste model. Jo større vægt, jo vigtigere er variabelen relativt til de andre variable. Slutteligt blev den bedste prediktive model (blandt de undersøgte) fundet som modellen med lavest AICc værdi. Alle statistiske analyser blev lavet i R version 4.2.0 R Core Team (2021), inklusiv extension pakken lme4 (Bates et al., 2015).

6. Resultater

Det har ikke været projektets formål at dokumentere eller forklare udbredelsen af de tre skadedyr: rapsjordlopper, glim-
merbøsser og skulpesnudebiller. Snyltehvepsene er imidlertid uløseligt knyttet til deres værter, og da variationer i skade-
dyrsforekomsten både rumligt og imellem år påvirker snyltehvepsenes forekomst, indgår data vedrørende skadedyrene
som en del af projektets resultater.

6.1 Rapsjordloppens snyltehvepse

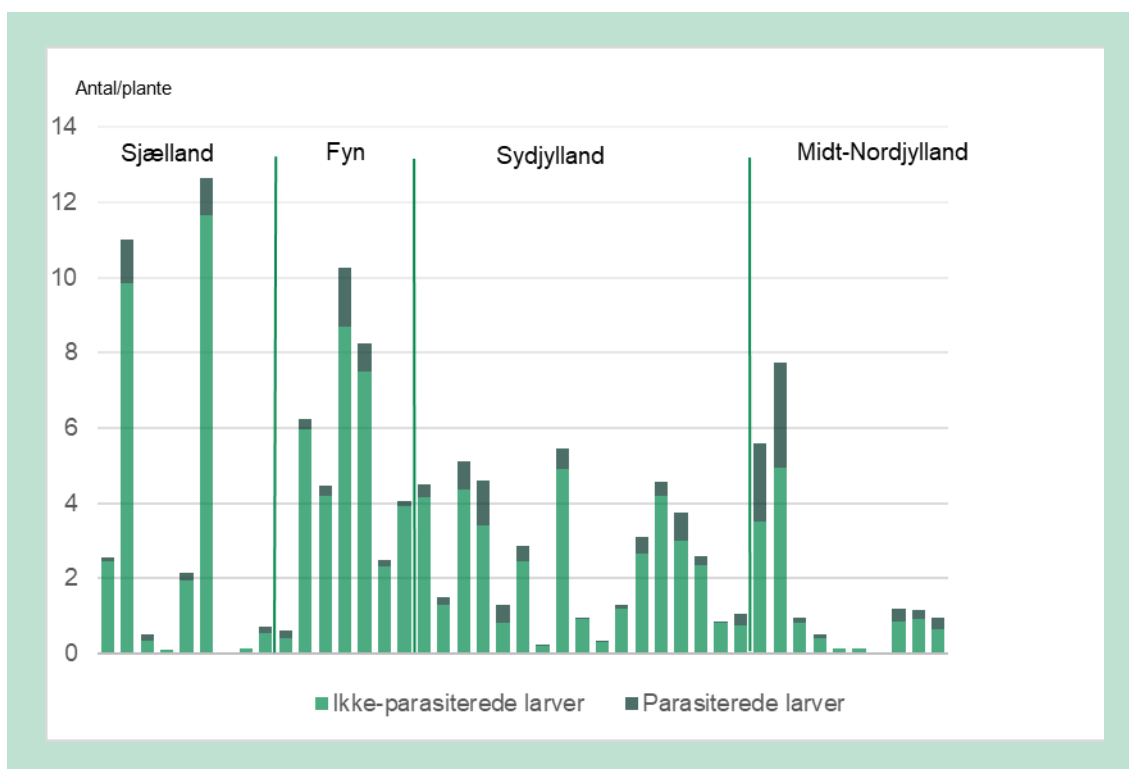
6.1.1 Forekomst og parasitering

I 2020 blev rapsjordloppelarver og deres vigtigste snyltehveps, *Tersilochus microgaster*, fundet i 41 ud af 43 marker og i
67% af alle indsamlede planter (figur 13). Alle indsamlede larver blev dissekeret for æg og larver af snyltehvepse. Op til
39% af jordloppelarverne per mark var parasiterede (gennemsnit 13%), og de parasiterede larver indeholdt i gennemsnit
2,15 snyltehvepseæg/larver (tabel 7). I 2021 blev jordloppelarver og deres vigtigste snyltehveps fundet i 40 ud af 41 un-
dersøgte marker. Angrebsgraden af rapsjordlopper var lavere end i 2020, med et lavere andel af planter angrebet af
rapsjordlopper og færre larver pr. plante (figur 14). Alle indsamlede larver blev dissekeret for æg og larver af snylte-
hvepse, og mellem 0% og 41% af jordloppelarverne var parasiteret (gennemsnit 11%).

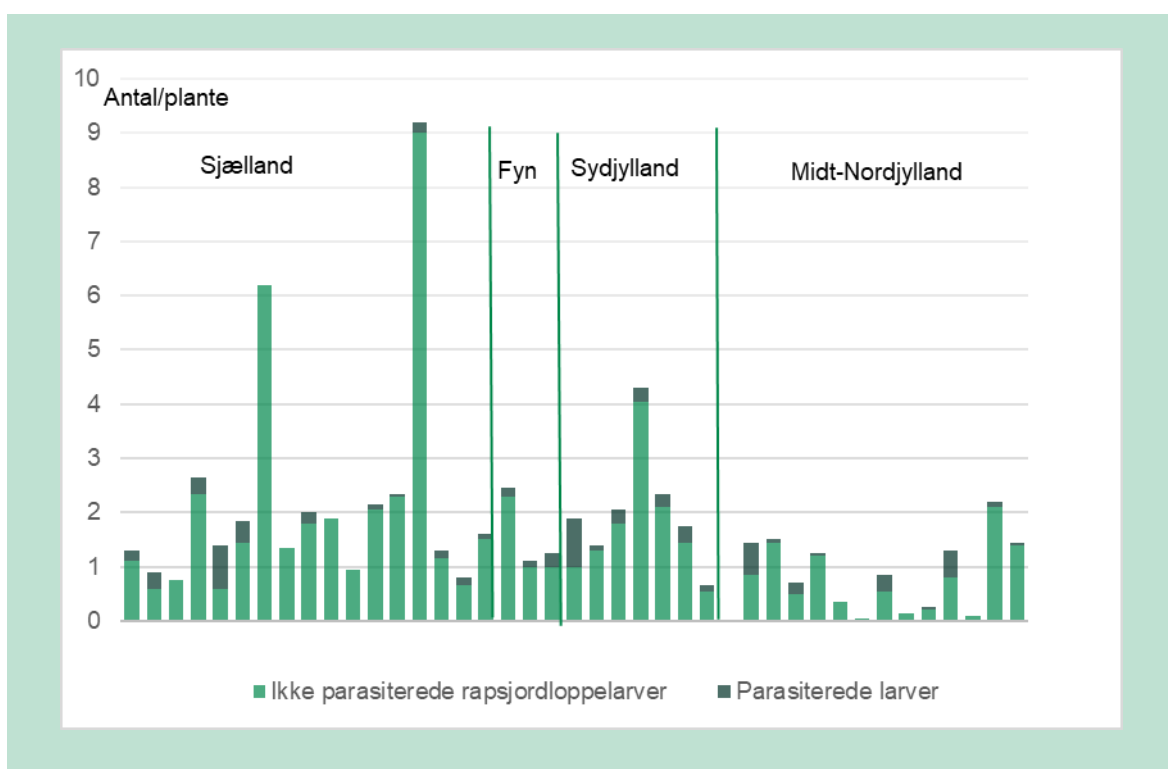
TABEL 7. Forekomst og parasitering af rapsjordloppe 2020 og 2021

År	Antal marker	Antal planter	% angrebne planter	Antal jordloppelar- ver	Larver/plante (min-max)	%parasite- rede larver	Snyltehvep- seæg pr. larve	Snyltehvepseæg pr. parasiteret larve
2020	43	860	67	2573	3,1 (0-12,7)	13 (0-39)	0.31	2.15
2021	41	820	59	1389	1,7 (0-9,1)	11 (0-41)	0.53	2.27

I både 2020 og 2021 oversteg parasiteringen kun i fire ud af de undersøgte 43, hhv. 41 marker den "kritiske grænse" på
ca. 32%, som ifølge Hawkins & Cornell (1994) antages at være påkrævet for at få populationseffekter (figur 30 og 31).



FIGUR 14. Antal parasiterede og ikke-parasiterede rapsjordloppelarver pr. plante i 43 rapsmarker i 2020.



FIGUR 15. Antal parasiterede og ikke-parasiterede rapsjordloppelarver pr. plante i 41 rapsmarker i 2021.

6.1.2 Superparasitering

Parasiteringsgraden antages at give et mål for andelen af skadedyr, der parasiteres og dør, hvorefter der - i teorien - klækker en voksen snyltehveps i stedet for en voksen jordloppe. For rapsjordloppen reduceres effekten af *T. microgaster*s parasitering dels af superparasitering, dels af værtslarvens indkapsling af snyltehvepsens æg. Ved superparasitering placerer snyltehvepsen mere end ét æg i en rapsjordloppelarve. Eftersom snyltehvepsen er solitær (dvs. kun én

snyltehveps overlever, i modsætning til såkaldte selskabelige snyltehvepse, hvor mange snyltehvepse kan klækkes fra samme vært) resulterer superparasitering i, at rapsjordloppespopulationen det følgende år reduceres mindre, end hvis *T. microgaster* havde været i stand til at placere kun ét æg i hver værtslarve. Superparasitering resulterer dermed i et tab af effektivitet, set fra et bekæmpelsessynspunkt. Som det ses i tabel 8, var 56% af de parasiterede rapsjordloppelarver superparasiterede i 2020, dvs. indeholdt mere end ét snyltehvepseæg eller -larve, mens 43% af de parasiterede rapsjordlopper var superparasiterede i 2021.

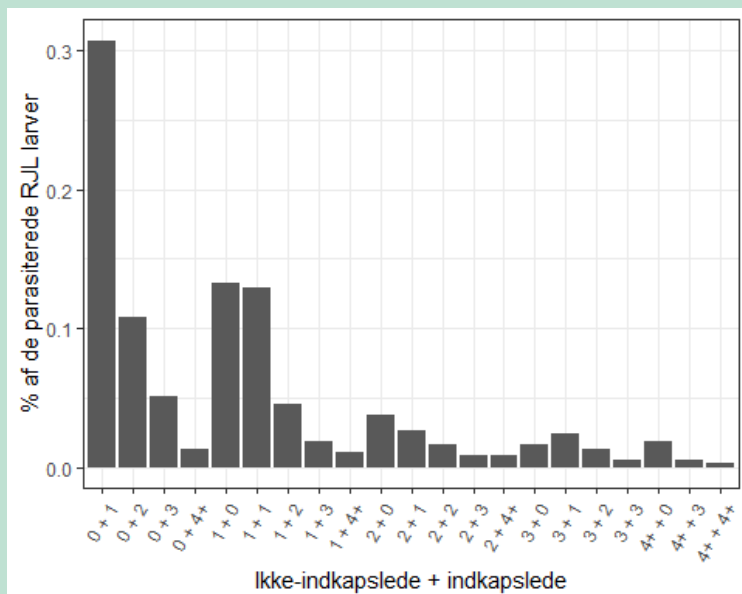
Snyltehvepsene brugte i 2020 således 797 æg på at parasitere 371 rapsjordloppelarver, dvs. at kun 47% af snyltehvepsens æg blev udnyttet, set fra et bekæmpelsesperspektiv, og kun 47% potentielt vil klække som voksne snyltehvepse det følgende år og dermed vil bidrage til at opretholde snyltehvepspopulationen. Også i 2021 blev en del af snyltehvepsenes æg "spildt" på superparasitering. Således blev 356 snyltehvepseæg brugt på at parasitere 150 rapsjordloppelarver, dvs. at kun 42% af snyltehvepsenes æg blev udnyttet set fra et bekæmpelsesperspektiv og til at opretholde snyltehvepspopulationen.

TABEL 8. Forekomst af superparasitering i rapsjordloppens larver. Antal larver med varierende antal snyltehvepseæg i 371 parasiterede rapsjordloppelarver i 2020 og 150 parasiterede rapsjordloppelarver i 2021

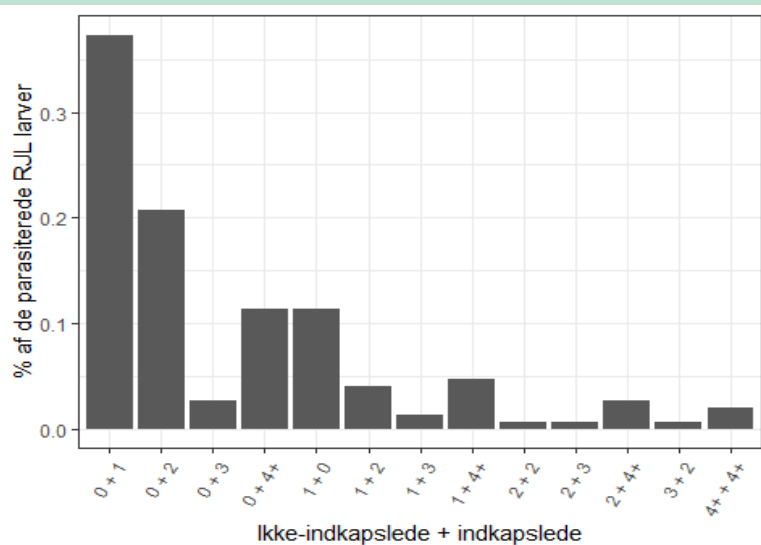
2020		2021	
Antal snyltehvepseæg i larven	Antal rapsjordloppelarver	Antal snyltehvepseæg i larven	Antal rapsjordloppelarver
0	2201	0	1239
1	163	1	85
2	102	2	29
3	52	3	9
4	28	4	8
5	12	5	7
6	9	6	4
7	1	7	2
8	2	8	2
10	1	9	2
15	1	14	1
		15	1

6.1.3 Indkapsling

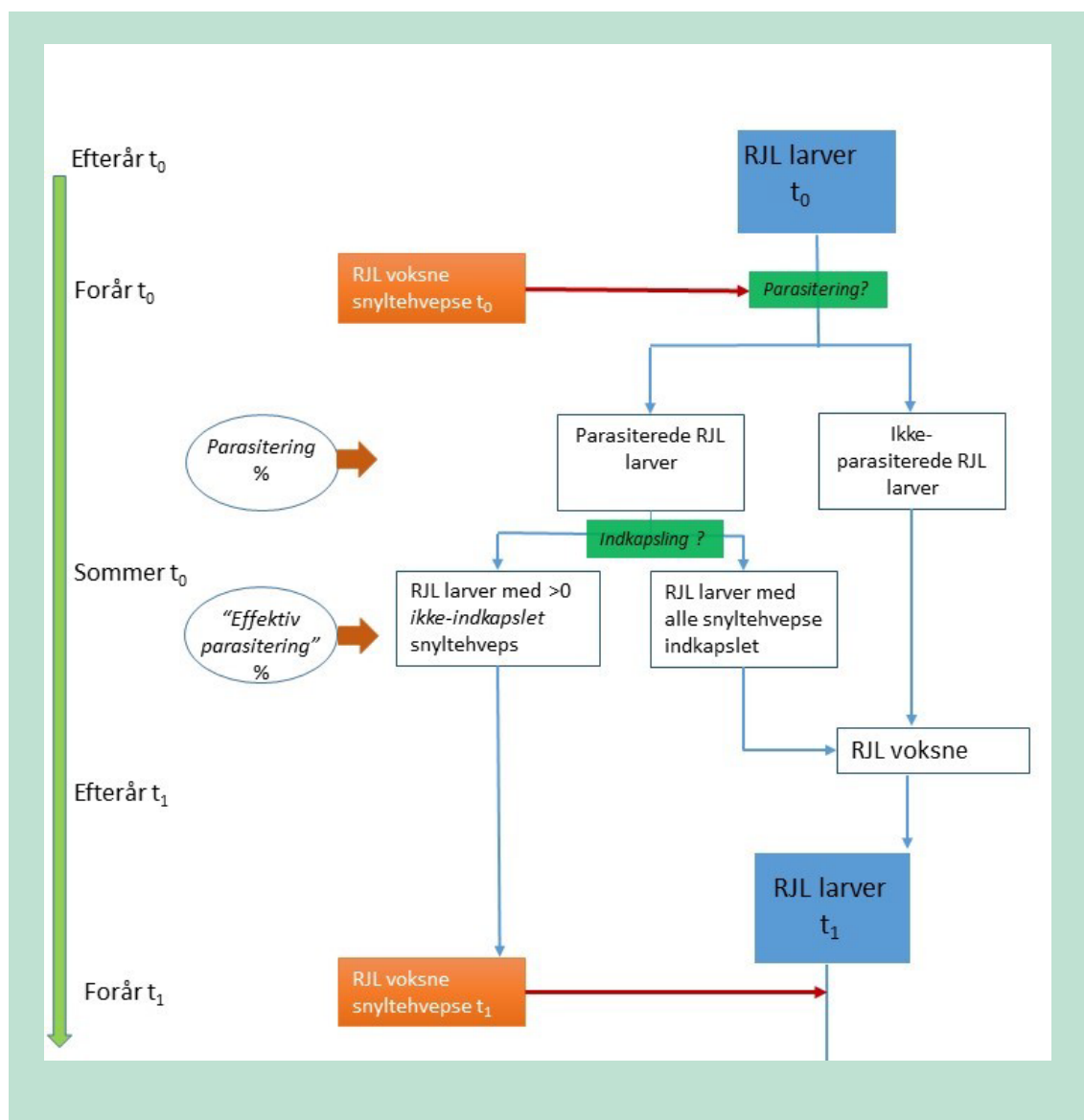
Indkapsling er rapsjordloppelarvens immunreaktion overfor tilstedeværelsen af det fremmedlegeme, som snyltehvepsens æg udgør (se box 3). Indkapslingen sker i løbet af få dage, og ved dissektion af rapsjordloppelarver får man derfor et øjebliksbillede af ikke-indkapslede, delvis indkapslede og fuldt indkapslede snyltehvepseæg og -larver af *T. microgaster*. I 2020 indeholdt 178 (48%) af de 371 parasiterede rapsjordloppelarver udelukkende indkapslede eller delvist indkapslede snyltehvepseæg og -larver (figur 15). Samme billede sås i 2021, hvor 73% af de parasiterede rapsjordloppelarver havde indkapslet samtlige snyltehvepseæg og -larver (figur 16). Hvis disse øjebliksbilleder er retvisende, og hvis antagelsen om, at indkapslede snyltehvepseæg og -larver oftest dør, holder stik, betyder det, at det er lykkedes for omkring halvdelen af rapsjordloppelarverne at "annullere" parasiteringen, og det giver mening at skelne mellem parasitering og "effektiv parasitering" (figur 17). Disse larver vil således overleve og potentielt fuldføre deres udvikling til voksne rapsjordlopper. Derudover er de indkapslede snyltehvepse "gået tabt" og vil ikke bidrage til næste års snyltehvepspopulation. I 2020 sås en tendens ($P=0.059$) til, at snyltehvepseæg og -larver placeret i en rapsjordloppelarve, der var superparasiteret, løb en mindre risiko for at blive indkapslet, jo flere snyltehvepseæg larven indeholdt. Altså en indikation på, at antagelsen om at superparasitering kan være snyltehvepsenes strategi for at "udmatte" rapsjordloppens immunsystem. I 2021 sås denne sammenhæng dog ikke.



FIGUR 16. Antal indkapslede og ikke-indkapslede snyltehvepse i 371 parasiterede rapsjordloppelarver i 2020. "1 + 2" læses eksempelvis sim, at der i larven er 1 ikke-indkapslet snyltehvepseæg samt 2 indkapslede, i alt 3. Kolonner med "0+x" viser således rapsjordloppelarver, hvori alle snyltehvepseæg og –larver er indkapslede



FIGUR 17. Indkapslede og ikke-indkapslede snyltehvepseæg og –larver i 150 parasiterede rapsjordloppelarver i 2021. Kolonner med 0+x viser rapsjordloppelarver, hvori alle snyltehvepseæg og –larver er indkapslede



FIGUR 18. Forskellen på parasitering og effektiv parasitering. Rapsjordloppens evne til at indkapsle snyltehvepseæg og -larver betyder, at såvel effekten af parasiteringen på værtspopulationen og næste års snyltehvepsepopulation reduceres.

TABEL 9. Bruttoparasitering og effektiv parasitering i 2573 dissekerede rapsjordloppelarver, hvoraf 371 er parasiteret (2020)

Parasitering	Antal rapsjordloppelarver	Parasiteringsgrad %	Antal snyltehvepse/larve Alle værtslarver	Antal snyltehvepse/larve Parasiterede værtslarver
Indeholder mindst én snyltehveps (æg, larve)	371	14,4 (Brutto)	0,31	2,15
Heraf indeholder mindst én ikke-indkapslet snyltehveps	193	7,5 (Effektiv)	0,12	0,84
Heraf indeholder udelukkende indkapslede snyltehvepse	178	11,5	0,19	1,30

6.2 Glimmerbøssens snyltehvepse

6.2.1 Forekomst og parasitering

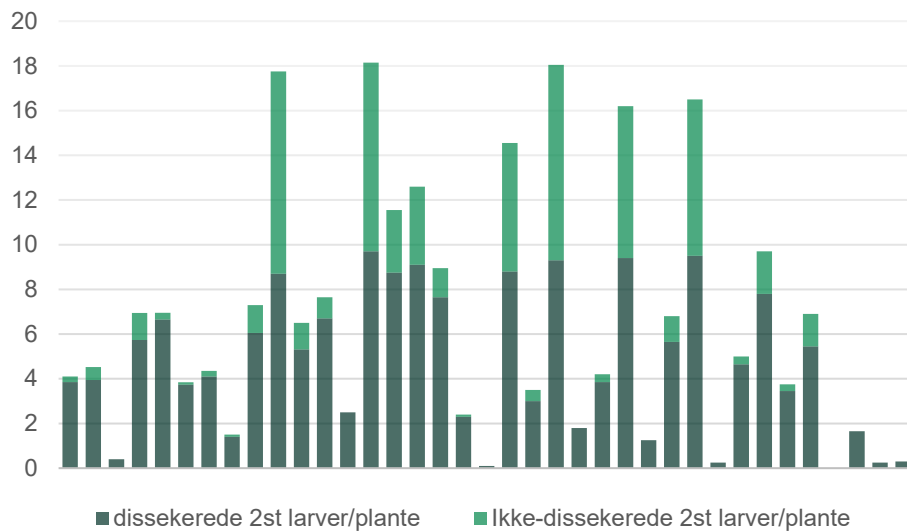
Glimmerbøsselarver og deres snyltehvepse blev fundet i alle 37 marker i 2020 (figur 19). Angrebet af glimmerbøsser var stort i 2020, og kun et udsnit på max. 10 larver/plante af andet stadium larver blev dissekeret, mens alle larver blev talt (figur 18). I 2021 var angrebsgraden lavere end i 2020 (figur 20), og alle andet-stadium larver blev dissekeret, mens første-stadie larver blot blev talt. I 2020 var 40% af samtlige dissekerede larver parasiterede af den vigtigste snyltehvepse, *Tersilochus heterocerus*, mens parasiteringsgraden var lavere i 2021 (Tabel 10).

TABEL 10. Forekomst og parasitering af glimmerbøsselarver

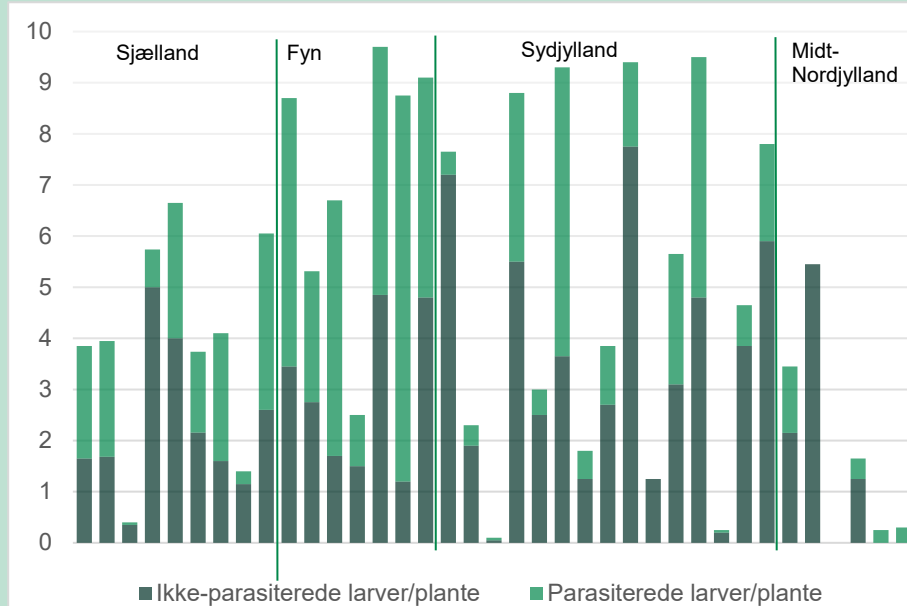
År	Antal Marker	Antal planter	Antal 1+2.stadie larver indsamlet	Antal 2.stadie larver dissekeret	Dissekerede larver/plante	%parasiterede 2.stadie larver (gns. af marker)
2020	37	733	4733	3426	6,5 (0-18)	40 (0-100)
2021	28	560	3363	1903	3,4 (0-17)	22 (0-100)

I 2020 oversteg parasiteringen af glimmerbøsselarver i 23 ud af de undersøgte 37 marker den kritiske grænse på ca. 32%, som antages at være påkrævet for at få populationseffekter (figur 32). Tilsvarende var parasiteringen af glimmerbøsselarver i 7 ud af 28 marker denne grænse i 2021 (figur 33).

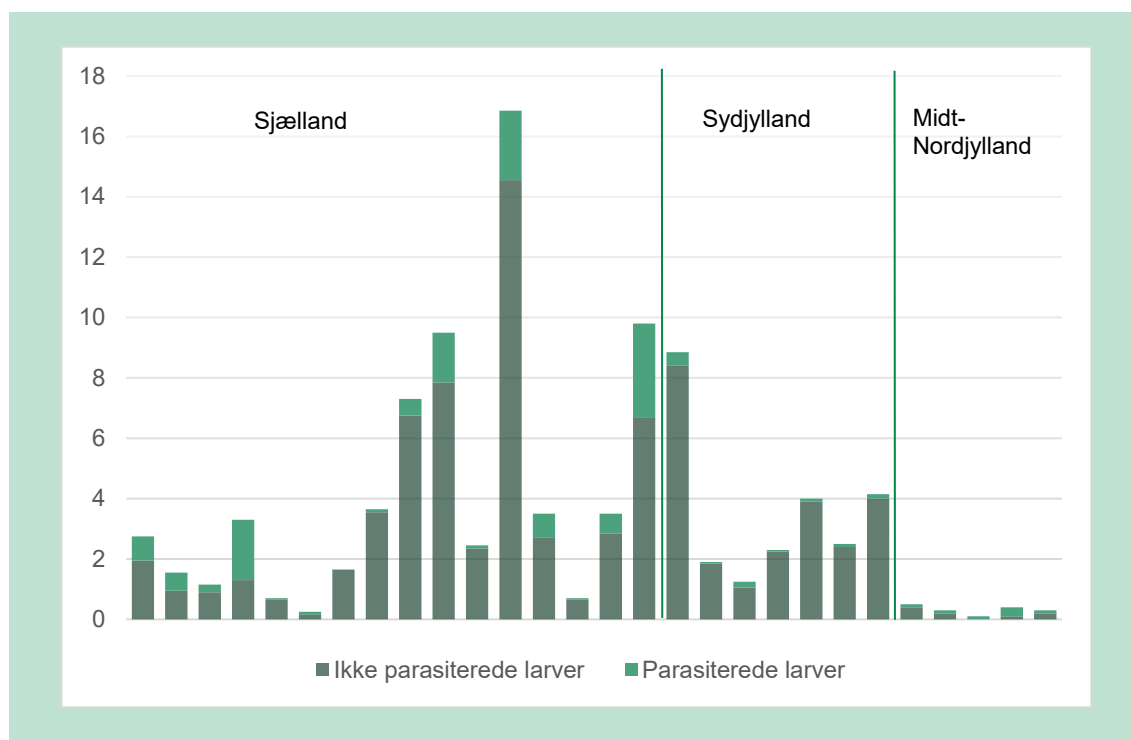
Den store variation mellem lokaliteter i både angrebsgrad og parasitering af glimmerbøsser (figur 19 og 20) skyldes dels, at de voksne glimmerbøsser lægger æg på rapsplanterne over en meget lang periode. Det betyder, at der på et givet tidspunkt findes både æg, første og andet stadium larver, inkl. larver, der er klar til at fire sig til jorden for at forpuppe sig. På indsamlingstidspunktet fås derfor et billede af, hvordan populationen er sammensat af forskellige udviklingsstrin, som kan illustreres med fordelingen mellem første og andet stadium glimmerbøsselarver (figur 21). Da snyltehvepsene har preference for andet-stadium larver, vil populationens fordeling på de to larvestadier påvirke den parasiteringsgrad, der opgøres. Samtidig skal indsamlingen ske, inden andet stadium larverne forlader planterne for at gå i jorden og forpuppe sig. Som det ses i figur 21, blev indsamlingen i 2020 lavet på et tidspunkt, hvor i gennemsnit 57% af de fundne glimmerbøsselarver var i andet stadium (varierende mellem 0 og 99% af det totale antal larver). Med store variationer havde marker på Sjælland i gennemsnit cirka 1/3 af larverne i første stadie, mens disse udgjorde i gennemsnit 2/3 af antallet i markerne i Midt-Nordjylland. Figur 21 illustrerer således, at fx Nordjylland er "bagefter" Syddanmark i udvikling af både rapsplanter og de tilknyttede insekter på indsamlingstidspunktet, på trods af at indsamlingen blev udført cirka en uge senere i Nordjylland end i resten af landet.



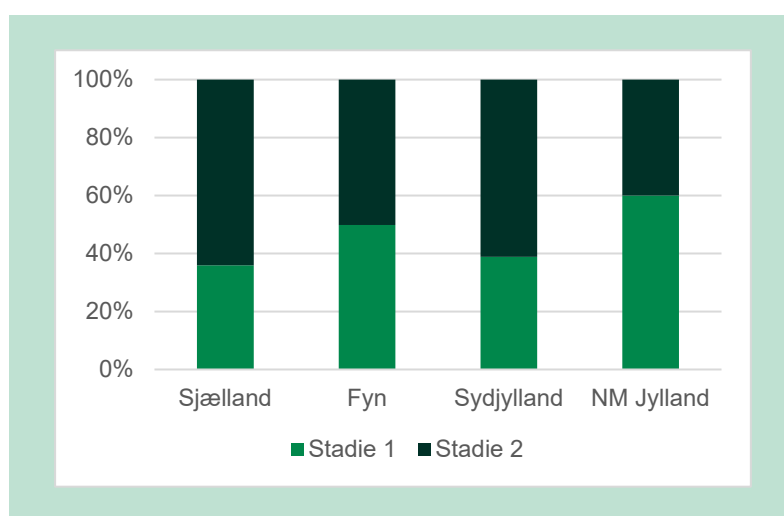
FIGUR 19. Fundne og dissekerede glimdebøsselarver/plante i 37 marker i 2020, hvor der blev dissekeret maksimum 10 andet stadie larver/plante af hensyn til arbejdsindsatsen.



FIGUR 20. Parasitering af dissekerede andet stadie glimdebøsselarver i 37 marker i 2020 (larver/plante). I 2020 blev der dissekeret maksimalt 10 larver/plante.



FIGUR 21. Parasitering af andet stadiet glimmerbøsselarver i 28 marker i 2021 (larver/plante)



FIGUR 22. Relativ fordeling mellem første og andet stadium larver af glimmerbøsse i regioner på indsamlingstidspunktet.

6.2.2 Superparasitering

Glimmerbøssens snyltehveps, *Tersilochus heterocerus*, fravælger ikke glimmerbøsselarver, der allerede er parasiteret, og superparasitering (boks 3) ses derfor almindeligt i glimmerbøsser selv ved lave parasiteringsgrader (Ulber et al., 2010). Vi fandt, at superparasitering var mindre udtalt i glimmerbøsser end i rapsjordlopper, med lavere antal æg per larve (ofte 2, sjældnere 3 og undtagelsesvis over 4) (tabel 11). I 2020 var 42% af de dissekerede glimmerbøsselarver parasiteret og indeholdt i gennemsnit 1.4 snyltehvepseæg/parasiteret larve. Godt en fjerdedel af de parasiterede glimmerbøsselarver var superparasiterede, dvs. indeholdt to eller flere snyltehvepseæg. Snyltehvepsen brugte 1942 æg på at parasitere 1427 larver, således at kun 73% af snyltehvepsens æg blev udnyttet, set fra et bekæmpelsesperspektiv, og kun 73% potentielt vil klække som voksne snyltehvepse det følgende år og dermed vil bidrage til at opretholde snyltehvepspopulationen.

I 2021 var færre (16%) af glimmerbøsselarverne parasiteret. Andelen af superparasiterede glimmerbøsselarver blev ikke undersøgt i 2021, men samlet set indeholdt parasiterede glimmerbøsselarver 1.3 snyltehvepseæg pr. larve. Ligesom i 2020 blev en del af snyltehvepsenes æg "spildt" på superparasitering. Således blev 355 æg brugt på at parasitere 298 larver, dvs. at kun 84% af snyltehvepsens æg blev udnyttet, set fra et bekæmpelsesperspektiv, og til at opretholde snyltehvepsepopulationen.

TABEL 11. Parasitering og superparasitering af 1427 glimmerbøsselarver i 2020

Antal snyltehvepseæg i larven	Antal larver
1	1038
2	295
3	69
4	19
5	6

Da glimmerbøssesnyltehvepsens æg er sorte, kan en eventuel indkapsling ikke ses og er derfor ikke opgjort. Ifølge Osborne (1960) er der imidlertid fundet mange voksne glimmerbøsser med rester af sorte snyltehvepseæg i kroppen, hvilket tyder på, at glimmerbøsselarver ligesom rapsjordloppelarver kan indkapsle snyltehvepseæg og dermed undslippe parasitering. Omfanget af dette kendes ikke.

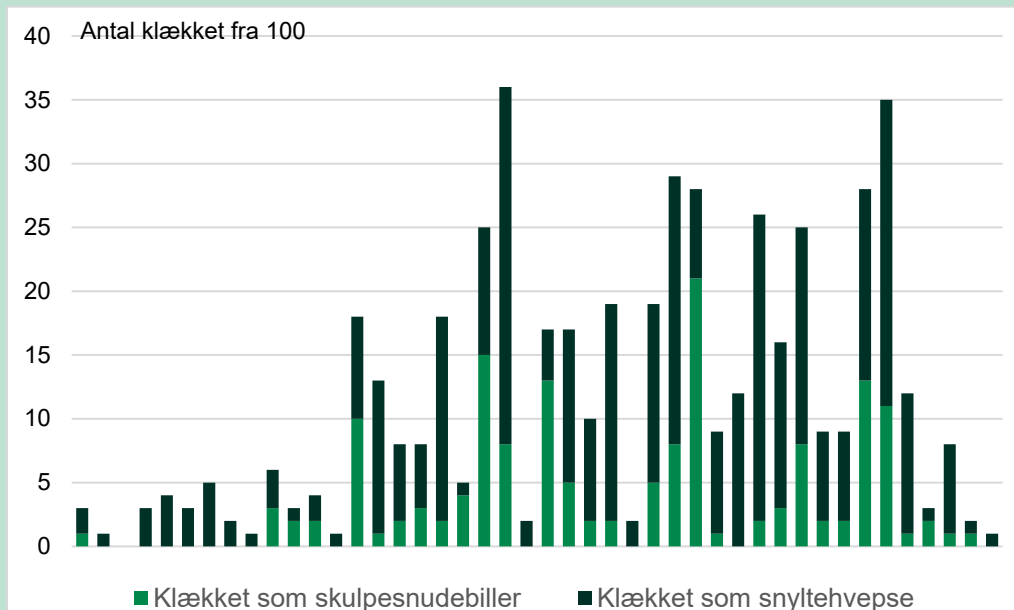
6.3 Skulpesnudebillens snyltehvepse

6.3.1 Forekomst og parasitering

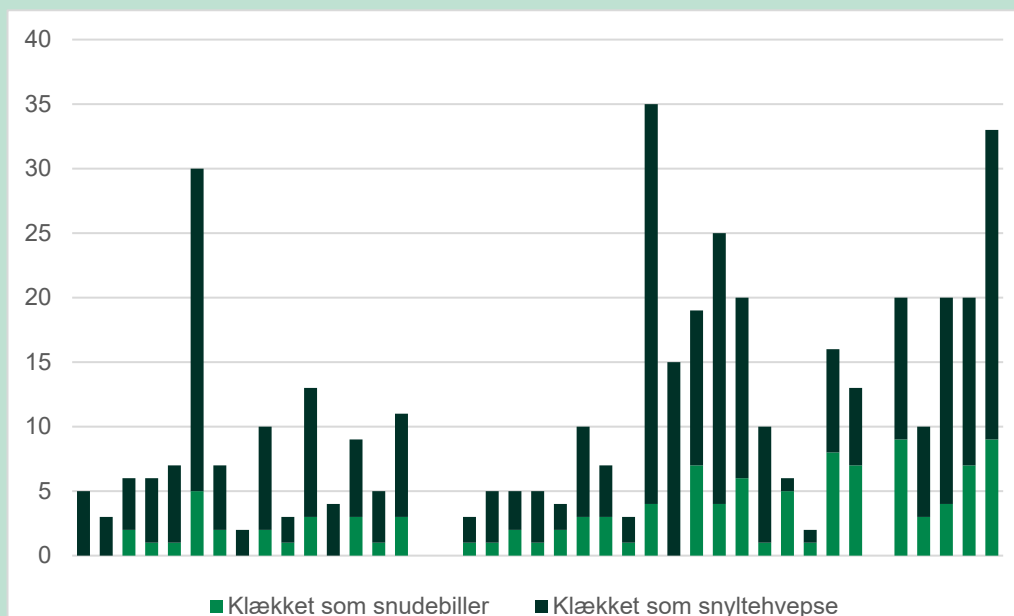
Skulpesnudebiller og deres snyltehvepse blev i 2020 fundet i alle 44 undersøgte marker, med mellem 2 og 38% af skulperne angrebet af skulpesnudebiller i den enkelte mark. I gennemsnit var 11% af de indsamlede 4400 skulper angrebet af snudebiller, dvs. havde ét (eller i <3% af skulperne to) synlige udgangshuller. Fra disse skulper klækkede 347 snyltehvepse, svarende til en parasiteringsgrad på 65%. Langt størstedelen (88%) af skulpesnudebillerne var parasiteret af *Trichomalus perfectus*, mens *Mesobolobus morys* og *Stenomalina gracilis* udgjorde henholdsvis 10% og 1%. I 2021 sås tilsvarende angrebsgrad og parasiteringsgrad (tabel 12). I hovedparten af de 44 marker (39) overskred parasiteringsgraden i 2020 den kritiske grænse på 32%, hvor det antages at parasiteringen har en effekt på populationen af værten. I 2021 gjaldt dette i 39 ud af 41 marker (figur 34 og 35, bilag 1).

TABEL 12. Forekomst og parasitering af skulpesnudebille 2020 og 2021

År	Antal marker	Antal skulper	Antal larver	Larver/100 skulper (min-max)	%parasiterede af alle larver (min-max)	Parasiteringsgrad gns. af marker (min-max)
2020	44	4400	505	11.2 (0-35)	65% (20-100)	75 (20-100)
2021	41	4100	426	10.4 (0-35)	74% (17-100)	74 (17-100)



FIGUR 23. Antal parasiterede og ikke-parasiterede skulpesnudebiller klækket fra 100 skulper, indsamlet i hver af 44 rapsmarker i 2020.



FIGUR 24. Antal parasiterede og ikke-parasiterede skulpesnudebiller klækket fra 100 skulper, indsamlet i hver af 41 rapsmarker i 2021.

6.4 Rapsskadedyr og deres snyltehvepse i forskellige landskaber

For rapsjordloppe og glimmerbøsse er sammenhængen med landskabsfaktorer undersøgt for antallet af værter/m², antallet af parasiterede værter/m², det totale antal snyltehvepseæg og -larver/m² samt for parasiteringsgraden. Da der kun klækker én snyltehveps fra hver parasiteret skadedyrslarve, er antallet af parasiterede skadedyr for disse solitære snyl-

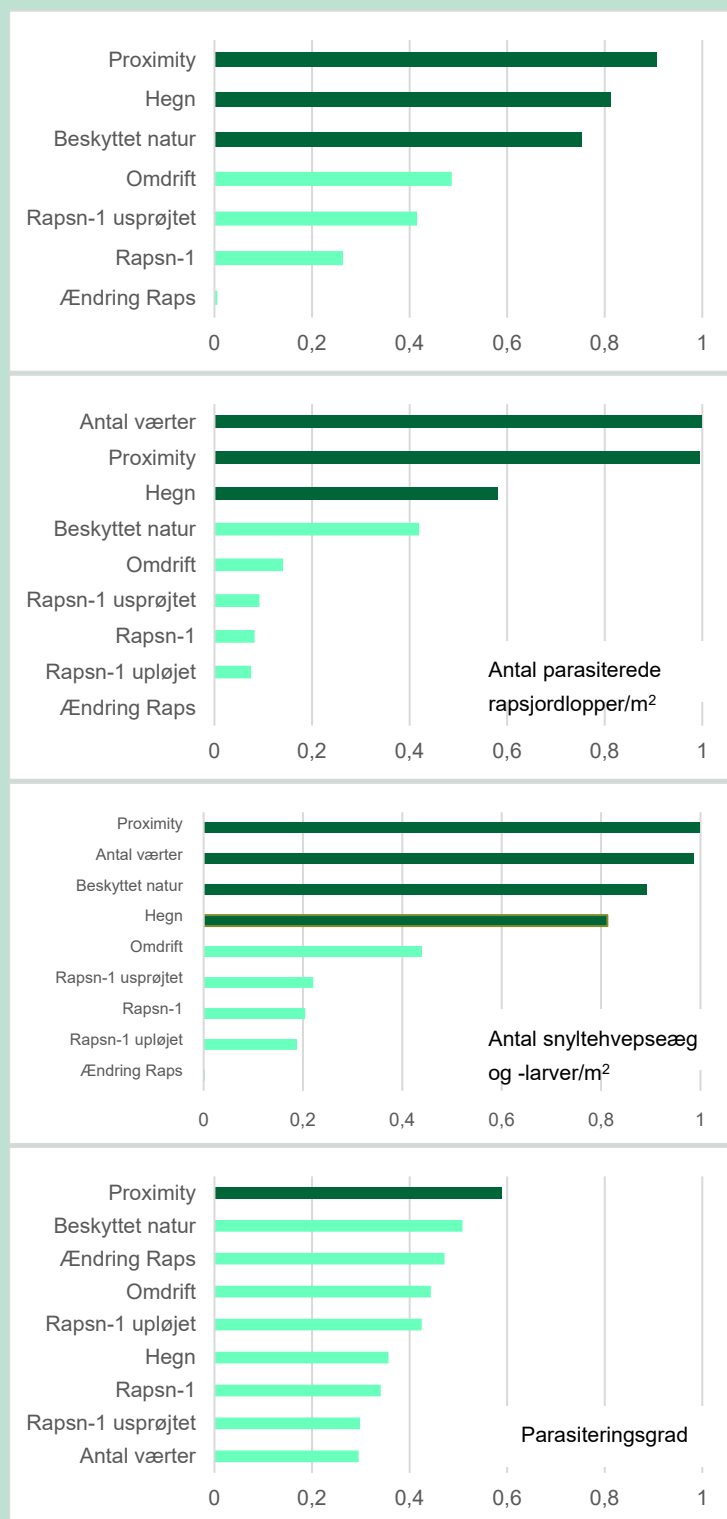
tehvæpse et udtryk for "produktionen" af snyltehvæpse og dermed for størrelsen af snyltehvæpsepopulationen det følgende år. Det totale antal snyltehvæpseæg og –larver i de parasiterede skadedyr kan ses som en proxy for antallet af snyltehvæpse, der har været aktive i undersøgelsesåret. Parasiteringsgraden er det traditionelle mål for snyltehvæpsenes potentielle nyttevirkning, fordi den viser andelen af skadedyrene, der bliver bekæmpet. Man skal imidlertid være opmærksom på, at samme parasiteringsgrad kan dække over helt forskellige situationer. Eksempelvis kan en parasiteringsgrad på 50% ses, både hvor halvdelen af en meget lille skadedyrspopulation bliver parasiteret af en meget lille snyltehvæpsepopulation, eller hvor et stort antal skadedyr bliver parasiteret af en stor population af snyltehvæpse.

6.4.1 Rapsjordloppe

Figur 22 viser sandsynligheden for, at de enkelte landskabsvariable indgår i den bedste statistiske model og identificerer dermed de variable blandt de undersøgte, der er bedst egnede som prediktorer. Det fremgår af figur 24, at landskabsvariablen "proximity", som kombinerer arealet af foregående års rapsmarker med deres nærhed til den undersøgte rapsmark, er den faktor, der konsistent indgår i flest af de bedste modeller for forekomst og aktivitet af rapsjordlopper og deres snyltehvæpse i den rapsmark, der er placeret i midten af landskabet. Sammenhængen er positiv (tabel 13), dvs. at jo flere store rapsmarker, der sidste år var placeret tæt på indeværende års rapsmark, jo flere rapsjordlopper, parasiterede rapsjordlopper, samlet antal snyltehvæpseæg og jo højere parasiteringsgrad ses i årets rapsmark. Ser man isoleret på den ene af komponenterne i variabelen "proximity", nemlig afstanden til sidste års nærmeste rapsmark, som er nemmere at forstå og handle på, ser det ud til, at det totale antal snyltehvæpseæg og –larver per m², som viser størrelsen af snyltehvæpsepopulationen, øges med nærheden til sidste års nærmeste rapsmark (Est= -3.39; CI: -6.67- -0.11; P=0.043). Der er derimod ingen sammenhæng mellem afstanden til den nærmeste af sidste års rapsmarker og antallet af rapsjordloppelarver per m² eller parasiteringsgraden. Sammenlignes rapsmarker med forskellig afstand til sidste års nærmeste rapsmark, er antallet af snyltehvæpseæg mindre i rapsmarker med stor afstand til den nærmeste af sidste års rapsmarker end i rapsmarker med lille afstand. Antallet af snyltehvæpseæg per m² er 18 i marker med over 500m til nærmeste sidste års rapsmark mod 34 i marker med under 500m (NS; P=0.20). Betydningen af afstand til sidste års mark er størst, når sidste års rapsmark ligger meget tæt på, idet antallet af snyltehvæpseæg per m² er tre gange så højt i rapsmarker med mindre end 250m til sidste års nærmeste mark sammenlignet med rapsmarker med større afstand til sidste års mark (45 mod 16; P=0.04). Antallet af snyltehvæpseæg per m² kan ikke oversættes direkte til parasiteringsgrad, idet superparasitering reducerer parasiteringen, og parasiteringsgraden er da heller ikke større i rapsmarker med <500m til foregående års nærmeste rapsmark end i rapsmarker med større afstand (hhv. 13.9% og 12.1%).

Udyrkede arealer som hegn og beskyttet natur indgår ligeledes hyppigt i de bedste modeller med en positiv sammenhæng mellem forekomsten af flere snyltehvæpse, målt ved antal snyltehvæpseæg og –larver, og forekomsten af hegn og andre udyrkede arealer (tabel 13). Det kan være svært at læse ud af de multivariate analyser vist i figur 22, hvor store de konkrete forskelle i antal rapsjordlopper og snyltehvæpse mellem forskellige landskaber er. Som en illustration af dette ses forekomsten af rapsjordlopper og deres snyltehvæpse i rapsmarker beliggende i landskaber med hhv. >30km hegn og <30km levende hegn (tabel 14). Tilstedeværelsen af mange levende hegn i det omgivende landskab indgår med en positiv, men ikke-signifikant sammenhæng i de bedste modeller (tabel 13), og viser i den dikotomiserede analyse en signifikant positiv indflydelse på det totale antal snyltehvæpseæg fundet i rapsjordloppelarver, idet antal snyltehvæpseæg per m² er mere end dobbelt så stort i marker beliggende i landskaber med mere end 30 km levende hegn end i marker beliggende i landskaber med færre hegn.

Antallet af rapsjordlopper (værter) spiller ingen rolle for parasiteringsgraden, dvs. der kan ikke forventes højere eller lavere parasiteringsgrader ved højere eller lavere angrebsgrad. Sammenlignet med de andre mål for forekomst og aktivitet af rapsjordlopper og deres snyltehvæpse er parasiteringsgradens sammenhæng med det omgivende landskab mindre klar. Det ses i figur 22 ved, at ingen landskabsvariable opnår en stor vægt. Parasiteringsgraden adskiller sig fra de tre andre variable ved at være en andel (%), dvs. at marker med ganske få skadedyr, hvoraf næsten alle er parasiteret af en lille snyltehvæpsepopulation, kan vise samme parasiteringsgrad som en mark med højt skadedyrsniveau og stor population af snyltehvæpse.



FIGUR 25. Relativ vægt af landskabsfaktorer som prediktorer for (a) antal rapsjordloppelarver per m², (b) antal parasiterede raps-jordloppelarver per m² (c) antal snyltehvepseæg og -larver per m² og (d) parasiteringsgrad (%parasiterede rapsjordlop-pelarver) i vinterrapsmarker 2020 og 2021. Relativ vægt er sandsynligheden for, at en given variabel optræder i den bedste model, beregnet som summen af associerede AICc vægte. For estimer og konfidensintervaller, se tabel 13. Variable vist med mørk søjle indgår i den bedste model. Variable vist med lys søjle har indgået i analysen, men indgår ikke i den bedste model.

Antal rapsjordlopper/m²

TABEL 13. Estimer og konfidensintervaller for landskabsvariable, der indgår i bedste model for landskabsfaktorerers sammenhæng med rapsjordlopper og dens snyltehvpese vist i figur 24. Hvis estimat (Est)>0 er effekten positiv, og konfidensintervaller, der ikke indeholder 0, er signifikante (**fed**). Hvis Odds Ratio (OR)>1 er effekten positiv, og konfidensintervaller der ikke indeholder 1, er signifikante (**fed**).

Responsvariabel	Landskabsvariabel	Est/OR (95% CI)
Rapsjordlopper/m ²	Proximity	6.46 (-14.23-27.16)
	Hegn	-1.63 (-11.46-8.20)
	Beskyttet natur	1.71 (-4.53 – 7.95)
Parasiterede rapsjordlopper/m ²	Antal værter	1.09 (0.68-1.49)
	Proximity	6.31 (2.55-10.06)
	Hegn	1.10 (-0.69-2.88)
Total antal snyltehvpeseæg/m ²	Proximity	19.73 (9.17-30.29)
	Antal værter	1.91 (0.78-3.04)
	Beskyttet natur	3.14 (-0.06-6.35)
	Hegn	2.91 (-2.23-7.86)
Parasiteringsgrad (OR)	Proximity	1.177 (1.175-1.178)

6.4.2 Glimmerbøsse

Glimmerbøsselarver

Som det ses i figur 23, hænger antallet af glimmerbøsselarver i rapsplanterne først og fremmest sammen med de landskabsparametre, der beskriver beliggenhed og areal af sidste års raps i det lokale landskab: proximity og afstand til sidste års nærmeste rapsmark. Få af faktorerne viser en signifikant sammenhæng og flere af dem stikker i hver sin retning (tabel 15). Det lokale landskabs indhold af beskyttet natur, levende hegn og det samlede udyrkede areal optræder i de bedste modeller, men optræder som både positivt (beskyttet natur) og negativt (hegn og samlet udyrket areal) relateret til antallet af glimmerbøsser. Vores resultater viser, at glimmerbøssernes biologi, hvor de voksne biller er meget mobile og flytter sig aktivt rundt i landskabet fra klækning i eftersommeren til næste forår betyder, at der ikke er stærke og konsistente sammenhænge med enkelte variable i det lokale landskab.

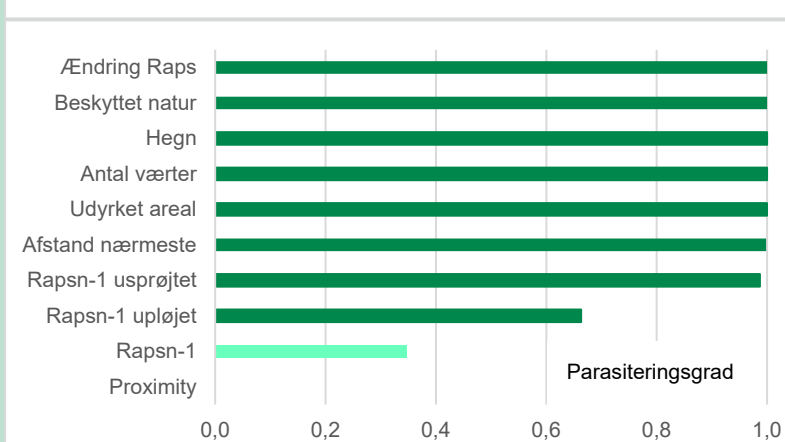
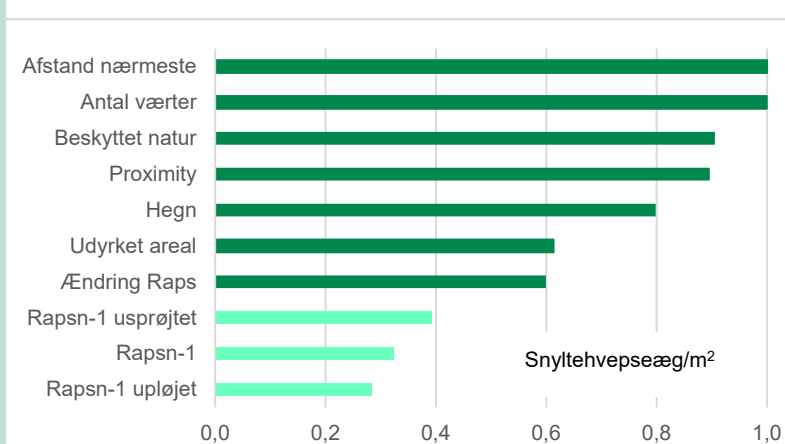
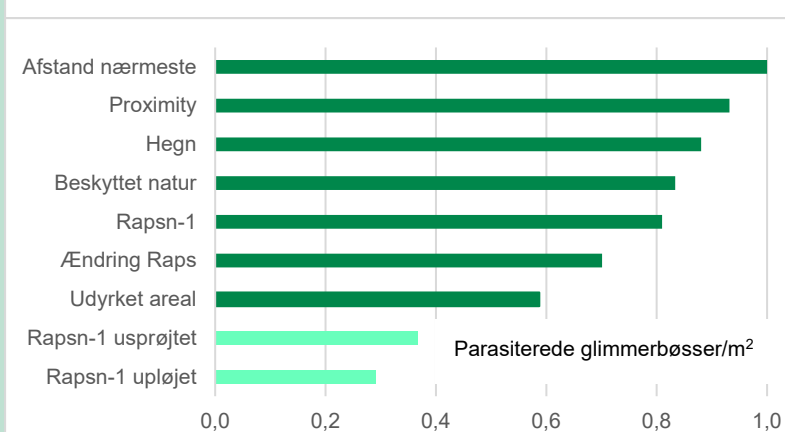
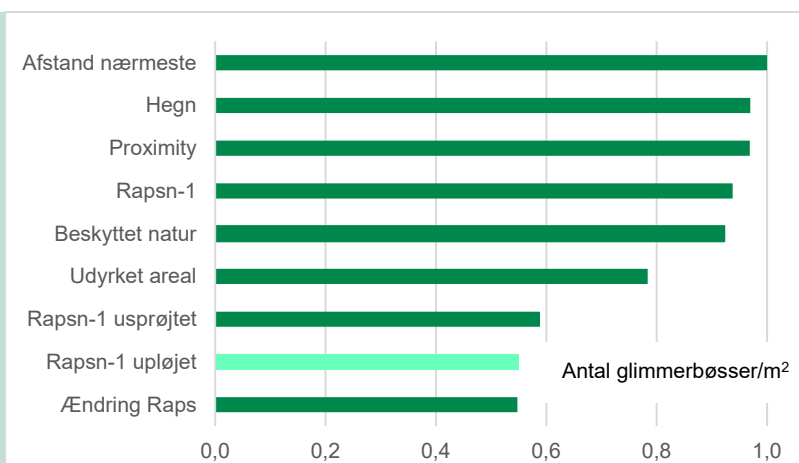
Glimmerbøssens snyltehvpese

Antallet af parasiterede glimmerbøsselarver og det totale antal snyltehvpeseæg i disse, der kan ansues som en proxy for populationen af snyltehvpese, er ligeledes knyttet til både rapsressourcen og til udyrkede arealer i det lokale landskab. Afstanden til den nærmeste af sidste års rapsmarker indgår som en af de hyppigste variable i de bedste modeller. Antagelsen, som er dokumenteret af Tschardt (2000) er, at glimmerbøssens snyltehvpese overvintrer i sidste års rapsmark og at afstanden derfor betyder noget, når de skal indvandre til den nye rapsmark i foråret. Også ændringen i rapsarealet fra foregående år til dette år indgår konsistent i den bedste model, således at rapsmarker beliggende i landskaber, hvori rapsarealet er reduceret fra foregående år, har et større antal parasiterede glimmerbøsser og indeholder samlet set flere snyltehvpeseæg og –larver. Det samlede antal snyltehvpeseæg er et udtryk for det antal snyltehvpese, der har indfundet sig i rapsmarken. Udover rapsarealets størrelse og beliggenhed optræder forskellige typer udyrkede arealer i det lokale landskab (hegn, beskyttet natur og samlet udyrket areal) ligeledes i de bedste modeller for forekomsten af parasiterede glimmerbøsselarver og total antal snyltehvpeseæg. Kun det samlede udyrkede areal er konsistent positivt associeret med forekomsten af snyltehvpese, mens hegn og beskyttet natur hver for sig fortrinsvis viser en negativ sammenhæng.

Parasiteringsgraden i glimmerbøsser er associeret med næsten alle de undersøgte landskabsvariable, som dog giver små ændringer (tabel 16). Parasiteringsgraden stiger med et reduceret rapsareal og falder med et øget rapsareal, hvilket tyder på, at de tilstedeværende snyltehvpese fordeler sig over årets rapsareal og dermed "fortyndes", når rapsarealet

øges. Denne fortyndings- og koncentrationseffekt, altså at parasiteringsgraden hænger sammen med ændringen i rapsareal, er også fundet af Thies et al. (2008), som fandt, at i landskaber, hvor rapsarealet var øget, var parasiteringsgraden signifikant lavere end hvor rapsarealet var reduceret siden året før. Thies et al. (2008) konkluderer, at disse resultater støtter ideen om, at "lokale populationer" kan være vigtigere for biologisk bekæmpelse end lokale dyrkningstiltag, såsom udyrkede striber, timing af insekticidspøjtninger og reduceret jordbehandling.

Det uklare billede af landskabsfaktorernes betydning for glimmerbøssen og dens snyltehvepse i figur 23 og tabel 16 og 17 kan skyldes flere ting. Dels er variationen stor mellem marker, både i angrebsgrad, dvs. antal glimmerbøsselarver, og dermed i parasiterede larver og i samlet antal snyltehvepseæg. Dette kan skyldes indsamlingsmetoden, hvor antallet er opgjort pr. plante og derefter omsat til antal pr. m² ved brug af markens plantetæthed. Selv ved samme plantetæthed er rapsplanterne af forskellig størrelse, hvad der ikke er korigeret for. Derudover spiller timingen af indsamlingen en stor rolle for resultaterne, idet forskellen i markernes geografiske beliggenhed indebærer betydelige forskelle i udviklingstrin af både raps og skadedyr. Det betyder eksempelvis, at fordelingen mellem første og andet stadium glimmerbøsselarver, hvor andet stadium er det stadium, der opgøres for parasitering, varierer mellem regioner, på trods af at indsamlingstidspunktet er justeret efter at ligge senere i fx Nord-Midtjylland end på Øerne. Endelig er de landskabsparametre, der beskriver dynamikken i arealanvendelsen, fx. rapsarealet, interannuelle ændringer i rapsareal osv., som omtalt i metodeafsnittet ikke uafhængige.



FIGUR 26. Relativ vægt af landskabsfaktorer associerede med variation i (a) antal glimmerbøsser/m², (b) antal parasiterede glimmerbøsser/m², (c) totalt antal snyltehvepseæg/m² og (d) parasiteringsgrad (%) af glimmerbøsser i 65 vinter-rapsmarker 2020 and 2021. Relativ vægt er sandsynligheden for, at en given variabel optræder i den bedste model, beregnet som summen af associerede AICc vægte. Mørke søjler angiver variable, der optræder i den bedste model. Estimer og 95% CI ses i tabel 15 og tabel 16. Variable vist med lys søjle har indgået i analysen, men indgår ikke i den bedste model.

TABEL 14. Estimer og konfidensintervaller for landskabsvariable, der indgår i den bedste model for landskabsfaktorerens påvirkning af glimmerbøsse og dens snyltehvepse, vist i figur 23. Hvis estimer > 0 er effekten positiv, og konfidensintervaller, der ikke indeholder 0, er signifikante (**fed**). Hvis Odds Ratio (OR) > 1 er effekten positiv, og konfidensintervaller der ikke indeholder 1, er signifikante (**fed**).

Responsvariabel	Landskabsvariabel	Est (95% CI)
Glimmerbøsser/m ²	Afstand nærmeste	-7.27 (-42.45-27.90)
	Hegn	-37.44 (-88.07-13.19)
	Proximity	-36.52 (-131.34-58.30)
	Raps_{n-1}	-6.59 (-12.09- -1.10)
	Beskyttet natur	6.33 (-41.90-54.55)
	Udyrket areal	-1.64 (-17.11-13.82)
	Ændring raps	-1.76 (-5.67-2.14)
Parasiterede glimmerbøsser/m ²	Afstand nærmeste	-0.83 (-9.88-8.21)
	Proximity	-14.92 (-39.31-9.47)
	Hegn	-8.43 (-21.31-4.45)
	Beskyttet natur	-6.47 (-18.84-5.88)
	Raps_{n-1}	-1.59 (-2.83- -0.35)
	Ændring raps	-1.12 (-2.10- -0.15)
	Udyrket areal	-1.18 (-2.72-5.07)
Total antal snyltehvepseæg/m ²	Afstand nærmeste	3.16 (-6.11-12.43)
	Antal værter	0.21 (0.14-0.29)
	Beskyttet natur	-11.31 (-25.58-2.96)
	Proximity	-7.71 (-35.28-19.85)
	Hegn	-1.34 (-16.01-13.32)
	Udyrket areal	1.99 (-2.36-6.34)
	Ændring raps	-0.95 (-1.96-0.07)

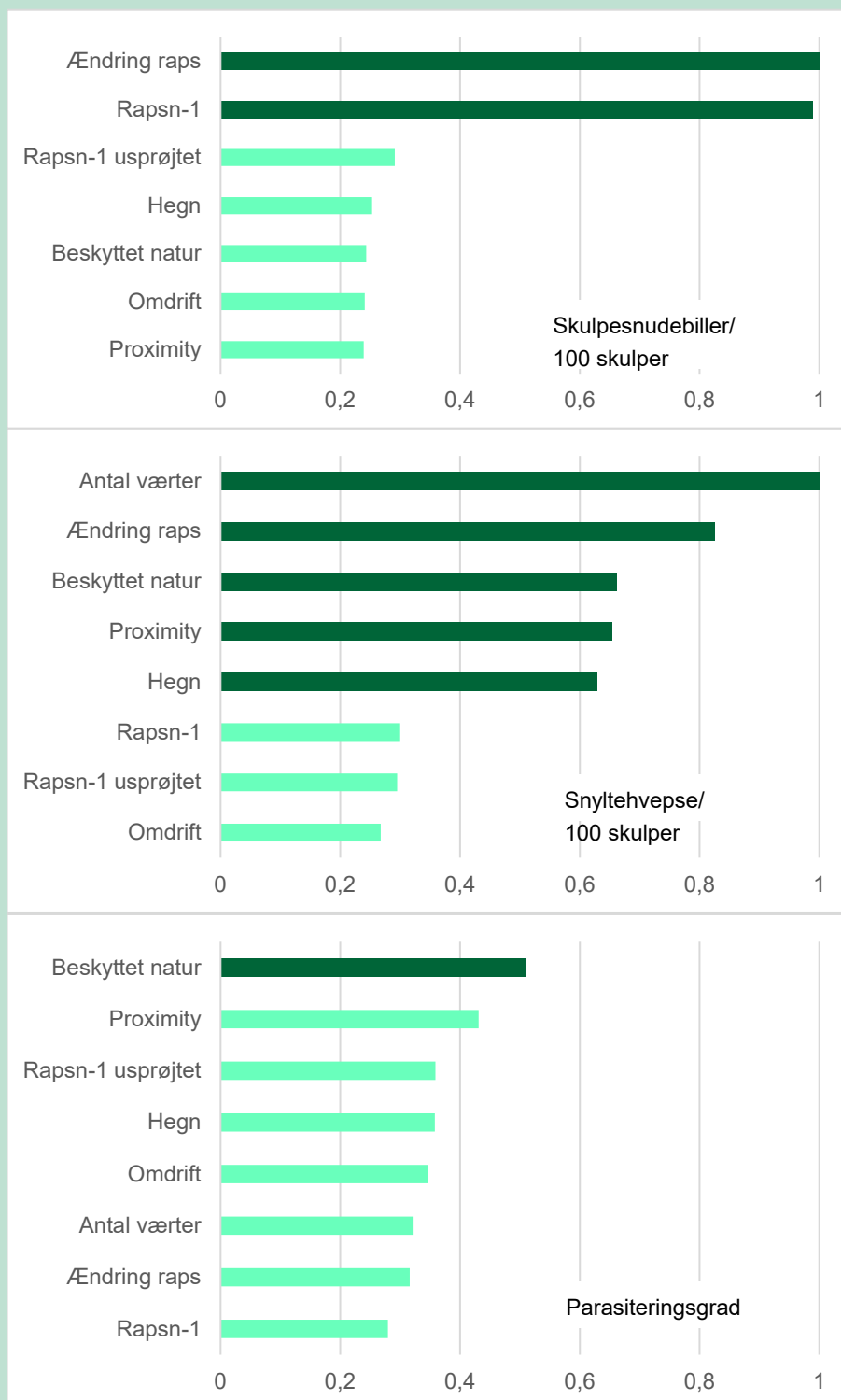
TABEL 15. Estimer og konfidensintervaller for landskabsvariable, der indgår i den bedste model for landskabsfaktorerens påvirkning af glimmerbøsse og dens snyltehvepse, vist i figur 26. Hvis Odds Ratio (OR) > 1 er effekten positiv, og konfidensintervaller der ikke indeholder 1, er signifikante (**fed**).

Responsvariabel	Landskabsvariabel	OR (95% CI)
Parasiteringsgrad	Ændring raps	0.990 (0.988-0.992)
	Beskyttet natur	0.908 (0.883-0.934)
	Hegn	1.110 (1.068-1.155)
	Antal værter	1.000 (1.000-1.001)
	Udyrket areal	1.022 (1.013-1.031)
	Afstand nærmeste	0.988 (0.970-1.006)

Responsvariabel	Landskabsvariabel	OR (95% CI)
	Raps_{n-1} usprøjtet	1.009 (1.005-1.013)
	Raps_{n-1} upløjet	1.006 (1.003-1.009)

6.4.3 Skulpesnudebille

Analysen af landskabsfaktorer identificerede fem variable med stor sandsynlighed for at optræde i den bedste model for sammenhængen mellem landskabsfaktorer og forekomsten af skulpesnudebillens snyltehvepse (figur 24). To af disse er relateret til det lokale rapsareal: ændring i rapsareal fra sidste år til dette år samt variabelen "proximity", som kombinerer areal og afstand til sidste års rapsmarker. Derudover spiller også arealet med beskyttet natur og tilstedeværelsen af hegn i det omgivende landskab en positiv rolle. Sammenhænge med parasiteringsgraden var noget mere uklar, idet kun beskyttet natur optræder hyppigere end alle andre variable, og ingen af dem skilte sig klart ud. Dette kan indikere, at snyltehvepsepopulationerne ser ud til at være i stand til at opretholde en høj parasiteringsgrad indenfor de aktuelle angrebsgrader på mellem 0 og 35 skulpesnudebiller/100 skulper i meget forskellige landskaber.



FIGUR 27. Relativ vægt af landskabsfaktorer associeret med variation i (a) antal skulpesnudebiller/100 skulper, (b) antal parasiterede snudebiller/100 skulper, og (c) parasiteringsgrad (%) af skulpesnudebiller i 2020 and 2021. Relativ vægt er sandsynligheden for, at en given variabel optræder i de bedste modeller, beregnet som summen af associerede AICc vægte. Mørke søjler angiver variable, der optræder i den bedste model. RR og 95% CI ses i tabel 17. Variable vist med lys søjle har indgået i analysen, men indgår ikke i den bedste model.

TABEL 16. Estimer og konfidensintervaller for landskabsvariable, der indgår i den bedste model for landskabsfaktorerens påvirkning af glimmerbøsse og dens snyltehvepse, vist i figur 29. Hvis RR/OR>1 er sammenhængen positiv, og konfidensintervaller, der ikke indeholder 1, er signifikante (**fed**).

Responsvariabel	Landskabsvariabel	RR/OR (95% CI)
Skulpesnudebiller/100 skulper	Ændring raps	0.983 (0.980 – 0.986)
	Raps_{n-1}	0.983 (0.981 – 0.986)
Snyltehvepse/100 skulper	Antal værter	1.072 (1.064 – 1.081)
	Ændring raps	0.996 (0.994 – 0.999)
	Beskyttet natur	1.022 (1.001 – 1.045)
	Proximity	0.919 (0.839 – 1.006)
	Hegn	1.035 (0.999 – 1.072)
Parasiteringsgrad OR	Beskyttet natur	1.055 (0.987 – 1.127)

En mere håndgribelig illustration af, hvordan forskelle i de enkelte landskabsfaktorer hænger sammen med størrelsesforskelle i forekomsten og aktiviteten af skulpesnudebiller og dens snyltehvepse, fås fra den dikotomiserede analyse (tabel 18). Her er kontinuerte landskabsvariable som fx "hektar ændring i rapsareal" eller "kilometer lineære biotoper" omsat til to kategorier, her "øget/reduceret rapsareal" eller "lineære biotoper under/over 50 km". Tabel 18 viser, at både antal skulpesnudebiller og antal snyltehvepse pr 100 skulper er signifikant højere i rapsmarker beliggende i landskaber, hvor rapsarealet er reduceret fra sidste år til dette år end i landskaber, hvor rapsarealet er øget (snudebiller: 13.7 vs. 9.1; snyltehvepse: 10.1 vs 7.0). Det ses desuden, at der er flere snyltehvepse i rapsmarker beliggende i landskaber med mere end 30 ha beskyttet natur eller med mere end 50 km lineære biotoper end i landskaber med mindre udyrket areal. I modsætning til antallet af skulpesnudebiller og deres snyltehvepse pr 100 skulper er parasiteringsgraden på skulpesnudebiller ikke associeret med landskabsfaktorer.

TABEL 17. Sammenhæng mellem landskabsvariable og forekomst og aktivitet af skulpesnudebiller og deres snyltehvepse i 84 undersøgte rapsmarker. Signifikante effekter med fed.

Variabel	Dikotomiseret variabel	Skulpesnudebiller/ 100 skulper	P-value	Snyltehvepse/ 100 skulper	P-value
Raps _{n-1}	< 40 ha/ ≥ 40 ha	12.9/8.1	0.059	10.0/5.7	0.026
Ændring raps	Reduceret/øget	13.7/9.2	0.016	10.1/7.0	<0.0001
Raps _n	< 40 ha/ ≥ 40 ha	16.1/6.1	<0.0001	11.9/4.6	<0.0001
Afstand nærmeste	< 500m/ ≥ 500m	11.6/10.1	0.29	8.6/7.7	0.39
Beskyttet natur	< 30 ha/ ≥ 30 ha	9.8/12.1	0.18	6.8/9.7	<0.0001
Lineære biotoper	< 50 km/ ≥ 50 km	9.2/12.9	0.35	6.3/10.5	<0.0001
Udyrket areal	< 150 ha/ ≥ 150ha	9.6/12.4	0.33	6.8/9.7	<0.0001
Markdrift	konventionel/økologisk	11.9/6.9	0.053	8.9/5.1	0.044

Som det ses i tabel 18 er antallet af både skulpesnudebiller og deres snyltehvepse mindre i økologiske marker end i konventionelle. Dette skyldes med stor sandsynlighed, at de 17 økologiske marker, der indgik i undersøgelsen, tilfældigvis var lokaliseret i landskaber, hvori rapsarealet i gennemsnit var næsten fordoblet i forhold til foregående år, mens rapsarealet i landskaberne omkring de undersøgte konventionelle rapsmarker var stabile. Dette resultat demonstrerer kompleksiteten forbundet med at identificere betydende landskabsvariable.

6.5 Forekomst af voksne snyltehvepse i danske rapsmarker

Forekomsten af voksne snyltehvepse fanget i vandfælder i 29 rapsmarker 19.-22.april 2020 ved begyndende blomstring viser, at et betydeligt antal af de specialiserede rapssnyltehvepse er tilstede allerede fra sidst i april, hvor man traditionelt bekæmper glimmerbøsser og bladribbesnudebiller med insekticider (tabel 19). Indsamlingen af voksne snyltehvepse i vandfælder skete samtidig med indsamlingen af rapsjordloppelarver til opgørelse af parasiteringsgrad. For rapsjordloppens snyltehvepse er der derfor mulighed for at sammenholde fund af voksne snyltehvepse i fældefangsterne og den tilstedeværelse, som parasitering af rapsjordlopperne er bevis for.

TABEL 18. Voksne snyltehvepse, relevante for rapsskadedyr, fundet i vandfælder i 29 rapsmarker, 18-22.april 2020. Fed angiver identifikation til art eller artsgruppe.

Familie	Underfamilie	Slægt	Art	Fund, antal marker	Parasiterer
Braconidae	Alysiinae: Dacnusiini			23	Minerfluer
Eulophidae	Entedoninae	Chrysocaris	Sp	18	Minerfluer
Diapriidae	Diapriinae			14	
Braconidae	Aphidiinae	Aphidius	Sp	13	Bladlus
Mymaridae	Mymarinae	Anaphes	fuscipennis-gruppe	11	Skulpesnudebille
Ceraphronidae				11	
Ichneumonidae	Tersilochinae	Tersilochus	Microgaster	8	Rapsjordloppe
Megaspilidae				8	
Braconidae	Aphidiinae	Diaeretiella	Rapae	7	Bladlus
Ichneumonidae	Tersilochinae	Tersilochus	Heterocerus	6	Glimmerbøsse
Pteromalidae	Pteromalinae	Cyrtogaster	Vulgaris	5	Minerfluer
Ichneumonidae	Tersilochinae	Tersilochus	Obscurator	4	Bladribbesnudebille
Eulophidae	Eulophinae	Necremnus	tidius-group	3	Skulpesnudebille
Platygastridae	Platygastrinae	Platygaster		3	
Figitidae	Eucoilinae			3	
Figitidae	Eucoilinae	Kleidotoma	sp	2	
Pteromalidae	Pteromalinae	Mesopolobus	sp	2	<i>M. morys</i> på skulpesnudebille
Ichneumonidae	Cryptinae	Stibeutes	curvispina	2	Bladribbesnudebille
Pteromalidae	Pteromalinae	Trichomalus	perfectus	2	Skulpesnudebille
Pteromalidae	Pteromalinae	Trichomalus	sp	2	
Pteromalidae	Pteromalinae	Trichomalus	perfectus/lucidus	1	Skulpesnudebille eller bladribbesnudebille
Ichneumonidae	Campopleginae			2	
Encyrtidae				2	
Figitidae	Charypinae	Alloxysta		1	
Pteromalidae	Pteromalinae	Callitula	bicolor	1	
Ichneumonidae	Tersilochinae	Phradis	interstitialis	1	Glimmerbøsse
Braconidae	Aphidiinae	Praon	sp	1	Bladlus
Pteromalidae	Pteromalinae	Stenomalina	sp	1	

Vandfælder fanger alt, hvad der rører sig. Berger et al. (2018, 2019) undersøgte ligesom i dette projekt forekomsten af biller og deres snyltehvepse med vandfælder på jorden placeret i sydsvenske rapsmarker fra starten af maj. Han dokumenterer den store diversitet i insekter, der bruger rapsmarker. Han fandt 15 billearter, knyttet til rapsafgrøden, og deres 24 snyltehvepsearter, herunder biller kendt som rapsskadedyr. Derudover fangede han 50 billearter og 53 snyltehvepsearter, der blot er "turister", dvs. som ikke vides at være knyttet til rapsen. Selvom vores indsamlingsperiode sidst i april ligger tidligere på sæsonen end Berger's (2019) og var kortere (3 døgn mod 30 døgn), viser resultaterne, at der er mange snyltehvepse tilstede allerede inden rapsens blomstring.

Snyltehvepse af triben Dacnusiini (Braconidae: Alysiinae), som parasiterer minérfluer (Peris-Felipo et al., 2016) var mest udbredt, idet de blev fundet i 23 ud af de 29 marker (tabel 19). Også slægten *Chrysocaris*, hvoraf mange parasiterer minérfluer, og snyltehvepse af underfamilien Diapriinae, som fortrinsvis parasiterer fluer og andre tovinger (Nixon, 1980), blev fundet i mange marker. *Aphidius*-arter, der parasiterer bladlus, blev fundet i cirka halvdelen af markerne. Derimod er de snyltehvepse, der er relevante for de tre undersøgte rapsskadedyr, alle fundet i mindre end 10 af de 29 marker. Det gælder også snyltehvepse som fx *Tersilochus microgaster*, hvis parasitering af rapsjordloppelarver i samtlige undersøgte marker dog viser, at den har været tilstede og aktiv i markerne, men ikke er fanget i vandfælderne. Den sporadiske forekomst gælder også skulpesnudebillens snyltehvepse, som normalt antages først at være tilstede lige omkring blomstring (Johnen et al., 2010). Ifølge Johnen flyver den hyppigst forekommende snyltehveps, *T. perfectus*, ind i rapsmarken ved maksimumstemperaturer over 17 °C, men hovedindflyvningen sker først når de daglige middeltemperaturer kommer over 14 °C. *T. perfectus* blev i vores vandfælder fundet allerede i slutningen af april i et par marker. I april 2020 var maksimumstemperaturen over 17 °C tre gange i ugerne op til fældefangsterne i de to marker, hvor *T. perfectus* med sikkerhed blev fundet.

Resultaterne fra vandfældefangster viser, at metoden ikke er egnet til at kortlægge forekomsten af snyltehvepsearter i rapsmarker i denne type undersøgelser, med mange marker og lille indsamlingsintensitet. I en voksende rapsafgrøde er vandfælder placeret på jorden ikke effektive nok overfor snyltehvepse, der vil søge efter værts i afgrødens øvre dele. Dette er formentlig årsagen til, at selv de snyltehvepsearter, hvis tilstedeværelse i næsten alle marker vi har kunnet konstatere ved deres parasitering af skadedyrene, ikke er fundet konsistent i fældefangsterne.

6.6 DNA metoder til identifikation og monitoring

6.6.1 Detektion af kendte arter af snyltehvepse i blandinger af insekter

Ved hjælp af mock samples, der simulerer blandinger af insekter, som i forskning og monitoring fremkommer fx ved sortering af vandfældefangster, testede vi, om kendte arter af snyltehvepse kunne detekteres, dels i blanding med hinanden (blanding A), dels i blanding med andre insekter (blanding B).



FIGUR 28. Blanding A før (tv) og efter ikke-destruktiv DNA ekstraktion (th). Blanding A er en ren snyltehvepseprøve, som simulerer prøve fra vandfælde efter udsortering af snyltehvepse. Blandingen indeholder 6 arter/grupper snyltehvepse med hver 3-4 individer. Arterne *Tersilochus heterocerus*, *T. obscurator/microgaster*, *Phradis interstitialis* og *Trichomalus*

perfectus har indgået i udviklingen af primere til analysen. En ikke-identificeret, men meget udbredt snyltehveps tilhørende *Dacnusiini* (*Alysiinae*) samt individer af gruppen *Mymaridae* er medtaget for at se, om de bliver detekteret.

TABEL 19. Detekterede arter snyltehvepse i blanding A efter amplikonsekventering. Resultatet viser tilstedeværelsen af enkelte arter, men ikke kvantiteten.

Organisme identificeret fra DNA	% af DNA co-amplificeret	
Snyltehvepse	Gentagelse 1	Gentagelse 2
<i>Tersilocus heterocerus</i>	36%	30%
<i>Tersilocus obscurator</i>	43%	36%
<i>Trichomalus perfectus</i>	8%	7%
<i>Phradis interstitialis</i>	3%	21%
Andet:		
Endosymbiont bakterie	8%	3%
Totalt DNA annoteret	98%	97%

Som det ses i tabel 20 blev DNA for alle de 4 arter af snyltehvepse, som har indgået i udviklingen af primere, identificeret i begge gentagelser, mens hverken snyltehvepse i *Dacnusiini* eller *Mymaridae*, som ikke har indgået i udviklingen af primere, blev detekteret. Analysen viste, at individer af artskomplekset *T. microgaster/obscurator*, som morfologisk er vanskelige at adskille, udelukkende var *T. obscurator*. Desuden blev der fundet DNA fra endosymbiontiske bakterier. Dette resultat var tilfredsstillende, da alle fire kendte arter af snyltehvepse blev detekteret.



FIGUR 29. Blanding B før ikke-destruktiv DNA ekstraktion. Blanding B er en blandet prøve med mange insektgrupper, som skal simulere en prøve fra vandfælde efter grovsortering. Indeholder to arter snyltehvepse, *Tersilochus heterocerus* (5 ind.), *Trichomalus perfectus* (3 ind.), springhaler (9 ind.), rovbille/løbebillelarver (4 ind.), voksne rovbiller (4 ind.), store fluer (3 ind.), myg (2 ind.), voksne rapsjordlopper (1 ind.), kuglespringhaler (2 ind.), bladlus (2 ind.), sommerfuglelarve (1 ind.). Arterne

TABEL 20. Detekterede arter og grupper i blanding B efter amplikonsekventering. Resultatet viser tilstedeværelsen af enkelte arter/grupper, men ikke kvantiteten.

Organisme identificeret fra DNA	% af DNA co-amplificeret	
	Gentagelse 1	Gentagelse 2
Snyltehvepse		
<i>Tersilocus heterocerus</i>	22%	23%
<i>Trichomalus perfectus</i>	14%	13%
Andet		
Ferskenbladius (<i>Myzus persicae</i>)	9%	9%
Kålmøl (<i>Plutella xylostella</i>)	26%	25%
Springhaler	4%	4%
Rapsjordloppe (<i>Psylliodes chrysocephala</i>)	22%	23%
Endosymbiont bakterie	1%	1%
Totalt DNA annoteret	98%	98%

Som det ses af tabel 21, blev der i begge gentagelser fundet DNA fra begge de to målarter af snyltehvepse, *Tersilochus heterocerus* og *Trichomalus perfectus*, som var tilstede i sample B og som begge har indgået i udviklingen af primere. For øvrige insekter blev der fundet DNA fra bladlus, rapsjordlopper, kålmøl og springhaler samt fra endosymbiontiske bakterier. DNA fra rov- og løbebiller samt fra fluer og myg (Diptera) blev ikke fundet, selvom disse udgjorde en stor del af det biologiske materiale, der blev sekventeret. Dette resultat var tilfredsstillende, da vi målrettet er gået efter at kunne finde DNA-signaler fra de relevante snyltehvepse, selv i en blanding med store mængder andet DNA. I dette tilfælde er fx *Trichomalus perfectus* en lille, spinkel snyltehveps, men kan alligevel genfindes.

6.6.2 Sammenligning af destruktiv og non-destruktiv ekstraktion

En non-destruktiv ekstraktionsmetode giver den ekstra sikkerhed, at man i tvivlstilfælde kan gå tilbage til de oprindelige insektindivider og re-identificere dem morfologisk. I tabel 22 er resultaterne af en non-destruktiv ekstraktion og en efterfølgende destruktiv ekstraktion af samme blanding sammenstillet. I tabellen ses gennemsnittet af de to gentagelser af amplikonsekventering lavet med destruktiv ekstraktion sammenholdt med to amplikonsekventeringer med ikke-destruktiv DNA-ekstraktion af samme blanding.

TABEL 21. Detekterede arter ved hhv. destruktiv og ikke-destruktiv DNA-ekstraktion af blanding A. Resultatet viser tilstedeværelsen af enkelte arter/grupper, men ikke kvantiteten.

Organisme identificeret fra DNA	% af DNA co-amplificeret		
	Destruktiv (gennemsnit)	Non-destruktiv	
		Gentagelse 1	Gentagelse 2
Snyltehvepse			
<i>T. heterocerus</i>	33%	7%	3%
<i>T. obscurator</i>	40%	10%	8%
<i>T. microgaster</i>	0%	1%	1%
<i>T. perfectus</i>	7%	66%	60%
<i>P. interstitialis</i>	12%	4%	24%
<i>Anaphes</i> sp.	0%	2%	1%
Andet:			
Endosymbiont bakterie	6%	7%	2%
Totalt DNA annoteret	98%	98%	98%

Tabel 22 viser, at der ved begge ekstraktionsmetoder detekteres fire snyltehvepsearter. Derudover detekteres der med den non-destruktive metode to arter af snyltehvepse, som ikke fremkommer i den destruktive metode. Den ene af de to arter af snyltehvepse, som findes med den non-destruktive metode, men ikke med den destruktive metode, er *T. microgaster*. Denne art er en af de syv kendte arter, som har indgået i udvikling af primere, og som morfologisk kan være svært at skelne fra *T. obscurator*. En mulig forklaring på, at DNA fra *T. microgaster* kun kan findes i den non-destruktive metode, er, at de tre individer af *T. obscurator* i blandingen tidligere har været opbevaret i ethanol sammen med individer af *T. microgaster*. Den non-destruktive ekstraktionsmetode detekterer DNA fra den væske, som er på dyrenes overflade. Det betyder, at den samlede mængde DNA fra dyrene i blandingen, der undersøges, er langt mindre end ved den destruktive metode, hvilket kan åbne mulighed for, at arter, hvis DNA findes i selv små mængder, kan detekteres. Dette kan også være forklaringen på, at slægten *Anaphes* (*Mymaridae*), som er meget små snyltehvepse, kun findes med den non-destruktive metode. Samlet set viser testen af blanding A, at den non-destruktive metode fungerer mindst lige så effektivt som den destruktive, når formålet er at beskrive forekomsten af snyltehvepse i blanding.

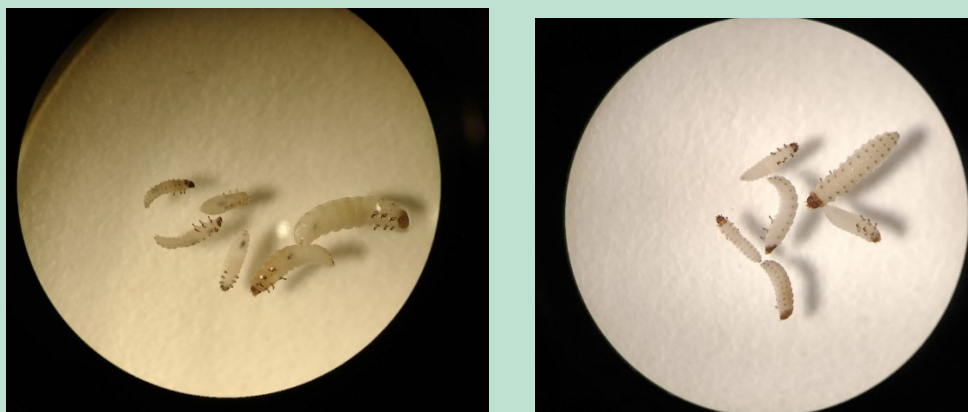
TABEL 22. Detekterede arter ved hhv. destruktiv og ikke-destruktiv DNA-ekstraktion af blanding B. Resultatet viser tilstedeværelsen af enkelte arter/grupper, men ikke kvantiteten.

Organisme identificeret fra DNA	% af DNA co-amplificeret		
	Destruktiv (gennemsnit)	Non-destruktiv	
Snyltehvepse		Gentagelse 1	Gentagelse 2
<i>T. heterocerus</i>	23%	14%	6%
<i>T. perfectus</i>	14%	11%	10%
<i>Praon gallicum</i>	0%	3%	6%
Andet:			
Ferskenbladlus (<i>Myzus persicae</i>)	9%	2%	8%
Kålmøl (<i>Plutella xylostella</i>)	24%	2%	1%
Springhale	4%	66%	65%
Rapsjordloppe	22%	0%	0%
Endosymbiont bakterie	1%	1%	3%
Totalt DNA annoteret	97%	99%	99%

Resultaterne for blanding B viser ligesom for blanding A, at begge relevante snyltehvepsearter detekteres med både den non-destruktive og den destruktive ekstraktionsmetode (tabel 23). Med den non-destruktive metode findes derudover DNA fra en snyltehveps på bladlus, *Praon gallicum*, som enten kan stamme fra en parasiteret bladlus i blandingen eller fra væsken, hvori insekterne har været opbevaret. Relevante arter af snyltehvepse findes således med den non-destruktive metode såvel som med den destruktive metode, og de to metoder kan måske til visse formål supplere hinanden, således at den non-destruktive medtager arter eller grupper, hvis DNA forekommer i små mængder. Hvorvidt dette er korrekt, kræver dog mere systematiske undersøgelser.

6.6.3 Test af detektion af parasitering med amplikonsekventering

Parasitering af glimmerbøssen og rapsjordloppens larve opgøres normalt ved dissektion af enkeltlarver. De mørke æg af glimmerbøssens dominerende snyltehveps, *T. heterocerus*, kan ofte ses uden dissektion. Da man ikke kan se alle æg, vil en visuel opgørelse give et groft billede af parasiteringsgraden, som dog kan være underestimeret. Derudover parasiteres glimmerbøsser også af *Phradis interstitialis*, hvis æg er hvide og ikke kan ses uden dissektion. Der blev indsamlet seks larver af glimmerbøsser uden synlige tegn på parasitering og seks larver med synlige tegn på parasitering (æg synligt som mørkt legeme i larven). DNA fra de to grupper af larver blev ekstraheret og amplikonsekventeret.



FIGUR 30. Glimmerbøsselarver med (tv.) og uden (th.) mørke æg af *Tersilochus heterocerus*, som er synlige gennem larvens hud inden DNA-ekstraktion.

TABEL 23. Detekterede arter ved destruktiv DNA-ekstraktion af glimderbøsselarver parasiteret af *Tersilochus heterocerus* (synlige sorte æg) (tv) og uden synlig parasitering (th). Resultatet viser tilstedeværelsen af vært og snyltehveps, men ikke kvantiteten.

Organisme (identificeret fra DNA)	%DNA co-amplificeret	
	Ikke-parasiterede larver	Parasiterede larver
Glimderbøsse (bille, vært)	100%	1%
<i>T. heterocerus</i> (snyltehveps)	0%	97%
Totalt DNA annoteret	100%	98%

Det ses af tabel 24, at der i glimderbøsselarverne uden synlige snyltehvepseæg udelukkende blev detekteret DNA fra glimderbøsser. Selvom vores undersøgelser ikke er kvantitative, ser det i glimderbøsselarver med synlige æg ud til, at snyltehvepseæggene næsten "overdøver" DNA fra glimderbøsselarverne på trods af, at snyltehvepseæggene er så små. Det skyldes, at primerne er målrettet snyltehvepse-DNA. Vi konkluderer, at metoden med destruktiv ekstraktion er ganske effektiv til at detektere de kendte snyltehvepses parasitering af larver.

6.6.4 Perspektiver i brug af DNA-metoder

Amplikonsekventering med den her beskrevne metode og med anvendelse af især non-destruktiv DNA-ekstraktion (Lucigen) kan anvendes til at detektere tilstedeværelsen af kendte snyltehvepse fanget i vandfælder sammen med andre insekter. Vores resultater viser, at de syv arter, der indgik i den indledende molekylære undersøgelse og i udviklingen af primere, kan detekteres i selv ret diverse blandinger med mange andre og større insekter. Resultaterne viser, at det er muligt at målrette metoden til at detektere en begrænset insektgruppe, ved valg og udvikling af primere. Ved at ændre på sekvensen af disse vil metoden kunne tilpasses til at detektere flere arter af snyltehvepse samt helt andre arter af insekter, om dette ønskes. Anvendt med destruktiv ekstraktion, kan metoden også anvendes på larver af insekter med henblik på at detektere eventuel parasitering af disse. I tilfældet med glimderbøsser ses, at metoden har en høj selektivitet for at amplificere netop snyltehvepse-DNA, selvom der her er tale om få og små snyltehvepseæg i store værtslarver. Metoden må derfor anses for at være ret følsom til dette formål. Selve amplikonsekventeringen og den bioinformatiske del af metoden er ret tids- og omkostningskrævende, men udviklingen sker hurtigt indenfor området (se fx Ye et al., 2017). Hvis metoden skal anvendes i større skala til overvågning eller monitorering skal den automatiseres mest muligt. Dette er teknisk muligt, og en analysetid på ca 3 dage vil derfor være mulig. Endelig skal man være opmærksom på, at de tilgængelige databaser er af varierende kvalitet, således at vi eksempelvis fandt fejllannoterede sekvenser for *Tersilochus heterocerus*, uploadet under betegnelsen *Phradis interstitialis*, i BOLD databasen (<https://www.boldsystems.org/>) side om side med korrekte sekvenser for *P. interstitialis*.

7. Diskussion

7.1 Snyltehvepsenes betydning

Undersøgelsen har vist, at snyltehvepse er almindeligt forekommende i danske rapsmarker, og at det især er skulpesnudebillelarver, som bliver parasiteret. Den gennemsnitlige parasiteringsgrad af skulpesnudebillellens larver var 75%, hvorimod parasiteringsgraden i glimmerbøsser og jordlopper i gennemsnit var henholdsvis 29% og 12%. Hvad dette betyder for skadedyrenes evne til at forvolde tab er uvist. Sikkert er det imidlertid, at snyltehvepsene bidrager til en reduktion af skadedyrsbestandene sammen med en række andre faktorer. Snyltehvepsenes parasitering af larvestadiet, som vi har haft fokus på i dette studie, er således kun én ud af mange mortalitetsfaktorer, der rammer larvestadiet, og mortalitetsfaktorer vil også gøre sig gældende i de andre livsstadier. For at kunne kvantificere snyltehvepsenes betydning for den samlede population af skadedyr, ville det være nødvendigt med såkaldte life-tables, som beskriver skadedyrenes samlede livscyklus og de faktorer, som har betydning for deres samlede populationsstørrelse. Sådanne life-tables findes der imidlertid kun få af for de tre skadedyr (fx Haye et al., 2010). Der eksisterer en hel del fragmenteret viden, som for eksempel at vinterdødeligheden af voksne glimmerbøsser kan udgøre op til 96-98% (Hokkanen, 2018), hvilket i praksis viser sig ikke at eliminere glimmerbøssernes evne til at forvolde skade i raps. Det må derfor konkluderes, at selvom undersøgelsen viser, at snyltehvepse er med til at reducere antallet af skadedyr i markerne, så er det uvist hvor stor betydningen er.

7.2 Hvor præcis er opgørelsen af parasiteringsgraden?

Som ved alle andre biologiske undersøgelsesmetoder er der usikkerheder i registreringsmetoderne. Dette rækker dog ikke ved det faktum, at snyltehvepsene er almindeligt forekommende og parasiterer betydelige andele af skadedyrene.

For rapsjordloppernes og glimmerbøssernes vedkommende vil indsamlingstidspunktet påvirke de resultater man får. Dels fordi der på et bestemt tidspunkt vil være larver i forskelligt udviklingsstadium, som snyltehvepsene foretrækker i forskellig grad. Dels fordi larverne af både glimmerbøssen og rapsjordloppen forlader planterne og firer sig til jorden, når de er ved at være færdigudviklede. Det betyder, at man ideelt set skal indsamle skadedyrslarverne så sent, at flest mulige larver har nået det af snyltehvepsene foretrukne stadium, men så tidligt, at ingen af skadedyrslarverne har forladt planterne. Indsamler man for tidligt, er der risiko for at underestimere parasiteringsgraden, mens man ved en for sen indsamling vil "misse" den del af skadedyrene, der allerede har forladt planterne.

Parasiteringsgraden defineres for rapsjordlopper og glimmerbøsser som andelen af skadedyr, der ved dissektion indeholder én eller flere snyltehvepse, enten som æg eller larver. De undersøgte snyltehvepse er alle solitære, dvs. der klækker højst én snyltehveps fra hver værtslarve, uanset om den indeholder én eller flere snyltehvepse. Både rapsjordloppens og glimmerbøssens snyltehvepse lægger imidlertid æg i værtslarver, der allerede er parasiterede. Denne superparasitering har tidligere været anset som en biologisk fejl, dvs. som "ægspild", og vores data viser da også, at mellem 16 og 27% af glimmerbøssesnyltehvepsenes æg bliver "spildt", dvs. bliver placeret i larver med mere end ét æg, mens over halvdelen af rapsjordloppens snyltehveps spildes. Selvom det ikke er eksperimentelt dokumenteret for rapsjordloppe eller glimmerbøsse, ser superparasiteringen imidlertid ud til at være en strategi, der skal maksimere overlevelsen af snyltehvepseæg ved at udmatte værtslarvens immunforsvar og derved reducere dens reaktioner, fx indkapsling af snyltehvepsens æg og larver (van Alphen & Visser, 1990). Superparasitering nævnes sjældent i opgørelser af parasitering af rapsjordloppe og glimmerbøsse, og det er uvist hvilken rolle de spiller i samspillet mellem skadedyr og snyltehvepse.

7.3 Kan skadedyrene beskytte sig mod parasitering og hvad betyder det for parasiteringens effekt?

Da vi startede projektet, var vi ikke opmærksomme på rapsjordloppelarvens evne til at indkapsle snyltehvepsenes æg og larver. Indkapsling nævnes nemlig kun sjældent – og da ret henkastet – i publicerede undersøgelser af parasitering af rapsjordlopper, på trods af at den tilsyneladende kan spille en betydelig rolle i den samlede effekt på populationen (Jourdheuil, 1960; Kidd & Jervis, 2007). Konsekvensen af rapsjordloppens indkapsling af snyltehvepseæg og –larver er dårligt belyst, men ifølge Jourdheuil (1960) er det en rimelig antagelse, at kun rapsjordloppelarver med mindst ét ikke-indkapslet snyltehvepseæg vil dø som et resultat af parasiteringen. For rapsjordlopper kan det derfor give mening at tale både om ”brutto parasiteringsgrad”, baseret på andelen af rapsjordloppelarver indeholdende en eller flere snyltehveps, og ”effektiv parasiteringsgrad”, baseret på andelen af rapsjordloppelarver indeholdende mindst en ikke-indkapslet (og derfor levedygtig) snyltehveps. I vores undersøgelse udgjorde den effektive parasitering kun cirka halvdelen af brutto-parasiteringen. En præcis bestemmelse af disse to størrelser er imidlertid vanskelig, idet en dissektion af rapsjordloppelarven er et øjebliksbillede. For eksempel vil man ved dissektion registrere ikke-indkapslede snyltehvepseæg og -larver i en rapsjordloppelarve uden at kunne forudsige risikoen for, at de ville være blevet indkapslet, hvis de ikke var blevet dissekeret. Derudover er der flere muligheder for, at allerede indkapslede snyltehvepseæg og –larver kan undslippe indkapslingen og alligevel fortsætte deres udvikling. Jourdheuil (1960) nævner, at man har set indkapslede snyltehvepselarver i rapsjordloppelarver ødelægge indkapslingen eller forlade den sorte cyste gennem et svagt punkt på cysten, og at disse snyltehvepselarver ikke ser ud til at blive indkapslet igen. Det ser dog ud til, at snyltehvepselarver, for hvem det lykkes at klække fra indkapslede æg, er svækket, og Jourdheuil (1960) konkluderer, at rapsjordloppens indkapsling af snyltehvepsenes æg og larver samlet set reducerer deres effekt på rapsjordloppen. Ydermere så vi i vores undersøgelser, at superparasitering kan påvirke indkapslingen, således at et snyltehvepseægs risiko for at blive indkapslet og dræbt af rapsjordloppelarvens immunforsvar faldt med stigende antal snyltehvepseæg i jordloppelarven.

7.4 Hvordan hænger lokale landskabsfaktorer sammen med forekomst og parasitering af snyltehvepse på rapsskadedyr?

Man har i mange år været optaget af, om man som landmand kan udnytte eksisterende viden om skade- og nyttedyrenes biologi til at forebygge udbyttetab i rapsafgrøden. Fokus har været på, om man kan forbedre nyttedyrenes livsbetingelser i det lokale landskab eller om rapsmarken kan placeres, så afgrøden undslipper angreb af rapsskadedyr eller den biologiske bekæmpelse fremmes. Der foreligger derfor en lang række undersøgelser af sammenhængen mellem landskabsfaktorer og rapsskadedyr og deres snyltehvepse (se fx Skellern & Cook, 2018; Rusch et al., 2010; Rusch et al., 2011; Thies & Tschardt, 2010).

Vores resultater bekræfter det billede, som man får i disse undersøgelser af rapsskadedyrs og rapssnyltehvepsenes forekomst og aktivitet i forskellige landskaber. Nemlig, at selvom der er forskelle i sammenhængen med enkelte landskabskarakterer og forekomsten af de tre skadedyr og deres snyltehvepse, så hænger skadedyrenes og snyltehvepsenes forekomst og aktivitet sammen dels med rapsarealernes størrelse og placering over tid, dels med landskabets udyrkede arealer i form af hegn, skovbryn og beskyttet natur. Dette er ikke overraskende, når man kender de tre skadedyrs biologi, dvs. deres behov for levesteder igennem året og deres evne til at bevæge sig rundt i det omgivende landskab.

Alle de tre undersøgte skadedyr er tæt knyttet til rapsafgrøden i det omgivende landskab. Dette er mest udpræget for rapsjordloppen, hvor de voksne skadedyr kun tilbringer en kort sommerperiode udenfor rapsmarken og derefter indvandrer til en nyetableret rapsmark, hvor de lægger æg og hvor larverne overvintrer. Glimmerbøssen og skulpesnudebiller er begge ligeledes knyttet til rapsafgrøden, men overvintrer som voksne i udyrkede arealer som markskel, hegn og skovbryn og flytter sig således rundt i landskabet efter disse. Snyltehvepsene på de tre skadedyr er gennem deres værter tæt koblet til rapsarealet på samme måde som disse.

Ligesom Leybourne et al. (2024) finder vi, at ”proximity” af foregående års rapsareal (areal x nærhed) er den vigtigste positive prediktor blandt de undersøgte landskabsfaktorer for rapsjordloppen. Vores resultater viser, at ikke blot forekomsten af rapsjordlopper, men også af dens snyltehvepse, målt ved det samlede antal snyltehvepseæg, kan forventes at være større, hvis der det foregående år har ligget store rapsarealer tæt på, end hvis rapsarealerne sidste år var få og langt væk. Derudover spiller udyrkede arealer ingen rolle for rapsjordlopperne, men en positiv rolle for snyltehvepsene,

således at der i rapsmarker beliggende i landskaber med mange hegn og meget beskyttet natur kan forventes større forekomst af rapsjordloppens snyltehvepse end i landskaber med få udyrkede arealer.

Billedet af, i hvilke landskaber der kan forventes høje forekomster af glimmerbøssen og dens snyltehvepse, er langt mindre klart end for rapsjordloppen. "Proximity" og afstand til foregående års nærmeste rapsmark tillægges vægt som prediktorer for både antal snyltehvepse og parasitering, men peger i forskellige retninger. Vores resultater stemmer således i nogen grad overens med Sulg et al. (2024), som sammenlignede forekomsten af glimmerbøsser og deres snyltehvepse i rapsmarker med sidste års nærmeste rapsmark beliggende henholdsvis tæt på og fjernt fra (<>500m) den undersøgte mark. De fandt, at forekomsten af voksne glimmerbøsser i to af de tre undersøgelsesår var større, når sidste års rapsmark lå tæt på end hvis den lå langt væk fra den undersøgte rapsmark, mens det i det tredje år var modsat. Ligeledes fandt de, at parasiteringsgraden i to ud af de tre år var upåvirket af afstanden til sidste års nærmeste rapsmark, mens den i ét år var større, når sidste års rapsmark lå tæt på. På trods af disse inkonsistente resultater konkluderede Sulg et al. (2023), at placering af rapsmarker langt fra sidste års rapsmarker kan bruges som forebyggelsesmetode, uden at man mister den biologiske bekæmpelse udført af snyltehvepse. Vores resultater viser, at arealet af udyrkede arealer i det lokale landskab ikke spiller en konsistent rolle for forekomsten af glimmerbøssens snyltehvepse eller parasitering. Det er ellers veldokumenteret, at glimmerbøssens vigtigste snyltehveps, *Tersilochus heterocerus*, skaffer sig føde i form af nektar fra blomster udenfor rapsmarken sideløbende med sin parasitering af glimmerbøsselarverne og dermed har behov for udyrkede arealer eller andre blomstrende planter (Rusch, 2013).

Ændringer i rapsarealet i det lokale landskab fra år til år, hvor rapsarealet er øget eller reduceret, ses at have en vis sammenhæng med både forekomsten af skulpesnudebiller og dens snyltehvepse og med parasiteringsgraden, således at antal skulpesnudebiller, snyltehvepse og parasiteringsgrad kan forventes at være mindre, hvis rapsarealet øges og være større, hvis rapsarealet reduceres i forhold til sidste år. Denne sammenhæng mellem parasiteringsgrad og inter-annuelle ændringer i rapsarealet er tidligere vist for glimmerbøssen (Thies et al., 2008; Thies & Tcharntke, 2010; Skellern & Cook 2018; Zaller et al, 2008; Schneider et al, 2015). Vores resultater viser da også, at der kan forventes færre glimmerbøsser, snyltehvepse og lavere parasitering, hvis rapsarealet er øget lokalt, sammenlignet med det foregående år. Sådanne ændringer i rapsarealet fra foregående år til dette år indgår imidlertid ikke i mange af de studier, hvor afstand til sidste års rapsmarker eller andre rapsrelaterede variable indgår (Sulg et al., 2024; Rusch et al., 2011), hvilket gør resultaterne svært sammenlignelige. Derudover fremmes snyltehvepsene af tilgængeligheden af udyrkede arealer som fx hegn. Dette er ikke overraskende, da skulpesnudebillens tre arter snyltehvepse, i modsætning til rapsjordloppens og glimmerbøssens snyltehvepse, bruger udyrkede arealer til både fødesøgning og overvintring.

De variable, der bruges for at karakterisere rapsen i de lokale landskaber, hænger ofte indbyrdes sammen og er vanskelige at adskille. Hvis rapsarealet eksempelvis har været stort det foregående år, har sidste års rapsmarker formentlig været store og ligget tæt på årets rapsmark, og der er stor sandsynlighed for, at rapsarealet reduceres det følgende år. Ændringer i det lokale rapsareal fra år til år ser ud til at hænge sammen med en "fortynding" ved øget rapsareal eller en "koncentration" ved reduceret rapsareal af populationerne af rapsskadedyr og deres snyltehvepse (Thies, Steffan-De-wenter & Tcharntke (2008). En sådan sammenhæng tyder på, at der kan være tale om lokale populationer af snyltehvepse og bekræfter disse insekters tætte binding til den lokale rapsressource, både hvad angår føde, reproduktion og – for mange af snyltehvepsene – også overvintring. Samtidig har alle de tre skadedyr og deres snyltehvepse i varierende grad behov for udyrkede arealer, hvilket også ses i landskabsanalyserne.

Som Skellern & Cook (2018) påpeger i deres review, viser de foreliggende undersøgelser af forekomsten af de tre skadedyr og deres snyltehvepse i forskellige landskaber ofte modstridende resultater. Dette gælder især resultater af rapsarealernes samspil med skadedyrene og deres snyltehvepse og skyldes, at det er vanskeligt at identificere simple variable, der fyldestgørende beskriver dynamiske arealændringer i et landbrugslandskab og som er relevante for både skadedyr og deres snyltehvepse, som bruger arealerne forskelligt. De fleste forfattere, der har undersøgt rapsskadedyr og deres fjender i forskellige landskaber, starter ligesom Skellern og Cook (2018) deres konklusioner optimistisk med at sige, at der kan være et stort potentiale i at designe og udnytte det lokale landskab. Især undersøgelser af glimmerbøsser peger på tiltag i stor rumlig skala, hvor rapsarealernes størrelse og placering manipuleres i en form for "land use planning" som en farbar vej (Lundin et al, 2021). Eksempelvis foreslås det, at man løbende øger arealet med raps i et lokalt landskab igennem en årrække og derefter "re-setter" landskabet ved ét år med meget lavt eller intet rapsareal. De fleste forfattere påpeger derefter, at landskabsfaktorernes sammenhæng med skadedyrene og snyltehvepsene er kom-

plekse, at foreliggende resultaterne er svært sammenlignelige pga forskellige metoder, forskellig kontekst, og at landskabsvariable ofte er indbyrdes afhængige og at der derfor ofte forekommer modstridende resultater (Rusch et al., 2010; Skellern & Cook, 2018).

8. Konklusion og perspektiver

Vi har i projektet tilvejebragt et vidensgrundlag, der kan anvendes i yderligere undersøgelser af snyltehvepse som biologisk bekæmpelse, herunder også i evaluering af nye metoder som opformering og udbringning af snyltehvepse. Resultaterne kan desuden informere praksis i forhold til monitoringsmetoder og sprøjtetidspunkter.

Vores oprindelige spørgsmål var "er rapsskadedyrenes snyltehvepse tilstede i danske rapsmarker, og hvad laver de?". Vi har fået dokumenteret, at rapsskadedyrenes snyltehvepse, ligesom rapsskadedyrene, er udbredt overalt, idet der kun er få marker uden snyltehvepse på trods af, at undersøgelserne oftest er udført i mindre usprøjtede områder i konventionelle marker. Niveauet for parasiteringsgraden for de tre undersøgte skadedyr viser sig at være forskelligt, lavest for rapsjordloppe, størst for skulpesnudebillen. Bruger man en parasiteringsgrad på 1/3 som rettesnor for, hvornår parasitering har populationseffekter, opfyldes dette krav kun i ganske få marker for rapsjordloppen, i en del marker for glimmerbøssen og i næsten alle marker for skulpesnudebillen. Det samlede billede er, at der for de tre skadedyr er en betydelig og konsistent baggrundskontrol, uafhængig af skadedyrspopulationen.

Vores resultater dokumenterer to biologiske feedback mekanismer i samspillet mellem glimmerbøsser og rapsjordlopper og deres snyltehvepse, der formentlig er med til at udjævne variationer i populationerne fra år til år. Superparasitering, dvs. at snyltehvepsene placerer flere æg i hver skadedyrs larve, giver for både rapsjordlopper og glimmerbøsser et "spild" af snyltehvepse-æg. For rapsjordloppen forstærkes denne reduktion af parasiteringen yderligere af, at jordloppen kan indkapsle og uskadeliggøre snyltehvepsens æg.

Man kan forvente forskellig forekomst og aktivitet af rapsskadedyrenes snyltehvepse i rapsmarker, afhængig af det omgivende lokale landskabs arealanvendelse og rumlige dynamik over år. Især størrelse af og ændringer i rapsarealet samt tilstedeværelsen af udyrkede arealer har betydning. For alle tre skadedyr er det foregående års rapsareal af betydning, for rapsjordloppen således at store og nærtliggende rapsarealer giver flere skadedyr og flere snyltehvepse året efter. For skulpesnudebillen og glimmerbøssen ved, at ændringer i rapsarealet resulterer i henholdsvis koncentration og fortynding ved reduceret eller øget rapsareal. For alle tre skadedyr gælder, at der kan forventes flere snyltehvepse i landskaber med mange udyrkede arealer. Det samlede billede viser, at der ikke kan udpeges sammenhænge mellem enkelte landskabsfaktorer, skadedyrsangreb og forekomst af snyltehvepse, der er så simple og konsistente, at man kan anvise handlinger (fx placering af rapsmarker), der kan forventes at give en sikker effekt på skadedyrsangreb og eller på den biologiske bekæmpelse.

Vandfælder har i projektet vist sig uegnet til at undersøge forskelle i voksne snyltehvepsers forekomst i rapsmarker. På trods af, at indsamling og identifikation af voksne snyltehvepse derfor har været begrænset, er alle de vigtige snyltehvepse, herunder skulpesnudebillens snyltehvepse, med sikkerhed fundet i marken tidligt i vækstsæsonen. I rådgivningen af landmænd omkring den tidlige bekæmpelse af rapsskadedyr med insekticider bør denne viden om risikoen for at ramme snyltehvepsene derfor medtages.

Metodemæssigt viser vi, at det er muligt at udvikle primere til amplikonsekventering med henblik på målrettet detektion af et afgrænset antal snyltehvepsearter, som findes relevante i en afgrøde. Disse primere kan udnyttes til at detektere netop de relevante snyltehvepse uden at blive overdøvet af andre og større insekter, og kan hermed synliggøre tilstedeværelsen af de mest relevante nyttedyr.

Samlet set viser vores resultater fra undersøgelser i 85 rapsmarker, at de tre undersøgte rapsskadedyr og deres snyltehvepse forekommer udbredt i hele landet, og at deres forekomst i danske landbrugslandskaber hænger sammen med rapsarealets størrelse og placering samt med udyrkede arealer i det lokale landskab. For alle tre skadedyr spiller udyrkede arealer en positiv rolle for enten forekomsten af snyltehvepse eller for parasiteringsgraden. Vores øgede forståelse af de rapsrelaterede landskabsfaktorer betydning og ikke mindst deres indbyrdes sammenhænge giver imidlertid ingen åbenlyse handlemuligheder for landmænd, der ønsker at reducere angrebet eller at øge den biologiske bekæmpelse. Ønskedrømmen ville være, at der var én ting, man som landmand kunne skrue på, fx ved at placere rapsmarken rigtigt. Vores resultater viser imidlertid, at der udover de udyrkede arealers positive effekt ikke er nogen enkeltfaktor, der slår

igennem på en måde, så tanken om at designe landskaber, der hæmmer skadedyrene og fremmer snyltehvepsene, kan realiseres.

Resultaterne giver dog et samlet billede af, at snyltehvepsene spiller en stabil og værdifuld rolle i baggrundskontrollen af de tre undersøgte rapsskadedyr, og at beskyttelsen af snyltehvepsene ved at undlade insekticidbehandlinger og sikre udyrkede arealer i landskabet skal prioriteres højt. Især skulpesnudebillens snyltehvepse kan tilsyneladende opretholde en høj parasiteringsgrad uanset angrebsgraden af snudebillen, og som den eneste af de tre skadedyr har snyltehvepsene en regulær bekæmpelseeffekt ved øjeblikkeligt at reducere udbyttetabet. Derfor er beskyttelsen af skulpesnudebillens snyltehvepse en velegnet case til kommunikation med landmændene vedrørende forårssprøjtninger i raps.

9. Referencer

- Alford DV (ed.) (2003) Biocontrol of oilseed rape pests. Blackwell Science Ltd. 355 pp. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9780470750988>
- Bak K & Wildt A (2018) Undersøgelse af parasiteringen af *Tersilochus microgaster* på rapsjordlopper som potentiale til naturlig regulering i Danmark. Bacheloropgave, Københavns Universitet, 39 p.
- Barari H, Cook SM, Williams, IH (2004) Rearing and identification of the larval parasitoids of *Psylliodes chrysocephala* and *Ceutorhynchus pallidactylus* from field-collected specimens. IOBC/WPRS Bulletin 27, 263–271.
- Barari H, Ferguson AW, Piper RW, Smith E, Quicke DL, Williams IH (2005) The separation of two hymenopteran parasitoids, *Tersilochus obscurator* and *Tersilochus microgaster* (Ichneumonidae), of stem-mining pests of winter oilseed rape using DNA, morphometric and ecological data. Bull Entomol Res. 95(4):299-307. <https://doi.org/10.1079/ber2005360>
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. Journal of Statistical Software 67, 1–48 <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Batovska J, Piper AM, Valenzuela I, Cunningham JP, Blacket MJ (2021). Developing a non-destructive metabarcoding protocol for detection of pest insects in bulk trap catches. Sci Rep 11, 7946 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85855-6>
- Berger J, Jönsson M, Hedlund K, Anderson P (2015) Niche separation of pollen beetle parasitoids. *Front. Ecol. Evol.* 3:45. <https://doi.org/10.3389/fevo.2015.00045>
- Berger, J (2019) Ecology of parasitoids and their hosts in oilseed rape fields. PhD Dissertation, Department of Biology, Lund University. 168 pp
- Berger JS, Birkhofer K, Hanson HI, Hedlund K (2018) Landscape configuration affects herbivore–parasitoid communities in oilseed rape. J Pest Sci (2004) 91, 1093–1105. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-0965-1>
- Brandes M, Heimbach U, Ulber B (2018a) Effects of insecticide application on parasitism rates of pollen beetle larvae (*Brassicogethes aeneus* (Fabricius)) by tersilochine parasitoids. *Arthropod-Plant Interactions* 12, 799–809 <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9580-y>
- Brandes M & Heimbach U (2018b) Pyrethroid resistance of insect pests of oilseed rape in Germany. IOBC-WPRS Bulletin 136, 69-72
- .
- 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. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12265>
- Conrad N, Brandes M, Ulber B, Heimbach U (2021) Effect of immigration time and beetle density on development of the cabbage stem flea beetle, (*Psylliodes chrysocephala* L.) and damage potential in winter oilseed rape. Journal of Plant Diseases and Protection 128. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00474-7>
- EIP-AGRI Focus Group IPM for Brassica (2016) Final report. 63 pp. https://ec.europa.eu/eip/agriculture/sites/default/files/eip-agri_fg_ipm_brassica_final_report_2016_en.pdf

Elbrecht V, Taberlet P, Dejean T, Valentini A, Usseglio-Polatera P, Beisel J, Coissac E, Boyer F, Leese F. (2016) Testing the potential of a ribosomal 16S marker for DNA metabarcoding of insects. *PeerJ* 4:e1966.

<https://doi.org/10.7717/peerj.1966>

Ferguson AW, Barari H, Warner DJ, Campbell JM, Smith ET, Watts NP, Williams IH (2006) Distributions and interactions of the stem miners *Psylliodes chrysocephala* and *Ceutorhynchus pallidactylus* and their parasitoids in a crop of winter oilseed rape (*Brassica napus*). *Entomol Exp Appl* 119, 81–92. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00404.x>

Ferguson AW, Williams IH, Castle LM, Skellern M (2010) Key Parasitoids of the Pests of Oilseed Rape in Europe: A Guide to Their Identification, in: I.H. Williams (Ed.), *Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 77–114. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_3

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.

Garcia-Lemos AM, Großkinsky DK, Stokholm MS, Lund OS, Nicolaisen MH, Roitsch TG, Veierskov B, Nybroe O (2019) Root-Associated Microbial Communities of *Abies nordmanniana*: Insights Into Interactions of Microbial Communities With Antioxidative Enzymes and Plant Growth. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01937>

Hausmann J. & Brandes M (2022) The potential for reducing non-target effects on parasitoids of *Ceutorhynchus obstrictus* Marsham (Coleoptera: Curculionidae) through spatially targeted insecticide applications. *Journal of Plant Diseases and Protection* 129, 1417–1427. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00647-y>

Hawkins BA, Thomas MB, Hochberg ME (1993) Refuge theory and biological control. *Science* 262(5138):1429–32. <https://doi.org/10.1126/science.262.5138>

Hawkins BA & Thomas MB (1994) Response: Biological Control and Refuge Theory. *Science* 265 (5173), 812–813 <https://doi.org/10.1126/science.265.5173.812>

Hawkins BA & Cornell H (1994) Maximum Parasitism Rates and Successful Biological Control. *Science* 266 (5192), 1886. <https://doi.org/10.1126/science.266.5192.1886>

Haye T, Mason PG, Dosdall LM, Kuhlmann U (2010) Mortality factors affecting the cabbage seedpod weevil, *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham), in its area of origin: A life table analysis. *Biological Control* 54, 331–341. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.004>

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* 116, 17–22

Hokkanen HMT (1993) Overwintering survival and spring emergence in *Meligethes aeneus*: effects of body weight, crowding, and soil treatment with *Beauveria bassiana*. *Entomol Exp et Appl* 67:241–246 <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01674.x>

Hokkanen HMT, Menzler-Hokkanen I (2018) Developing ecostacking techniques for pollen beetle management in oilseed rape. *Arthropod-Plant Interactions* 12, 767–777 <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9650-9>

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 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146045>

Højland DH & Kristensen M (2018) Target-site and metabolic resistance against λ -cyhalothrin in cabbage stem flea beetles in Denmark. *Bull. Insectol.*, 71, 45–49. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105316>

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. In: Williams, I. (eds) Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_15

Jourdheuil P (1960) Influence de quelques facteurs écologiques sur les fluctuations de population d'une biocénose parasitaire: Étude relative à quelques Hyménoptères (Ophioninae, Diospilinae, Euphorinae) parasites de divers Coléoptères inféodés aux Crucifères. Annales des Epiphyties 11, 445–678.

Juhel AS, Barbu CM, Franck P, Roger-Estrade J, Butier A, Bazot M, et al. (2017) Characterization of the pollen beetle, *Brassicogethes aeneus*, dispersal from woodlands to winter oilseed rape fields. PLoS ONE 12(8): e0183878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183878>

Kaiser C, Jensen K-MV, Nauen R, Kristensen M (2018) Susceptibility of Danish pollen beetle populations against k-cyhalothrin and thiacloprid. J Pest Sci 91:447–458 <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0856-x>

Kidd NAC & Jervis MA (2007) Population Dynamics. In: Jervis, M.A. (eds) Insects As Natural Enemies. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2625-6_7

Kozłowski MW, Lux S, Dmoch J (1983) Oviposition behaviour and pod marking in the cabbage seed weevil, *Ceutorhynchus assimilis*. Entomol Exp Appl 34: 277–282. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1983.tb03334.x>

Krimmer E, Martin EA, Holzschuh A, Krauss J, Steffan-Dewenter I (2021) Flower fields and pesticide use interactively shape pollen beetle infestation and parasitism in oilseed rape fields. Journal of Applied Ecology 59, 263–273 <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14051>

Kovács G, Kaasik R, Lof ME, van der Werf W, Kaart T, Holland JM, Luik A, Veromann E (2018) Effects of land use on infestation and parasitism rates of cabbage seed weevil in oilseed rape. Pest Management Science 75, 658–666 <https://doi.org/10.1002/ps.5161>

Langer V, Lund OS (2021) Snyltehvpese i Raps. Bekæmpelsesmiddelforskning nr. 200. Miljøstyrelsen. <https://mst.dk/publikationer/2021/maj/snyltehvpese-i-raps>

Langer V, Jensen SM (2023) Parasitoids of the cabbage seed weevil deliver high and consistent parasitism in variable landscapes: A showcase of conservation biocontrol. Pest Management Science 80, 2362–2370 <https://doi.org/10.1002/ps.7679>

Leybourne DJ, Pahl AMC, Melloh P, Martin EA (2024) Sharing the burden: Cabbage stem flea beetle pest pressure and crop damage are lower in rapeseed fields surrounded by other rapeseed crops, Agriculture, Ecosystems & Environment, 366, <https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.108965>

Lundin O, Rundlöf M, Jonsson M, Bommarco R, Williams NM, 2021. Integrated pest and pollinator management – expanding the concept Frontiers of Ecology and the Environment <https://doi.org/10.1002/fee.2325> 19, 283–291

Macfadyen S, Davies AP, Zalucki MP (2015) Assessing the impact of arthropod natural enemies on crop pests at the field scale. Insect Science 22, 20–34 <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12174>

Manduric S, Nilsson C, Ahman B (u.å.) The separation of Tersilochine parasitoid species (Hymenoptera, Ichneumonidae) of Winter oilseed rape pests (unpublished). Annotationer i GenBank ved sekvenser af *T. microgaster* og *T. heterocerus* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX759021.1>

Mathiasen H, Sørensen H, Bligaard J, Esbjerg P (2015) Effect of temperature on reproduction and embryonic development of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L., (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Applied Entomology 139, 600–608. <https://doi.org/10.1111/jen.12201>

Meloche F & Guppy JC (1990) Encapsulation of Eggs and Larvae of *Dacnusa dryas* (Hymenoptera: Braconidae) by the Alfalfa Blotch Leafminer (Diptera: Agromyzidae) and its Importance in Host-Parasite Coexistence, Environmental Entomology 19, 423–427 <https://doi.org/10.1093/ee/19.2.423>

Miljøstyrelsen (Danish Environmental Agency), 2022. Bekæmpelsesmiddelstatistik 2020 (Pesticide Statistics).

Myers JH, Smith JNM, Elkinton JS (1994) Biological Control and Refuge Theory. Science 265, 5173, 811 <https://doi.org/10.1126/science.265.5173.811.a>

Nixon GEJ (1980) Handbooks for the Identification of British Insects Vol. VIII, Part3 DIAPRIIDAE (DIAPRIINAE) HYMENOPTERA., PROCTOTRUPOIDEA. Royal Entomological Society. 60 pp.

Osborne P (1960) Observations on the natural enemies of *Meligethes aeneus* (F.) and *M. viridescens* (F.) [Coleoptera: Nitidulidae]. Parasitology 50, 91-110 <https://doi.org/10.1017/S0031182000025233>

Peris-Felipo FJ, Belokobylskij SA, Vilhelmsen L, Munk T (2016) Catalogue of Danish Alysiinae (Hymenoptera: Braconidae), with the description of two new species of *Aspilota* Foerster, 1863. European Journal of Taxonomy 250, 1–48 <http://dx.doi.org/10.5852/ejt.2016.250>

R Core Team (2021) R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing 2 <https://www.R-project.org/>

Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou JP, Roger-Estrade J (2010) Integrating Crop and Landscape Management into New Crop Protection Strategies to Enhance Biological Control of Oilseed Rape Insect Pests I: Williams, I. (eds) Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_17

Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou JP, Roger-Estrade J (2011) Multi-scale effects of landscape complexity and crop management on pollen beetle parasitism rate. Landsc Ecol 26, 473–486 <https://doi.org/10.1007/s10980-011-9573-7>

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 <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9463-1>

Rusch A, Valantin-Morison M, Roger-Estrade J, Sarthou JP (2012) Local and landscape determinants of pollen beetle abundance in overwintering habitats. Agricultural and Forest Entomology 14, 37–47 <https://DOI.org/10.1111/j.1461-9563.2011.00547.x>

Scheid BE, Thies C, Tschardt T (2011) Enhancing rape pollen beetle parasitism within sown flower fields along a landscape complexity gradient. Agricultural and Forest Entomology 13, 173-179 <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2010.00516.x>

Schneider G, Krauss J, Riedinger V, Holzschuh A, Steffan-Dewenter I (2015) Biological pest control and yields depend on spatial and temporal crop cover dynamics. Journal of Applied Ecology 52, 1283-1292 <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12471>

Skellern MP & Cook SM (2018) The potential of crop management practices to reduce pollen beetle damage in oilseed rape. Arthropod-Plant Interactions 12, 867 - 879. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9571-z>

Sulg S, Kovács G, Willow J, Kaasik R, Smagghe G, Lövei GL, Veromann E (2024) Spatiotemporal distancing of crops reduces pest pressure while maintaining conservation biocontrol in oilseed rape. Pest Management Science 80, 2250-2259 <https://doi.org/10.1002/ps.7391>

Stenberg JA, Sundh I, Becher PG *et al.* (2021) When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. J Pest Sci 94, 665–676 <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01354-7>

Taimr L, Sedivy J, Bergmannova E, Hanker I (1967) Further experience obtained in studies on dispersal flights of *Meligethes aeneus* F., marked with P³² (Coleoptera). Acta Entomologica Bohemoslovaca 64, 325–332.

Tang M, Hardman CJ, Ji Y, Meng G, Liu S, Tan M, Yang S, Moss ED, Wang J, Yang C, Bruce C, Nevard T, Potts SG, Zhou X, Yu DW (2015) High-throughput monitoring of wild bee diversity and abundance via mitogenomics. Methods Ecol Evol 6, 1034–1043 <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12416>

Thies C, Steffan-Dewenter I, Tschamntke T (2008) Interannual landscape changes influence plant-herbivore-parasitoid interactions. Agric Ecosyst Environ 125, 266–268 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.12.011>

Thies C & and Tschamntke T (2010). Biological Rape Pest Control in Spatio-Temporally Changing Landscapes. I: Williams, I. (eds) Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_9

Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL, Møller PR, Rasmussen M, et al. (2012) Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. PLOS ONE 7(8): e41732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041732>

Ulber B (2017) Identity of parasitoids and their potential for biocontrol of oilseed rape pests in Europe Major factors affecting the population dynamics of pest insects on OSR. EPPO Workshop on integrated management of insect pests in oilseed rape, Berlin 2017-09-20/22 1–32. https://www.eppo.int/media/uploaded_images/MEETINGS/Meetings_2017/ipm/32-Ulber.pdf

Ulber B, Williams IH, Klukowski Z, Luik A, Nilsson C (2010) Parasitoids of Oilseed Rape Pests in Europe: Key Species for Conservation Biocontrol. I: Williams, I. (eds) Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_2

van Alphen JJ, Visser ME (1990) Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. Annu Rev Entomol. 35, 59–79 <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.000423>

Veromann E, Williams IH, Kaasik R, Luik A (2011) Potential of parasitoids to control populations of the weevil *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham) on winter oilseed rape. Int J Pest Manag 57, 85–92. <https://doi.org/10.1080/09670874.2010.539714>

Vilumets S, Kaasik R, Lof M, Kovács G, Holland J, Veromann E (2023) Landscape complexity effects on *Brassicogethes aeneus* abundance and larval parasitism rate: a two-year field study. Sci Rep 13, 22373 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49690-1>

Williams T & Hails RM (1995) Biological control and refuge theory. Science 265, 812 <https://doi.org/10.1126/science.265.5173.811.b>

Williams IH (2006) Integrating parasitoids into management of pollen beetle on oilseed rape. Agron Res 4, 465–470.

Williams IH, Cook SM (2010) Crop Location by Oilseed Rape Pests and Host Location by Their Parasitoids. I: Williams, I. (eds) Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_7

Williams IH, Ferguson AW (2010) Spatio-Temporal Distributions of Pests and Their Parasitoids on the Oilseed Rape Crop. I: Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3983-5_8

Williams IH, Frearson DJT, Barari H, McCartney A (2007) First field evidence that parasitoids use upwind anemotaxis for host-habitat location. Entomol Exp Appl 123, 299–307 <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00551.x>

Willis CE, Foster SP, Zimmer CT, Elias J, Chang X, Field LM, Williamson MS, Davies TGE (2020) Investigating the status of pyrethroid resistance in UK populations of the cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*) Crop Protection 138 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105316>

Ye Z, Vollhardt IM, Girtler S, Wallinger C, Tomanović Ž, Traugott M (2017) An effective molecular approach for assessing cereal aphid-parasitoid-endosymbiont networks. Scientific Reports, 7, 3138 <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02226-w>

Zaller JG, Moser D, Drapela T, Schmöger C, Frank T (2008) Insect pests in winter oilseed rape affected by field and landscape characteristics. Basic Appl Ecol 9, 682–690 <https://doi.org/10.1016/j.baae.2007.10.004>

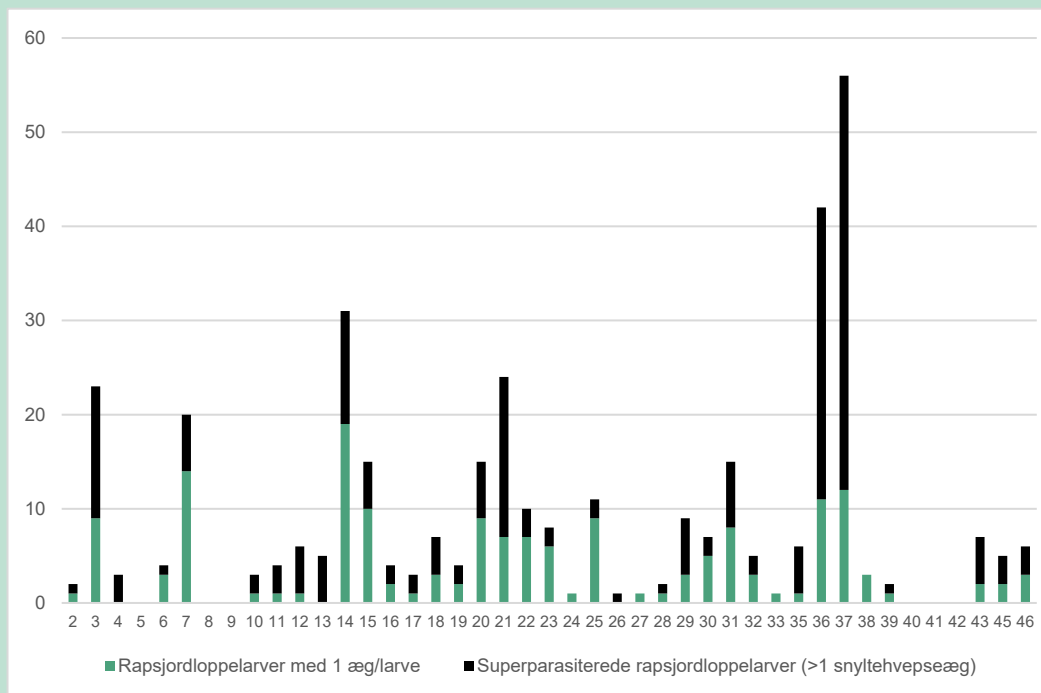
10. Bilag 1

TABEL 24. Oversigt over indsamlet materiale 2020 og 2021

Skadedyr	Antal marker	Antal planter/ skulper	% an- grebne planter	Antal larver	Larver/plante	% parasiterede
Rapsjordloppe 2020	43	860 pl.	67	2631	3,1 (0-12,7)	13% (0-39)
Rapsjordloppe 2021	41	820 pl.	59	1389	1,7 (0-9,1)	11% (0-41)
Glimmerbøsse 2020	37	733 pl.	4733 (3426 dis- sekeret)	6,5 (0-18)	40% (0-100)	
Glimmerbøsse 2021		560 pl.				
	28		1902 dissekeret	3,4 (0,1-16,8 2.st)	22% (0-100)	
Skulpesnudebille 2020	44	4400 sk.	-	505	11 pr 100 skulper	65% (20-100)
Skulpesnudebille 2021	41	4100 sk.	-	426	10 pr 100 skulper	74% (17-100)

TABEL 25. Antal undersøgte rapsmarker i 2020 og 2021, hvor rapsarealet i det omgivende 700 ha landskab er hhv. øget og reduceret, sammenlignet med foregående år. Økologiske marker har tilsyneladende i særlig grad været lokaliseret i landskaber, hvori rapsarealet er øget siden foregående år. .

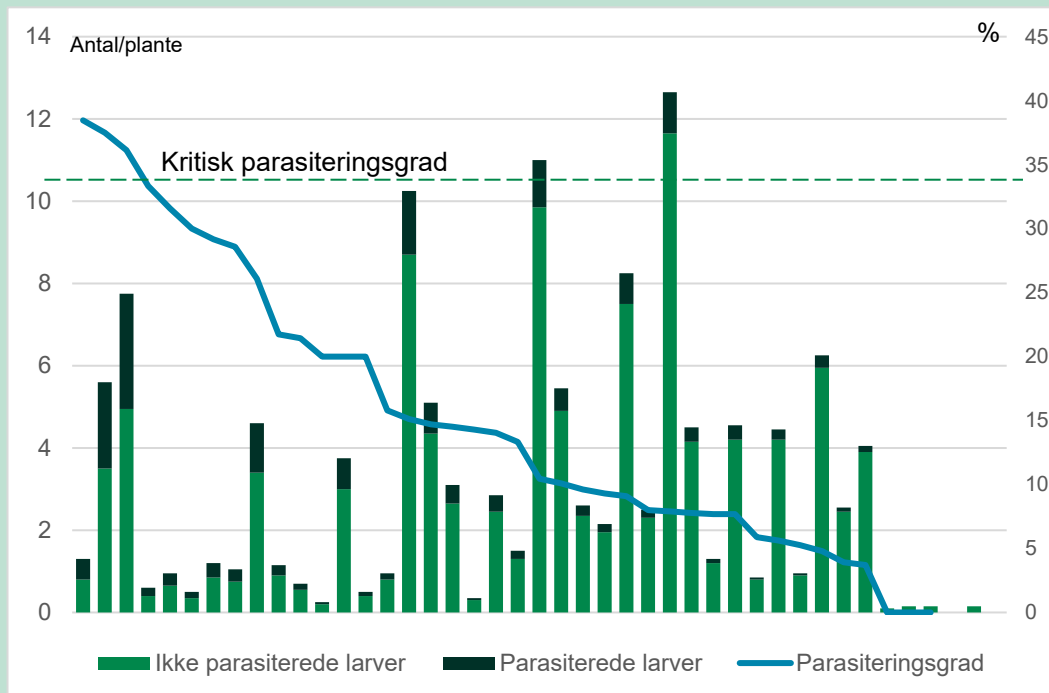
	Antal marker 2020	Antal marker 2021
Konventionelle rapsmarker	39	29
- heraf rapsarealet øget	22	15
- heraf rapsarealet reduceret	17	14
Økologiske rapsmarker	5	12
- heraf rapsarealet øget	5	10
- heraf rapsarealet reduceret	0	2
Marker ialt	44	41



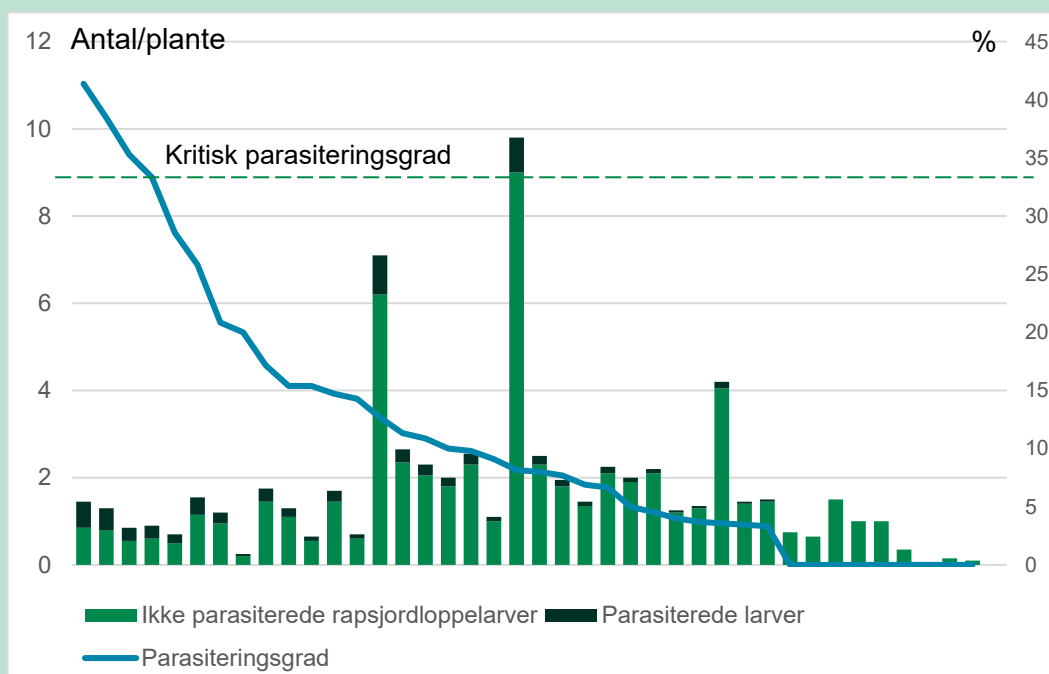
FIGUR 31. Forekomst af superparasitering i rapsjordloppelarver 2020 i 43 rapsmarker. I gennemsnit er 51% af de parasiterede larver superparasiterede (0-100%).

2020	Region				2021	Re- gion			
Mark		RJL	GLB	SKSB	Mark		RJL	GLB	SKSN
2	SJ	x	x	x	1	SJ	x	x	x
3	SJ	x	x	x	2	SJ	x	x	x
4	SJ	x	x	x	3	SJ	x	x	x
5	SJ	x	x	x	4	SJ	x	x	x
6	SJ	x	x	x	5	SJYL	x	x	x
7	SJ	x	x	x	6	SJYL	x	x	x
8	SJ	x	x	x	7	SJYL	x	x	x
9	SJ	x	x	x	8	FYN	x		x
10	SJ	x	x	x	9	FYN	x		x
11	FYN	x	x	x	10	SJYL	x	x	x
12	FYN	x	x	x	11	SJYL	x	x	x
13	FYN	x	x	x	12	SJYL	x	x	x
14	FYN	x	x	x	13	SJYL	x	x	x
15	FYN	x	x	x	14	SJ	x	x	x
16	FYN	x	x	x	15	SJ	x	x	x
17	FYN	x	x	x	16	SJ	x	x	x
18	SJYL	x	x	x	17	SJ	x	x	x
19	SJYL	x	x	x	18	SJ	x	x	x
20	SJYL	x	x	x	19	SJ	x	x	x
21	SJYL	x	x	x	20	SJ	x	x	x
22	SJYL	x		x	21	SJ	x	x	x
23	SJYL	x	x	x	22	SJ	x	x	x
24	SJYL	x	x	x	23	SJ	x	x	x
25	SJYL	x	x	x	24	SJ	x	x	x
26	SJYL	x	x	x	25	SJ	x	x	x
27	SJYL	x	x	x	26	NMJYL	x	x	x
28	SJYL	x	x	x	27	NMJYL	x		x
29	SJYL	x	x	x	28	NMJYL	x	x	x
30	SJYL	x	x	x	29	NMJYL	x	x	x
31	SJYL	x	x	x	30	NMJYL	x		x
32	SJYL	x	x	x	31	NMJYL	x		x
33	SJYL	x	x	x	32	NMJYL	x		x
35	NMJYL	x	x	x	33	NMJYL	x		x
36	NMJYL	x		x	34	NMJYL	x	x	x
37	NMJYL	x		x	35	NMJYL	x		x
38	NMJYL	x	x	x	36	NMJYL	x		x
39	NMJYL	x		x	37	NMJYL	x		x
40	NMJYL	x	x	x	38	NMJYL	x	x	x
41	NMJYL	x	x	x	39	NMJYL	x		x
42	NMJYL	x		x	40	NMJYL	x		x
43	NMJYL	x		x	41	NMJYL	x		x
44	NMJYL			x					
45	NMJYL	x	x	x					
46	NMJYL	x	x	x					
Antal		43	37	44			41	28	41
Kasserede		1	7	0			0	13	0

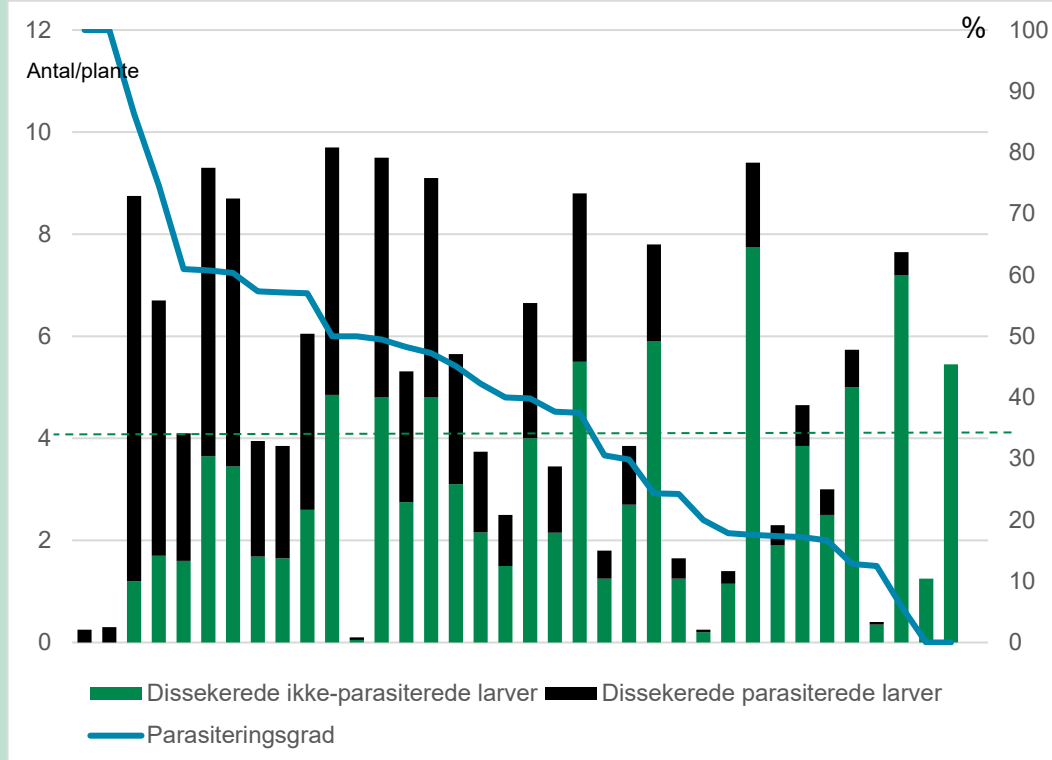
FIGUR 32. Oversigt over rapsmarker, hvori der er indsamlet hhv. rapsjordlopper (RJL), glimverbøsser (GLB) og skulpe-
snudebiller (SKSN). Blåt angiver, at indsamlingerne er foretaget af lokale konsulenter. Marker med numre i fed er økolo-
giske. Markernes beliggenhed er angivet med region: SJ= Sjælland, Fyn, SJYL=Syddjyland, NMJYL=Nord og Midtjylland.



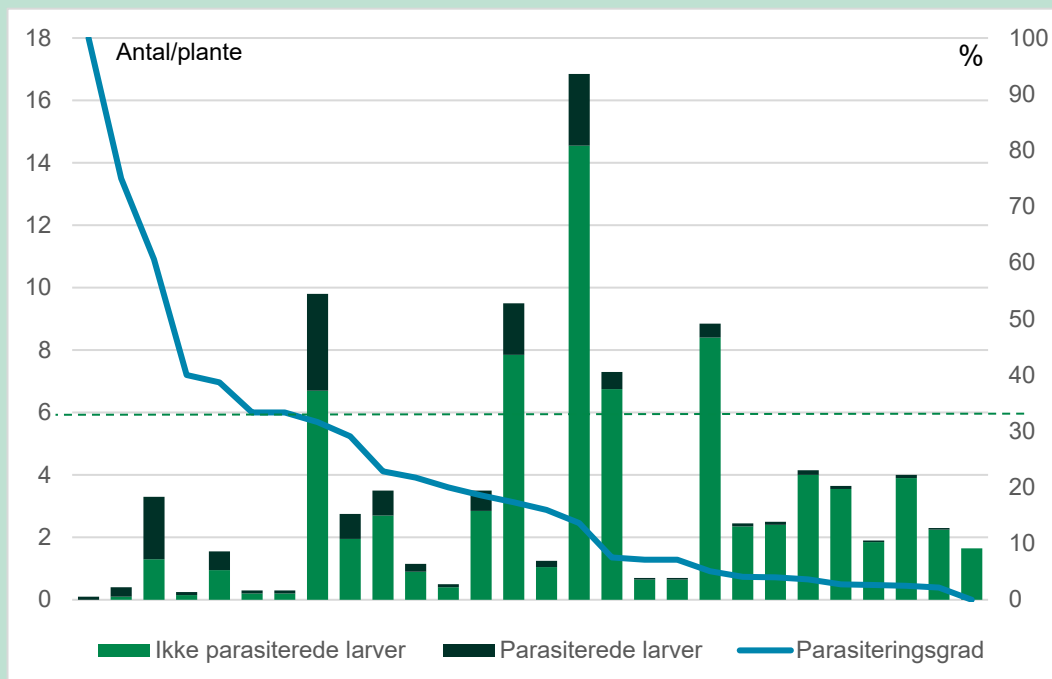
FIGUR 33. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad (%) af rapsjordloppe (blå linje) i 43 marker i 2020. Kun i fire marker er parasiteringsgraden over den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter (boks 1).



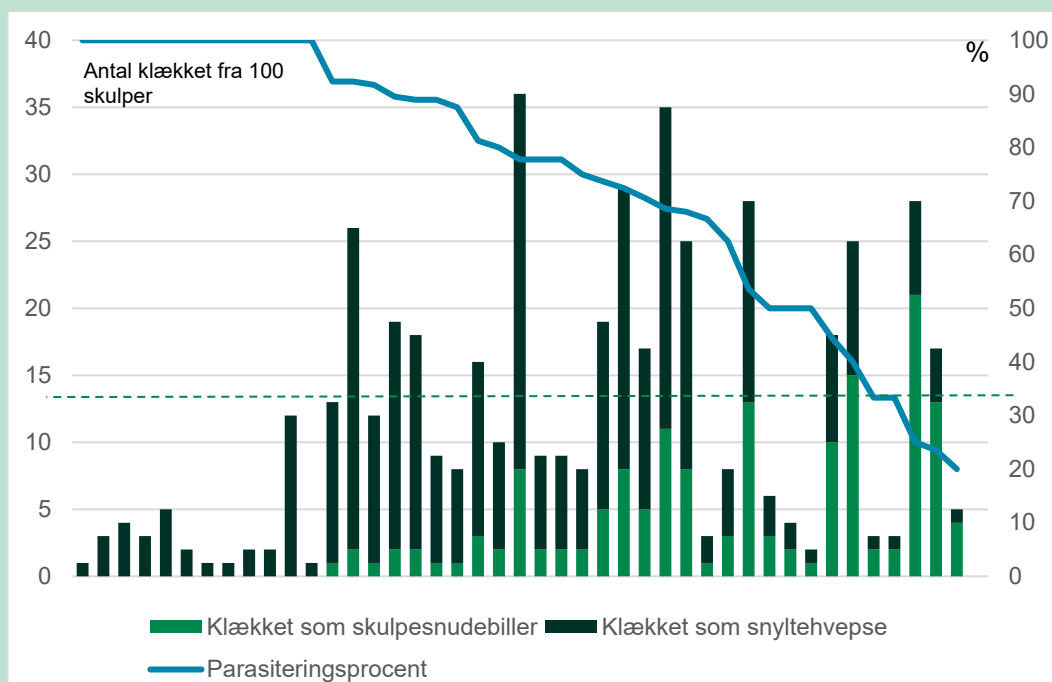
FIGUR 34. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad (%) af rapsjordloppe (blå linje) i 41 marker i 2021. Kun i fire marker er parasiteringsgraden over den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter (boks 1).



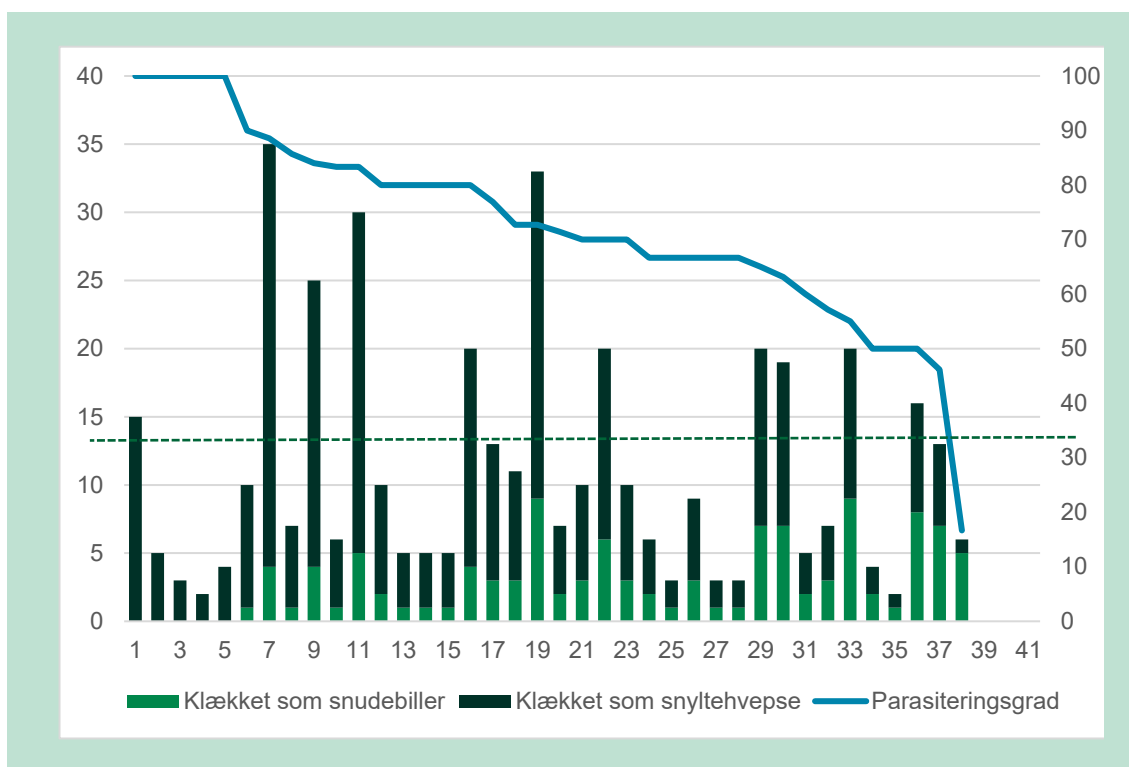
FIGUR 35. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad af glimmerbøsse (blå linje) i 37 marker i 2020. I 23 marker ud af 37 overskrider parasiteringsgraden den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter.



FIGUR 36. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad af glimmerbøsse (blå linje) i 28 marker i 2021. I 7 marker ud af 28 overskrider parasiteringsgraden den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter.



FIGUR 37. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad af skulpesnudebille (blå linje) i 2020. I 39 marker ud af 44 var parasiteringsgraden over den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter.



FIGUR 38. Rapsmarker sorteret efter parasiteringsgrad af skulpesnudebille (blå linje) i 2021. I 39 marker ud af 41 var parasiteringsgraden over den "kritiske grænse" på 32% som antages at være minimum for populationseffekter

11. Bilag 2 Metodebeskrivelse af amplikonsekventering

11.1 Amplikonsekventering v.h.a COI-genet.

COI-sekvenser ekstraheret fra de syv relevante, morfologisk identificerede snyltehvepsearter (tabel 32) blev sammenlignet (alignet) i software-programmet BioEdit. Et område med tilstrækkelig konservering i de syv snyltehvepsearter blev identificeret som mål for en forwardprimer, iCOI440 Fw4a, med 2 degenerationer (tabel 27). Som reverse primer valgtes en modifikation af den oprindelige reverse primer, HCO2198, der var brugt til at amplificere COI-fragmentet (tabel 28). Taggede udgaver af både forward og reverse primers blev anvendt (blå sekvens i tabel 27 og 28) af hensyn til den efterfølgende amplikonsekventering. For både forward og reverse primers blev i alt fem identificerbare, taggede udgaver anvendt (løbenr 01, 02, 04, 05 og 06).

Den grundlæggende PCR-reaktion (opformering af COI-fragmentet med taggede primers) er beskrevet i Tabel 29 og 30. Der blev anvendt en to-trins PCR bestående af en indledende PCR ved lav annealingtemperatur (44°C) og en efterfølgende PCR med høj annealingtemperatur (62°C). Fra en 1% agarosegel oprensedes et cirka 320 basepar-fragment, og dette blev efterfølgende amplikonsekventeret og analyseret (Garcia-Lemos et al 2019).

TABEL 26. Forward Primers anvendt til amplikonsekventering af COI-genet

Primer navn	Sekvens*
iCOI 440 Fw4a	ATTATAGGAKCWATTAATTTTATT
iCOI 440 Fw4b	GGATTATAGGACCAATTAATTTTATT
iCOI-F1b-LIM-01	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACGAGTGCGT GGATTATAGGACCTATTAATTTTATT
iCOI-F1b-LIM-02	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACGCTCGACAT GGATTATAGGACCTATTAATTTTATT
iCOI-F1b-LIM-04	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGATCAGACACGCGA GGATTATAGGACCTATTAATTTTATT
iCOI-F1b-LIM-05	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGATATCGCGAGATGA GGATTATAGGACCTATTAATTTTATT
iCOI-F1b-LIM-06	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCGTGTCTCTATGCGA GGATTATAGGACCTATTAATTTTATT

*Rød sekvens = DNA-bindende ; Blå sekvens = funktionel del anvendt i amplikonsekventering

TABEL 27. Reverse primere anvendt i amplikonsekventering af COI-genet

Primer navn	Sekvens*
iCOI-R1d-LIM-01	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGACGAGTGCGT Taaacttcagggtagcaaaaaaatc
iCOI-R1d-LIM-02	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGACGCTCGACA Taaacttcagggtagcaaaaaaatc
iCOI-R1d-LIM-04	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGATCAGACACG Taaacttcagggtagcaaaaaaatc
iCOI-R1d-LIM-05	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGATATCGCGAG

	Taaacttcagggtgaccaaaaaatc
iCOI-R1d-LIM-06	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCGTGTCTCTA
	Taaacttcagggtgaccaaaaaatc

*Rød sekvens = DNA-bindende ; Blå sekvens = funktionel del anvendt i amplikonsekventering

TABEL 28. Reagenser og primers anvendt i PCR reaktionen (Reaktionsvolumen 50 l)

Reagenser*	Koncentration
MgCl	2 mM
Taq polymerase	0,0002 units/ul
PCR-buffer 10X (Taq)	10x fortyndet
dNTP mix	0,2 mM af hver (ATP, GTP, CTP, TTP)
Primers*	
iCOI Fw 4a	0,125 microM
iCOI Fw 4b	0,125 microM
iCOI-F1b-LIM-01 (eller....02, 04, 05 eller 06)	0,20 microM
iCOI-R1d-LIM-01 (eller....02, 04, 05 eller 06)	0,25 microM

*iCOI PCR 060722 (Intern reference til protokol)

TABEL 29. PCR-program.

Indledende PCR: 95 C denaturering i 3 min – dernæst:

9 cykler	Temp	Time
Annealing	44 C	30 sek
Elongation	72 C	30 Sek
Denaturation	94 C	30 sek

Efterfølgende PCR: (samme rør, betingelserne ændres bare i de sidste 34 cykler)

34 cykler	Temp	Time
Annealing	62 C	30 sek
Elongation	72 C	30 Sek
Denaturation	94 C	30 sek

11.2 Amplikonsekventering v.h.a 16S-genet:

De nyligt opnåede 16S-sekvenser fra syv relevante arter af rapssnyltehvepse blev sammenlignet (alignet) i softwareprogrammet BioEdit. I et enkelt sekvensområde var det muligt at designe to forskellige forward primers (ins-16S-100a og ins-16S-100b) som tilsammen dækkede alle 7 arter af snyltehvepse. Som reverse primer anvendtes en kort udgave (ins-16S Rv short-1) af den primer, som havde været anvendt til at amplificere 16S-fragmentet i det forrige projekt. Selvom mange forskellige betingelser for amplifikation af genet blev forsøgt (variende annealingtemperatur, antal cykler, primerkombinationer og koncentrationer) blev der ikke opnået en tilfredsstillende effektiv DNA amplifikation fra blandinger med andre insekter, medmindre der blev udført en såkaldt nested (indlejret) PCR. I den nestede PCR bruges først et "ydre" primerpar til en initial amplifikation og dernæst et "indre" primerpar til den endelige opformering i en efterfølgende PCR. De indre primers blev forsynet med de nødvendige tags for at gennemføre en amplikonsekventering og dette blev derefter afprøvet på forskellige blandinger af snyltehvepse. Det lykkedes på denne måde at lave en amplikonsekventering, hvor snyltehvepse i blanding med andre insekter kunne artsbestemmes. Specificiteten for snyltehvepse-DNA viste sig dog at være lav med de valgte primers, og PCR-amplifikationen var overordnet set ikke tilfredsstillende. Vi besluttede derfor at bruge det andet fragment (COI-genet) som et bedre alternativ.

TABEL 30. Primere anvendt til forsøg med 16S amplikonsekventering

Navn	Sekvens *	Kommentar**
------	-----------	-------------

A-Ins 16S_F-28 ***	CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAGACTAC TAT-GTRGACRAZAAGACCCTWT	Ydre PCR (Fw)
B14i-Ins 16S_R ***	CTATGCGCCTTGCCAGCCCCGCTCAGAGTTA GACGCACTCTTAAWYCAACATCGAGGT	Ydre PCR (Rv)
Ins_16S Fw 100-a	GTTGGGGTGATTAWTAAAT	Indre PCR (Fw)
Ins_16S Fw 100-b	TATTGGGGGKATATAAAAAAT	Indre PCR (Fw)
Ins_16S Rv short-1	CGCACTCTTAATTCAACATCGAGGT	Indre PCR (Rv)
i16S-F-short-a-LIM-01	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACGA GTGCGTNNGTTGGGGTGATTAWTAAAT	Indre PCR (Fw)
i16S-F-short-b-LIM-01	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGACGA GTGCGTNNATTGGGGGKATATAAAAAAT	Indre PCR (Fw)
i16S-R-short-LIM-01	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGACGAGTGC GTNNAGTGCGTCTAACCGCACTCTTAATTCAACATCGAGGT	Indre PCR (Rv)

* For primers brugt til amplikonsekventering er den DNA-bindende sekvens vist med rødt. Med Blåt er vist det sekvens-tag som blot tjener tekniske funktioner i amplikonsekventeringen.

** Fw = Forward primer ; Rv = Reverse-primer

*** Oprindelige primers (Elbrecht et al 2016) brugt til kloning af 16S fragmenter blev anvendt i den ydre PCR

TABEL 31. DNA-sekvenser opnået ved amplikonsekventering af morfologisk identificerede snyltehvepse. De syv COI-fragmenter er i overensstemmelse med dels verificerede, men upublicerede sekvenser i kuraterede databaser (Genbank, acc. KX759021.1 – KX759026.1 samt KX759034.1 (Manduric,S., Nilsson,C. and Ahman,B.2016, upubliceret)), dels med publicerede sekvenser (Barari et al., 2005).

Snyltehveps	Kode	Antal nukleotider	Sekvens
Tersilochus heterocerus	VL 17,2-1	696	TATATTTTATTTTGGTTTATGATCTGGAATAATTGGATCTTCTATAAGATTATTAATTC GAATAGAATTAGGAAACCCTGGGTATTTAATTAAATGATCAAATCTATAATTCATTG TTACTGCTCATGCTTTTGTAAATAATTTTTTATAGTAATACCAATTATAATTGGAGGAT TTGGAATTGATTAATACCAATAAATTGGAGCCCCAGATAGCTTTCCCTCGAATAA ATAATATAAGATTGTGATTATTACCTCCTCTTATTATTCTACTATTAAGATCTTTAA TTAATCAAGGTGTTGGAACCTGGTGAACAGTATACCCACCTTTATCATTAATATTAATC ACGAAGGTATATCAGTTGATTAGCAATTTTTCTCTTCATTAGCTGGAATATCATCAA TTATAGGAGCAATTAATTTTACTACTATTATTAATATACGTTTCTTAAATTTCTT TAGAAAAAATTCCTTTATTTGTTGATCTATTCTTATTACAACCTGATTATTATTATTAG CAGTTCCAGTATTGCTGGTGCTTTAACTATATTATTAACCTGACCGAAATTTAAATACCT CATTTTTGACCCATCAGGAGGTGGAGATCCTATTTATACCAACATTTATTTTGATTTT TTGGTCACCCCTGAAGTTAACTGGCCGTCGTTTTAC
Tersilochus microgaster	. Sn6 2018	685	ATACTTTATTTTGGATTATGATCTGGAATAATTGGTTCTTCAATAAGATTAAATTCG AATAGAATTAGG- TAATCCAGGGTATTTAATTAATAATGATCAAATTTATAATTCATTGT TACTGCTCATGCTTTTATCA- TAATTTTTTTATAGTTATACCTATCATAAATTGGTGGATT TGGAAATTGATTAGTTCATTAAATTTGGAG- CACCAGATATAGCTTTCCCTCGAATAAAA CAATATAAGATTTTGATTATTACCCCCATCATTATTATTTT- TAATTTTTATAGCTATTAT TAATCAAGGAGTAGGGAGCTGGATGAACCTGTTTATCCTCCTTTATCATTAATA- TATTAATCA TGAAGGGATATCAGTTGATTAGCTATTTTTCTCTTCATCTAGCAGGAATATCCTCAAT TA- TAGGAGCAATTAATTTTACTACTATTATAAATATACGAGCAATTAATTTTCATT AGAAAAAATATCAT- TATTTGTTGATCAATTTTAACTACTACAATTTTACTTTTATTAGC TGTCCAGTTTTTGACGAGGAGCAT- TAACTATATTATTAACAGATCGTAATTTAAATACTTC ATTTTTTGACCCATCAGGAGGAGGT- GATCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTGATTTTT TGGTCACCCCTGAAGTTAACTGGCC
Tersilochus obscurator	VL17, 3-1	691	ATACTTTATTTTGGATTATGATCTGGAATAATTGGTTCTTCAATAAGATTAAATTCG AATAGAATTAGG- TAATCCAGGATATTTAATTAATAATGATCAAATTTATAATTCATTGT TACTGCTCATGCTTTTAT- TATAATTTTTTTATAGTTATACCTATTATGATTGGTGGATT TGGAAATTGATTAGTTCATTAAATTTG- GAGCCCCAGATATAGCTTTTCCCTCGAATAAAA TAATATAAGATTCTGATTATTACCCCCATCATTATTATTTT- TAATTTTTATAGCTGTTAT TAATCAAGGAGTAGGAACCTGGATGAACCTGTTTATCCTCCTTTATCATTAATA- TATTAATCA TGAAGGGATATCAGTAGATTAGCTATTTTTCTCTTCATCTAGCAGGAATATCATCAAT TA- TAGGAGCAATTAATTTTACTACTATTATAAATATACGAGCAATTAATTTTCATT AGAAAAAATATCAT- TATTTGTTGATCAATTTTAACTACTACAATTTTACTTTTATTAGC TGTCCAGTTTTTGACGAGGAGCAT- TAACTATATTATTAACAGATCGTAATTTAAATACTTC ATTTTTTGACCCATCAGGAGGAGGT- GACCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTGATTTTT TGGTCACCCCTGAAGTTAACTGGCCGTCGTT
Phradis interstitialis	L17,4-1	692	ATACTTTATTTTGGTATATGATCTGGAATAATTGGTCATCTATAAGATTATTCGA ATAGAATTAG- GAAATCCAGGATATTTAATTAATAATGATCAAATTTATAATTCATTGT ACTGCTCATGCAATTTGTAA- TAATTTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAAATTGGAGGATTT GGAAATTTGACTTATTCCTTTAATAAATTGGAG- CTCCTGATATAGCCTTTCCCTCGAATAAAT AATATAAGATTTTGATTACTACCTCCCTCATTATCATTTTAT- TAATTAGAAGAATTATT AATCAAGGAGTAGGAACAGGATGAACCTGTTTACCCCCATCATCTTTAAATAT- TAATCAT CAAGGAATATCAGTTGATTAGCAATTTTTCTTTACATATAGCAGGAATATCTCTATT ATAG- GAGCTATTAATTTTATTTCAACTATTTTAAATATACGAATAAATAAATTACACTT GAAAAAATTACCTT- TATTTGTTGATCAATTCCTTATTACTACAATTTTATTATTATTAGCT GTACCAGTATTTGCTGGAGCTT- TAACTATATTACTTACTGATCGAAATATTAATACATCT TTTTTGACCCATCAGGAGGAGGA- GACCCAATTCCTTATCAACATTTATTTTGATTTTT TGGTCACCCCTGAAGTTAACTGGCCGCCGTTT
Trichomalus perfectus	VL27,1	606	ATATTTTATTTTTCGGAATATGATCTGGAATTATAGGATTATCAATAAGAATAATTATTCG AATAGAATTAG- GAAATCCCTGGATCTTTAATTGGTAATGATCAAATTTATAATTCATTGT TACAACCTATGCATTTTACTA- TAATTTTTTTTTTGTATACCTGTAATAATAGGAGGGTT TGGAAATTACCTTGTTCCAA-

			TAATTTTAGGGGCTCCAAATATAGCTTTCCCTCGAATAAA TAATATAAGGTTTTGATTATTACCAC- CTAAATTAATATTATTAATTTCTAAAAATTTTAT TGGATCTGGAACCTGGGACTGGATGAACAG- TTTATCCTCCATTATCATCAAATTTATCACA TAAAGGACCCCTCAG- TAAATCTTTCAATTTTTCTTTACATATTGCAGGAGTTTCTTCAAT TATAGGATCTATTAATTTTATTAC- CACAGTTATTAATATAAAAAATTATAAAATTGAAAA TATTCCTCTATTAGCTTGATCTATGTTATTAACCGC- TATTTTATTATTATTCTTTACC AGTTTTAGCAGGAGCTATTACTATATTATTATTGATCGAAATTA AAA- TACTTCATTTTT TGATCC
BOLD siger OK med 99.5%	VL42,1-a	556	TATATTTATTTTTGGAATATGGGCTGGTGTATAGGTTTATCAATAAGAATAATTATTC GGTTAGAATT- AGGCAATCCAGGATCATTAATTGGAAATGATCAAATTTATAATTCAATTG TTACAACCTCATGCCTTTACAA- TAATTTTTTTTTTTGTTATACCTGTAAATAATAGGGGGAT TTGGAAATTTATTAGTTCCATTAATTTTAG- GAGCTCCTGATATAGCATTTCCCTCGAATAA ATAATATAAAATTTTGATTATTACCTCCTAAACTAA- TACTATTAATTTCTAGGATATTTA TTGGATCAGGTACTGGAACCTGGATGAAC- GGTTTTATCCTCCATTATCATCAAATTTATCTC ATAGTGGTCTTCGGTTGAT- TTATCAATTTTTTTCATTACATATTGCGGGTGCTTCATCAA TTATAGGATCAATTAATTTTATTACAACCTG- TATTAATATAAAAAATTTATAAAATTGAAA ATATTCCTCTTTTACCTTGAGCTATATTATTGACTG- CAATTTTACTATTATTATCATTAC CTGTTTTAGCAGGAGC
Mesopolobus mo- rys			
Stenomalina gra- cilis	VL64,1	249	TTATATTTTATTTTTGGTATATGATCAGGAATTATAGGATTATCTATAAGAATAATCATT CGATTAGAATT- AGGTAATCCTGGGTCACTAATTGGAAATGATCAAATTTATACTCTATT GTAACCTACTGCTTTTACTA- TAATTTTTTTTTTTGTTATACCAGTAATAATAGGAGGA TTGGTAATTATTAGTACCAATAATTTTAG- GAGCTCCTGATATAGCTTTCCCTCAAAAA AATAATATA

TABEL 32. Snyltehvepse brugt til sammensætning af blanding A og B ("mock samples")

Art	Source
<i>Tersilochus microgaster/obscurator</i>	Mark 20 Vandfælde 21.4.20 1 hun Mark 21 Vandfælde 21.4.20 1 hun Mark 3 Vandfælde 19.4.20 7 hunner Mark 7 Vandfælde 17.5.20 5 hunner Mark 5 Vandfælde 17.5.20 4 hunner
<i>Trichomalus perfectus</i>	Mark 8 klækket fra rapsskulper 2020 2 hun og 2 han Mark 15 klækket fra rapsskulper 2020 3 hun og 1 han
<i>Tersilochus heterocerus</i>	Mark 7 Vandfælde 17.5.20 2 hunner og 1 han Mark 3 Vandfælde 17.5.20 3 hunner Mark 5 Vandfælde 17.5.20 4 hunner
Snyltehvepse tilhørende <i>Dacnusiini</i>	Mark 5 Vandfælde 17.5.20 2 hunner, 2 hanner.
<i>Mymaridae</i>	Mark 7 Vandfælde 17.5.20 1 individ Mark 30 Vandfælde 21.4.20 6 individer
<i>Phradis interstitialis</i>	Mark 3 vandfælde 19.4.20 9 hunner

12. Bilag 3 Metodebeskrivelse af dissektion af glimmerbøsselarver

Technical note fra Christer Nilsson, SLU, Alnarp, Sverige

A dissection method for the assessment of parasitisation of coleopteran larva

Our research group at the Swedish University of Agricultural Sciences in Alnarp, have been working with parasitisation of hymenoptera on pollen beetles (*Meligethes spp*; Coleoptera) in periods during many years. The black eggs of *Tersilochus heterocerus* and the head of the *Diospilus capito* larva are easily observed through the host cuticle, but other life stages and other parasitoids can only be detected through dissection, as they are uncoloured. When we first started working with this we used a method first used by prof. L. Caltagirone (California) to determine parasitoid larvae in aphids. The content of the pollen beetle larvae were stained with acetocarmine. This staining technique, coloured almost all organs and was laborious. Not very many larvae could be examined per hour (Nilsson C. & Andreasson, B. 1987. Parasitoids and predators attacking pollen beetles (*Meligethes aeneus* F.) in spring and winter rape in southern Sweden. IOBC-Bull 10, 64-73).

When we started working with dissections again at the turn of the century we tried to improve the staining technique and also use it for other beetle larvae that we caught in oilseed rape, e g *Psylliodes* and *Ceutorrynchus* larvae. The best results were obtained using a water-soluble colour. The best contrast was observed with a green food colour (usually used to stain candy) in water. The body content of the larva is pressed out in a drop of coloured water. After about 30 seconds it is squished out under a cover glass and examined under a binocular microscope. Most parts of the body content are coloured by the stain, but parasitoid larva and eggs seem to be somewhat hydrophobic and stands off very clear against the green background, but will slowly take up colour, making the contrast lower with time. The host larvae should be frozen or fresh. It takes about 5 minutes in all to dissect a larva with this method.

Britt Åhman (Andreasson)
Department of Crop Science
Swedish University of Agricultural Sciences
P O Box 44
SE-230 53 Alnarp
Sweden

Snyltehvepse i raps – en overset ressource i bekæmpelse af rapsskadedyr

I projektet undersøgte, hvor udbredte snyltehvepse er i danske rapsmarker, i hvilken grad snyltehvepsene parasiterer skadedyrene, og hvorvidt snyltehvepsenes forekomst og parasitering er associerede med forskellige træk ved det omgivende landbrugslandskab. Resultaterne viste, at rapsjordløpper, glimmerbøsser, skulpesnudebiller og deres snyltehvepse er tilstede i næsten alle danske rapsmarker, konventionelle som økologiske. Snyltehvepsenes parasitering af skadedyrene varierede både fra mark til mark og fra år til år. Skadedyr og snyltehvepse tilbringer det meste af deres liv i rapsafgrøden, og forekomsten af snyltehvepse ser ud til at hænge sammen med såvel rapsarealet som med størrelsen af udyrkede arealer i det omgivende landskab. Det ser således ud til, at snyltehvepsene i et lokalt område fordeler sig på den raps, der er til rådighed, altså en koncentrering, når rapsarealet mindskes, og en fortynding, når rapsarealet øges i forhold til året før. Derudover er der flere snyltehvepse i landskaber med mange udyrkede arealer.

Effekten af parasitering på skadedyrspopulationerne er vanskelig at kvantificere, dels fordi parasitering kun er én ud af mange populationsbegrænsende faktorer, dels fordi der er biologiske feedback mekanismer, der reducerer effekten af snyltehvepsenes parasitering. Mens effekten af parasitering på rapsjordløppe og glimmerbøsse først viser sig året efter, har parasitering af skulpesnudebillen en øjeblikkelig "bekæmpelseseseffekt". Resultaterne viser, at alle snyltehvepsearter optræder i rapsmarkerne allerede i april, hvor glimmerbøsserne normalt bekæmpes med insekticider. Denne viden bør anvendes i rådgivningen til at øge opmærksomheden på snyltehvepsene, når rapsavlerne træffer beslutning om tidlig skadedyrsbekæmpelse.



Miljøstyrelsen
Tolderlundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk