

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sabina LOKAR

**UČINEK PROSULFOKARBA IN PENDIMETALINA
NA RAST IN RAZVOJ ENTOMOPATOGENE GLIVE
Beauveria bassiana (Buls.–Criv.) Vuill.**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sabina LOKAR

**UČINEK PROSULFOKARBA IN PENDIMETALINA NA RAST IN
RAZVOJ ENTOMOPATOGENE GLIVE
Beauveria bassiana (Bals.–Criv.) Vuill.**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**EFFECT OF PROSULFOCARB AND PENDIMETHALIN ON
GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE ENTOMOPATHOGENIC
FUNGUS *Beauveria bassiana* (Bals. – Criv.) Vuill.**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija kmetijstva – agronomije na Biotehniški fakulteti v Ljubljani. Opravljeno je bilo na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, travništvo in pašništvo. Vsi poskusi so bili opravljeni v fitopatološkem laboratoriju.

Mentor diplomske naloge je prof. dr. Franci Aco CELAR.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc Batič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franci Aco CELAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Darja KOCJAN AČKO
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Sabina Lokar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 632.95.024.13:632.954:632.937.11(043.2)
- KG herbicidi/prosulfokarb/pendimetalin/entomopatogene glive/*Beauveria bassiana*/rast micelija/toksičnost
- KK AGRIS H01/H60
- AV LOKAR, Sabina
- SA CELAR, Franci Aco (mentor)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2013
- IN UČINEK PROSULFOKARBA IN PENDIMETALINA NA RAST IN RAZVOJ ENTOMOPATOGENE GLIVE *Beauveria bassiana* (Bals.–Criv.) Vuill.
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
- OP IX, 32 str., 3 pregl., 15 sl., 42 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V raziskavi smo preučevali učinek dveh herbicidnih pripravkov, Boxer (prosulfokarb) in Stomp 400 SC (pendimetalin), na rast in razvoj micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana*. Glivo smo gojili v *in vitro* razmerah na PDA gojišču, ki smo mu dodali različne odmerke posameznega herbicida. Ti odmerki so bili 0 %, 25 %, 50 %, 75 % in 100 % priporočenega poljskega odmerka. Glivo smo gojili pri dveh različnih temperaturah, 15 in 25 °C, ter pri 60 % relativni zračni vlagi. Vpliv posameznega odmerka herbicida smo nato opazovali po 7- in 14- dnevni inkubaciji glive in primerjali z rastjo glive v kontrolnem obravnavanju. Ugotovili smo, da oba herbicida na glivo učinkujeta fungistatično. V primerjavi s kontrolo (0 %) je bila pri obeh herbicidih stopnja inhibicije nad 60 %. Oba herbicida glede na stopnjo inhibicije uvrščamo v 3. oziroma 4. razred po lestvici škodljivosti, kar pomeni, da sta oba pripravka zmerno škodljiva do škodljiva in nista primerna za sočasno uporabo skupaj z glivo *Beauveria bassiana*. Temperatura na inhibicijo rasti micelija ni imela vpliva. Obstajajo statistično značilne razlike med obema pripravkoma, kar potrjuje, da je inhibitorski učinek prosulfokarba značilno večji kot pendimetalina.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 632.95.024.13:632.954:632.937.11(043.2)
- CX herbicides/prosulfocarb/pendimethalin/entomopathogenic fungus/*Beauveria bassiana*/mycelial growth/toxicity
- CC AGRIS H01/H60
- AU LOKAR, Sabina
- AA CELAR, Franci Aco (supervisor)
- PP SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- PY 2013
- TI EFFECT OF PROSULFOCARB AND PENDIMETHALIN ON GROWTH AND DEVELOPEMENT OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* (Bals.–Criv.) Vuill.
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO IX, 32 p., 3 tab., 15 fig., 42 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In our study, we examined the effects of two herbicides on growth and development of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Two herbicides we used were Boxer (prosulfocarb) and Stomp 400SC (pendimethalin). Fungus was cultured *in vitro* on PDA medium, where we added different doses of each herbicide. These doses were 0 %, 25 %, 50 %, 75 % and 100 % of the recommended field dose. Fungus was grown at two different temperatures, 15 °C and 25 °C and at 60 % relative air humidity. Impact of each herbicide dose was then observed after 7- and 14- days of fungi incubation and than compared with the growth of fungi in the control treatment. We determined that both herbicides have fungistatic effect on the fungus. In comparison with control (0 %), inhibition level was over 60 % at both herbicides. According to the degree of inhibition these two herbicide are classified in the 3rd or 4th rank, on a damaging scale. That means that both preparations are moderately harmful to harmful and are not suitable for combined use with the fungus *Beauveria bassiana*. There was no temperature effect on mycelial growth inhibition. Statistically significant differences between the two preparations exist and that confirms that inhibitory effect of prosulfocarb is slightly larger than pendimethalin.

KAZALO VSEBINE

	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
	KAZALO VSEBINE	V
	KAZALO PREGLEDNIC	VI
	KAZALO SLIK	VII
	OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1	UVOD	1
1.1	NAMEN NALOGE	2
1.2	CILJI NALOGE	2
2	PREGLED OBJAV	3
2.1	ENTOMOPATOGENE GLIVE	3
2.1.1	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.-Criv.) Vuill.	4
2.2	FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA	6
2.2.1	Stomp 400 SC (pendimetalin)	8
2.2.2	Boxer (prosulfokarb)	8
2.3	BIOTIČNO ZATIRANJE	9
2.3.1	Naturalis®	10
2.4	VPLIV FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV NA ENTOMOPATOGENE GLIVE	11
3	MATERIALI IN METODE DE LA	12
3.1	POTEK DE LA	12
3.2	MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV	13
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	15
5	POVZETEK IN SKLEPI	28
6	VIRI	30
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Osnovni podatki o herbicidih, uporabljenih v laboratorijskem preizkušanju (FITO-INFO, 2012)	12
Preglednica 2:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> pri pripravkih Boxer in Stomp, v različnih odmerkih po 7- in 14-dneh pri temperaturi 15 °C v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem	15
Preglednica 3:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> pri pripravkih Boxer in Stomp, v različnih odmerkih po 7- in 14-dneh pri temperaturi 25 °C v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem	20

KAZALO SLIK

Slika 1:	Z glivo <i>Beauveria bassiana</i> okužena ličinka vrste <i>Pseudoplusia includens</i> (Mahr, 1997)	5
Slika 2:	Strukturna formula pendimetalina (Alan Wood`s Web site, 1996)	8
Slika 3:	Strukturna formula prosulfokarba (Alan Wood`s Web site, 1996)	8
Slika 4:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> po 7- in 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp, pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka (male po 7-dneh, velike po 14-dneh).	16
Slika 5:	Primerjava prirasta micelija glive <i>Beauveria bassiana</i> v petrijevkah brez dodanega prosulfokarba (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom prosulfokarba (desno) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.	17
Slika 6:	Primerjava prirasta micelija glive <i>Beauveria bassiana</i> v petrijevkah brez dodanega pendimetalina (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom pendimetalina (desno) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.	18
Slika 7:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega herbicida.	19
Slika 8:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni 21 vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka.	20
Slika 9:	Povprečna inhibicija rasti micelija glive <i>B. bassiana</i> po 7- in 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp, pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka (male po 7-dneh, velike po 14-dneh).	21
Slika 10:	Primerjava prirasta micelija glive <i>Beauveria bassiana</i> v petrijevkah brez	22

dodanega prosulfokarba (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom prosulfokarba (desno) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.

- Slika 11: Primerjava prirasta micelija glive *Beauveria bassiana* v petrijevkah brez dodanega pendimetalina (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom pendimetalina (desno) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. 23
- Slika 12: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka. 24
- Slika 13: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka. 24
- Slika 14: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp pri dveh različnih temperaturah, 15 °C in 25 °C ter 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med različnima temperaturama pri enakem odmerku in med različnimi odmerki herbicida pri enaki temperaturi. 25
- Slika 15: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp pri dveh različnih temperaturah, 15 °C in 25 °C ter 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med različnima temperaturama pri enakem odmerku in med različnimi odmerki herbicida pri enaki temperaturi. 25

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

B. bassiana – *Beauveria bassiana*

r.z.v. – relativna zračna vlaga

PDA – krompirjev dekstrozni agar

(Bals.-Criv.) Vuill. – (Balsamo-Crivelli) Vuillemin

FFS – fitofarmacevtsko sredstvo

1 UVOD

Integrirani način varstva rastlin združuje različne načine varstva, ki so sprejemljivi z gospodarskega, ekološkega in toksikološkega vidika. Njegov bistveni del je biotično varstvo rastlin. Ko govorimo o biotičnem varstvu rastlin kot o doseljevanju neke domorodne populacije ali pa celo o naseljevanju tujerodne vrste koristnih organizmov v naravo, presegamo okvire varstva rastlin. Zato moramo upoštevati ne le načela učinkovitosti in kakovosti biotičnega varstva, pač pa tudi pravila in morebitno tveganje za ohranjanje narave in njene biotske raznovrstnosti. Podrobnejše postopke za vnos, gojenje in uporabo koristnih organizmov ureja Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin (Pravilnik ..., 2006). Določbe tega pravilnika se ne uporabljajo za vnos in uporabo mikroorganizmov, ki jih urejajo predpisi s področja fitofarmaceutskih sredstev in so podvrženi drugačnim ocenam tveganja v postopku registracije. Seznam domorodnih in seznam tujerodnih vrst organizmov za namen biotičnega varstva rastlin vodi Fitosanitarna uprava RS (Mavsar in Knapič, 2007).

Veliko število entomopatogenih gliv ima pomembno vlogo pri naravnem oziroma biotičnem zatiranju škodljivih členonožcev (Keller, 1991).

Na preživetje gliv, njihovih konidijev v veliki meri vplivajo interakcije z agrokemikalijami. FFS, med njimi tudi herbicidi, lahko delujejo sinergistično oziroma antagonistično na insekticidni potencial glive *Beauveria bassiana* in s tem motijo naravno delovanje tega patogena (Benz, 1987). Zato je bistvenega pomena, da poznamo tako delovanje herbicidov kot tudi delovanje glive, saj lahko le tako pozitivno izkoristimo njuno medsebojno interakcijo, ter s tem uspešno rešujemo težave s področja varstva rastlin.

Uporabnost pripravkov na podlagi entomopatogenih gliv je v primerjavi z običajnimi fitofarmaceutskimi pripravki povezana predvsem z njihovo učinkovitostjo in ceno. Biotični pripravki imajo prednost iz stališča varnosti ljudi in drugih ne ciljnih organizmov, zmanjšani so ostanki nevarnih snovi v hrani, povečana je aktivnost drugih naravnih sovražnikov, ohranja oziroma povečuje se naravna pestrost okolja. Velika prednost je tudi v samem nanašanju, ki je mogoče s konvencionalno opremo. Biotični pripravki imajo tudi svoje slabosti, ena izmed njih je odpornost ciljnih organizmov na pripravke, hitrost delovanja, specifično delovanje (preširok ali preozek spekter ciljnih organizmov, na katere učinkujejo) in visoki stroški (Lacey in sod., 2001).

Vrsta *Beauveria bassiana* je naravna talna gliva. Preučevana je bila za zatiranje insektov, ki živijo v tleh, kot npr. ogrcev majskega hrošča. Mnogi talni škodljivci so naravno tolerantni na to entomopatogeno glivo, kar pa ni značilno za mnogo nadzemnih škodljivcev. Zato se je komercialni razvoj te glive za biotično zatiranje škodljivcev usmeril proti nadzemnim škodljivcem (Grodén, 1999).

Poznavanje in izobraževanje s področja biotičnega varstva rastlin je zelo pomembno, saj lahko na ta način ohranjamo tako naravno pestrost, varujemo okolje in pridelamo več pridelkov ob manjši uporabi fitofarmaceutskih sredstev.

1.1 NAMEN NALOGE

Namen naloge je ugotoviti ali lahko v integrirani kmetijski pridelavi sočasno uporabljamo entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana* in dva talna herbicida, Boxer z aktivno snovjo prosulfokarb in Stomp 400 SC z aktivno snovjo pendimetalin. Zanimali so nas stranski učinki obeh herbicidov na rast in razvoj glive.

1.2 CILJI NALOGE

Cilj diplomske naloge je bil ugotoviti stranske učinke dveh izbranih herbicidov (pendimetalin in prosulfokarb) na rast in razvoj glive *Beauveria bassiana* ob sočasnem vplivu temperature in različnih odmerkov herbicidov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ENTOMOPATOGENE GLIVE

Glive v rastlinski sistem nekateri uvrščajo zaradi tradicije, vendar spadajo v samostojno kraljestvo, enakovredno kot rastline in živali. Organizmi iz kraljestva Fungi (glive) so heterotrofi, ki živijo saprofitsko, parazitsko in simbiotsko. Heterotrofni organizmi so tako iz vidika energetske preskrbe in presnove ogljika, kot tudi iz vidika prehrane z dušikovimi spojinami in drugimi hranili. Življenjski prostor gliv so sladke vode, kopno, redkeje tudi morje. Za celice gliv je značilno, da so brez plastidov in klorofila. Gradnik celične stene je pri večini gliv hitin, lahko pa se pojavi tudi celuloza in drugi glukani. Rezervne snovi pri glivah predstavljajo glikogen, maščobe in še nekatere druge spojine (manit), nikoli pa škrob (Batič in sod., 2004).

Glive so evkarionti, torej imajo njihove celice izoblikovano celično jedro. Glede na stopnjo organizacije je njihovo telo steljka, ki je zgrajena iz spleta hif, ki mu pravimo micelij. Pletež hif je pri višjih organizacijskih stopnjah namenjen predvsem razmnoževanju. Razmnoževanje gliv je zelo raznoliko tako na spolni, kot tudi nespolni, vegetativni stopnji. Številne skupine imajo samo nespolno razmnoževanje, spolno je ali nepoznano ali pa je spolni rod izumrl. Za številne glive je značilna metageneza oziroma menjavanje generacij. Pri spolnem razmnoževanju sta poleg izo-, anizo- in oogamije tudi gametangio- in somatogamija. Nespolno razmnoževanje poteka z različnimi vrstami trosov (spor), med najbolj pogostimi oblikami nespolnega razmnoževanja so konidiji (konidiospore). Za nekatere vrste je značilno nespolno razmnoževanje z razpadom micelija na posamezne celice (oidiji). Sklerocij, katerega predstavlja preplet hif, je trajna oblika vegetativne faze, v kateri nekatere vrste preživijo neugodne razmere. Vegetativno razmnoževanje je možno tudi z več metrov dolgimi vrvičastimi spleti hif, ki jim pravimo rizomorfi (Batič in sod., 2004).

Fungi imperfecti (Deuteromycota) je skupina nepopolnih gliv, ki jo predstavlja okoli 30.000 vrst. Pri tej skupini gliv so ugotovili le nespolne oblike razmnoževanja, predvsem s konidiji, ali pa se je izgubila celo ta (Batič in sod., 2004).

Entomopatogene glive uvrščamo v veliko skupino gliv, ki spolne spore oblikujejo le redko, oz. je sposobnost za oblikovanje le teh izgubila. To so glive, ki jih uvrščamo med višje glive, deblo Deuteromycota (Fungi imperfecti), razred Hyphomycetes (Lacey in sod., 2001). Najpogostejši rodovi entomopatogenih gliv iz razreda Hyphomycetes so *Aspergillus*, *Beauveria*, *Culcinomycetes*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Tolyocladium* in *Verticillium*. Predstavnice tega razreda oblikujejo konidije na miceliju oz. trosonoscih. Poleg konidijev pa nekatere vrste oblikujejo tudi klamidospore, ki so trajne spore. Za predstavnike debela Deuteromycota je značilna tvorba micelija, ki na konidiogenih celicah nosi nespolne trose – konidije (Inglis in sod., 2001).

Za entomopatogene glive je v nasprotju z entomopatogenimi bakterijami in virusi, značilno da žuželke okužujejo s penetracijo skozi kutikulo (Qin, 2010). Večina gliv iz razreda Hyphomycetes se s konidiji pritrdi na kutikulo žuželk. Sledi kalitev spor s kličnim mešičkom, oblikovanje apresorija (pritrditev kaleče spore) in oblikovanje infekcijskega klina oziroma hife. Entomopatogene glive v notranjost gostitelja prodirajo na mehanski način in s pomočjo litičnih encimov. Gliva se širi s hifami, tako da poskuša premagovati

obrambne mehanizme gostitelja. Do smrti gostitelja pride zaradi prekinitve dovoda hranil, fizičnih ovir ali zaradi izločanja toksinov, ki je pri glivi *Beauveria bassiana* poleg ostalih tudi oosporein. Ko nastopi smrt gostitelja, v ugodnih razmerah izrašča micelij glive iz kadavra in oblikuje konidiogene celice. Gliva sporulira na površju odmrlega gostitelja in konidiji se sproščajo v okolico. Za širjenje konidijev je potrebna pomoč prenašalcev, ki so dež, veter, žuželke (Boucias in sod., 1988, 1991).

Entomopatogene glive se širijo z živim okuženim gostiteljem, ki se seli in umre na drugem kraju kot je bil okužen (Hajek, 1997). Nekaj vrst listnih uši migrira na zelo dolge razdalje, zato so bile spoznane kot »varovalke« entomopatogenih gliv (Feng in sod., 2004). To pomeni, da lahko gliva *B. bassiana* prepotuje zelo velike razdalje s pomočjo gostitelja, kar vodi do novih okužb in naselitev daleč od prvotnega kraja nahajanja glive (Meyling in Eilenberg, 2007).

2.1.1 *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.

Gliva *Beauveria bassiana* povzroča bolezen sviloprejk imenovano "muscardine". Ima micelij s prečnimi pregradami, oblaste konidije na vejicah konidioforov (trosonoscev). Nesporogeno področje na dnu trosonosca je zadebeljeno in stekleničasto (Likar, 1987).

Entomopatogeno glivo *B. bassiana* je odkril italijanski znanstvenik Agostino Bassi leta 1835, kot vzrok za uničujočo bolezen "muscardine" na gosenicah sviloprejk (Steinhaus, 1956). V njegovo čast, je gliva dobila tudi vrstno ime.

Gliva *Beauveria bassiana* je najbolj raziskana in dobro znana entomopatogena gliva. Poznana je kot pogosto uporabljen mikoinsekticid (Inglis in sod., 2001). Vrsto *B. bassiana* uvrščamo med talne glive. Okužuje zelo širok spekter tako odraslih, zrelih žuželk, kot tudi njihovih ličink – npr. hroščev, listnih uši, termitov, itd. (Mahr, 1997). Tla so zelo kompleksna, zato veliko dejavnikov, kot so tekstura tal, pH, organska snov, vlaga in organizmi, ki so v tleh prisotni, vpliva na obstojnost in učinkovitost glive. Talne glive so bolj obstojne v glinenih, z organsko snovjo bogatih tleh. V takih tleh je tudi obstojnost (persistenca) herbicidov in adsorbcija le teh na talne delce prav tako veliko večja (Inglis in sod., 2001).

Kot vse entomopatogene glive, tudi gliva *B. bassiana* tvori spore, ki so odporne na okoljske ekstreme in predstavljajo infektivno fazo življenjskega cikla glive. Spore, ki jim pravimo konidiji, ob primerni temperaturi in vlagi, okužijo gostitelja preko zunanje plasti kutikule. Iz glivnih spor raste hifa, ki izloča encime, ki razgradijo povrhnjico, kar omogoči glivi, da prodre skozi kutikulo v telo žuželke. Ko gliva pride v telo začne izločati toksin, beauvericin, ki vpliva na imunski sistem gostitelja tako da le ta oslabi. Ko gostitelj pogine, se tvori antibiotik oosporein, ki pomaga glivi, da onemogoči delovanje črevesnih bakterij. Sčasoma je celotna telesna votlina napolnjena z glivno maso. Če so razmere ugodne se gliva razraste skozi mehke dele gostiteljevega telesa in ustvari videz "belega cvetenja". Za takšno razrast glive *B. bassiana* je potrebna visoka relativna zračna vlaga, 92 % ali več. Cikel zaključijo zunanje hife, ki tvorijo konidije. Ko ti dozori, se sproščajo v okolje (Mahr, 1997).



Slika 1: Z glivo *Beauveria bassiana* okužena ličinka vrste *Pseudoplusia includens* (Mahr, 1997)

Klasifikacija glive *B. bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin (1912) (Index Fungorum, 2008):

Kraljestvo: Fungi

Deblo: Ascomycota

Poddeblo: Pezizomycotina

Razred: Sordariomycetes

Podrazred: Hypocreomycetidae

Red: Hypocreales

Družina: Cordycipitaceae

Rod: *Beauveria*

Vrsta: *Beauveria bassiana*

2.2 FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA

Fitofarmacevtska sredstva so aktivne snovi in pripravki, ki so namenjeni za (Zakon ..., 2007):

- varstvo rastlin, oziroma rastlinskih proizvodov pred škodljivimi organizmi, oziroma za preprečevanje delovanja škodljivih organizmov,
- za vpliv na življenjske procese rastlin, drugače kot s hranili,
- za ohranjanje rastlinskih proizvodov,
- za zatiranje nezaželenih rastlin, delov rastlin, zadrževanje in preprečevanje nezaželene rasti rastlin.

Fitofarmacevtska sredstva so po kemični sestavi anorganske in organske spojine. Prvi fitofarmacevtski pripravki, ki so jih uporabljali v velikem obsegu so bili anorganskega izvora. Fitofarmacevtska sredstva oziroma pesticide razdelimo v skupine glede na ciljno skupino, ki jo zatiramo (Maček in Kač, 1990):

- baktericidi (sredstva za zatiranje bakterij, povzročiteljic rastlinskih bolezni),
- fungicidi (sredstva za zatiranje gliv, ki povzročajo rastlinske bolezni),
 - botriticidi (sredstva za uporabo proti glivi *Botrytis cinerea*),
 - tileticidi (sredstva za razkuževanje semena proti trdi sneti iz rodu *Tilletia*),
 - venturicidi (sredstva za zatiranje gliv iz rodu *Venturia*),
- insekticidi (sredstva za zatiranje žuželk),
 - ovicidi (sredstva za uničevanje jajčec),
 - larvicidi (sredstva za zatiranje ličink),
 - adulticidi (sredstva za zatiranje odraslih stadijev),
 - aficidi (sredstva za zatiranje listnih uši),
- akaricidi (sredstva za zatiranje pršic,
- herbicidi (sredstva za zatiranje plevelov oz. nezaželenih rastlin),
 - arboricidi (sredstva za zatiranje olesenelih rastlin),
 - defolianti (sredstva za sušenje listja),
 - desikanti (sredstva za sušenje rastlin),
- graminicidi (sredstva za zatiranje trav),
- algicidi (sredstva za zatiranje alg),
- nematocidi ali antihelminthiki (sredstva za zatiranje ogorčic ali nematod),
- moluskicidi ali limacidi (sredstva za zatiranje polžev),
- rodenticidi (sredstva za zatiranje glodavcev).

Med pomožna fitofarmacevtska sredstva štejemo še (Maček in Kač, 1990):

- repelente ali repulzivne pripravke, ki odvrčajo škodljive organizme (divjad),
- sinergiste, ki izboljšajo delovanje aktivnih snovi,
- fiziotrope ali regulatorje rasti, ki uravnavajo rast in razvoj rastlin,
- dodatna sredstva, ki tako spremenijo fizikalne lastnosti pripravkov, da izboljšajo njihovo učinkovitost.

Med fitofarmacevtska sredstva lahko v širšem smislu uvrščamo tudi spojine, ki omogočajo zatiranje z biotehniškimi ukrepi (Maček in Kač, 1990):

- feromoni – seksualni feromoni, ki simulirajo naravne vonjave samic in s tem motijo spolne procese pri samcih v naravi in
- segregacijski feromoni, ki lahko povzročijo združevanje škodljivcev v skupine.

Herbicidi so kemične snovi, ki so namenjene zatiranju rastlin, s katerimi skušamo zatreti predvsem na kopnem rastoče plevelne enoletnice in večletnice (trave, zeli, itd.), pa tudi vodne rastline in alge. Znanih je več kot 1000 kemičnih snovi s herbicidnim učinkom, ki jih razdelimo v več podskupin, glede na to na katero skupino rastlin delujejo (Lešnik, 2007).

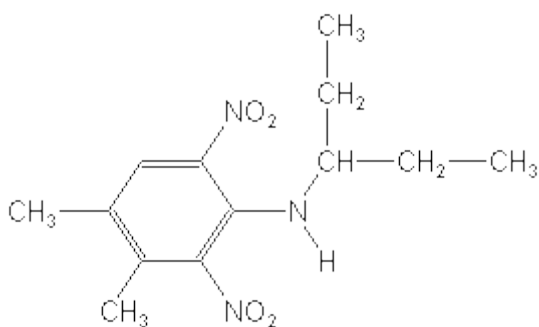
Zatiralni učinek herbicidi dosežejo tako, da prodrejo v plevela in onemogočijo delovanje enega ali več encimov, ki uravnavajo življenjske procese. Za strokovno in uspešno uporabo moramo nujno poznati mehanizme zatiralnega delovanja herbicidov. S poznavanjem mehanizmov delovanja lahko uspešno ocenimo učinkovitost herbicida po uporabi, lahko naredimo načrt kolobarjenja s herbicidi in razvijamo antirezistenčne strategije ter v nekih specifičnih pridelovalnih razmerah opravimo izbor za posamezen plevel najprimernejšega herbicida (Lešnik, 2007).

2.2.1 Stomp 400 SC (pendimetalin)

Pripravek Stomp 400 SC je herbicid, v katerem je aktivna snov pendimetalin (N-(1-etilpropil)-2,6 dinitro-3,4-ksilidin) v 40 % deležu. Pripravek se uporablja za zatiranje enoletnih ozkolistnih plevelov in nekaterih vrst širokolistnih plevelov v ozimni pšenici, ozimnem ječmenu, ozimni rži, tritikali, koruzi, sončnicah, zelju, čebuli itd. (FITO-INFO, 2012).

Aktivna snov pendimetalin je sintetični selektivni herbicid, ki se absorbira preko korenin in listov. Gre za oranžno rumeno trdno snov v obliki kristalov. Je inhibitor mitoze in celične delitve (PPDB ..., 2011).

Njegova kemijska formula je $C_{13}H_{19}N_3O_4$, strukturno pa ga prikazuje slika 2.



Slika 2: Strukturna formula pendimetalina (Alan Wood's Web site, 1996)

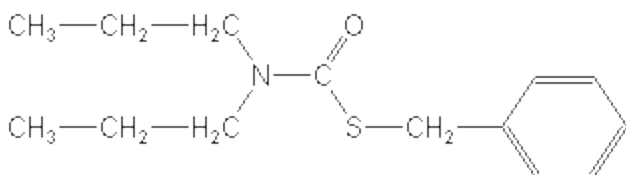
2.2.2 Boxer (prosulfokarb)

Pripravek Boxer je herbicid, ki vsebuje 80 % aktivne snovi, prosulfokarba. Uporablja se za zatiranje ozkolistnega in širokolistnega plevela v ozimni pšenici, ječmenu in rži, v krmnem grahu, krompirju, fižolu itd. (FITO-INFO, 2012).

Na plevela deluje v fazi kalitve preko listov in korenin. Glavni učinek sredstva je dosežen z vnosom prek koreninskega vratu, saj vnos preko korenin le delno učinkuje (Syngenta, 2012).

Prosulfokarb je sintetični selektivni herbicid, ki se v rastlino absorbira preko listov in korenin. Gre za tekočino, ki je blede slamnate barve (PPDB ..., 2011)

Njegova kemijska formula je $C_{14}H_{21}NOS$, strukturno formulo prikazuje slika 3.



Slika 3: Strukturna formula prosulfokarba (Alan Wood's Web site, 1996)

2.3 BIOTIČNO ZATIRANJE

Biotično varstvo rastlin oziroma biotično zatiranje rastlinam škodljivih organizmov je način obvladovanja populacij škodljivih organizmov z uporabo živih koristnih organizmov (plenilci, entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive, bakulovirusi, parazitoidi, protozoe), s tem pa zmanjšamo škodo, ki bi jo ti škodljivi organizmi lahko povzročili (FITO-INFO, 2012).

Stopnja učinkovitosti biotičnih pripravkov je odvisna od številnih med seboj povezanih živih in neživih dejavnikov, med katere uvrščamo sončno obsevanje, mikrobne antagoniste, obnašanje gostitelja, njegova fiziologija, starost in življenjska moč, prisotnost fitofarmaceutskih sredstev, primerna temperatura, vlažnost in vstopna mesta za inokulum (Lacey in sod., 2001).

V Sloveniji je v veljavi Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin, ki ureja koristne organizme za biotično varstvo rastlin, ki so lahko živi naravni sovražniki, antagonisti ali kompetitorji ali njihovi produkti, in drugi organizmi, ki se ne morejo sami razmnoževati, vključno s tistimi, ki so pakirani ali formulirani kot komercialni pripravki. Za namen biotičnega varstva rastlin se uporabljajo koristni organizmi, ki so lahko domorodne ali tujerodne vrste organizmov. Pri vnosu tujerodnih koristnih organizmov moramo biti še posebno pozorni, saj je potrebna še dodatna previdnost zaradi morebitnega negativnega vpliva na naravo. Zato je ob vlogi za vnos tujerodnih koristnih organizmov potrebno poskrbeti tudi za oceno tveganja za naravo, v skladu z zakonsko predpisano obvezno izvedbo presoje tveganja za naravo (Pravilnik ..., 2006).

Med zakonskimi podlagami (cit. po FITO-INFO, 2012) za uporabo koristnih organizmov v biotičnem varstvu morajo izvajalci biotičnih varstvenih ukrepov upoštevati 52. in 53. člen. Zakona o zdravstvenem varstvu rastlin (Ur. L. RS št 23/05) in Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin (2006), ki določa postopke ravnanja/uporabe organizmov za biotično zatiranje. Podlaga za ravnanje s koristnimi organizmi predvsem tujerodnimi je tudi Pravilnik o pogojih za uvoz ali premeščanje določenih škodljivih organizmov, rastlin, rastlinskih proizvodov in nadzorovanih predmetov za poskusne, raziskovalne in razvojne namene in za delo pri žlahtnjenju rastlin (Ur. list RS, št. 45/01, 19. člen nalaga vodenje evidenc).

Veliko napora je bilo vložena v raziskave razvoja glive *B. bassiana* kot biotičnega agensa, ki se uporablja v kmetijstvu in gozdarstvu zmernega pasu. Vendar pa je ta siva lisa v znanju izredno povezana s pomanjkanjem temeljnih raziskav ekologije glive v kopenskih ekosistemih in agroekosistemih. Zelo velik izziv za trajnostno kmetijsko pridelavo predstavlja vključitev entomopatogenov v program zatiranja škodljivcev (Barbosa, 1998; Lacey in sod., 2001).

Gliva *B. bassiana* je v prosti prodaji dostopna, odkar jo je možno množično proizvajati s fermentacijskim procesom in je formulirana tako, da prenese ekstremno ultravijolično svetlobo, temperaturo ter vlago, ki se pojavlja na pridelovalnih površinah. Obstaja nekaj pripravkov, ki vsebujejo glivo *B. bassiana*, med katerimi sta tudi Naturalis® in Mycotrol. Delovanje teh pripravkov je počasnejše, saj traja nekje 3-7 dni, da gliva *B. bassiana* ubije gostitelja. Zato je potrebna temeljita pokritost s pripravkom, da glivne spore pridejo na gostitelja in se izvrši okužba (Mahr, 1997).

2.3.1 Naturalis®

Podpoglavje je povzeto po spletnem viru Karsia.si (2007).

Naturalis je biotični insekticid za zatiranje škodljivcev na vrtninah, krompirju, sadnemu drevju, jagodičju in lešnikih, ki ga proizvaja Intrachem Bio Italia S.p.A.. Učinkovina pripravka je gliva *Beauveria bassiana*, katere vsebnost znaša 7,16 g/100 g pripravka. Je pripravek na podlagi glive *Beauveria bassiana*, soj ATCC 74040, ki je formuliran v obliki oljne suspenzije.

Pripravek ima dva načina delovanja. Kontaktno delovanje, pri katerem žrtev entomopatogene glive umre zaradi pomanjkanja hranil in dehidracije. Drugi način delovanja je repelentno delovanje pri ovipoziciji samic sadnih muh.

Naturalis na rastline nanašamo foliarno, za zatiranje ščitkarjev, pravih listnih uši, navadne pršice, čipkarke, škržatov in sadnih muh ali talno, za zatiranje strun in lešnikarja.

2.4 VPLIV FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV NA ENTOMOPATOGENE GLIVE

Fitofarmaceutska sredstva so antropogen okoljski dejavnik, ki s sinergističnim ali antagonističnim delovanjem vplivajo na škodljive organizme, njihove patogene (entomopatogena gliva) in posledično na njihovo učinkovitost (Benz, 1987).

Z optimalno izbranimi pesticidi lahko zmanjšamo njihov škodljivi učinek na entomopatogene glive (Luz in sod., 2007; Sterk in sod., 1999). Učinkovitost entomopatogene glive *Beauveria bassiana*, ki se nahaja v tleh je pogojena z vsakdanjo uporabo pesticidov v agronomski praksi, saj pogosto pride do kopičenja v tleh. Pomembno je poznati združljivost pesticidov (vključno z herbicidi) z entomopatogeno glivo, če želimo vključiti mikoinsekticid (npr. na podlagi glive *B. bassiana*) v integrirano varstvo rastlin (Ambethgar in sod., 2009).

V Republiki Sloveniji je registriranih nekaj FFS na podlagi mikroorganizmov, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Trichoderma* spp., *Ampelomyces quisqualis* Ces., *Bacillus subtilis*, ki pa se jih uporablja zelo redko. Tržni pridelovalci pogosto zavračajo uporabo biotičnih FFS zaradi njihove slabše učinkovitosti, ki je pogosto posledica uporabe drugih varstvenih in agrotehničnih ukrepov. V navodilih za uporabo pripravkov na podlagi mikroorganizmov tudi ni podatkov o možnosti souporabe s kemičnimi FFS oziroma foliarnimi gnojili in njihovimi potencialnimi negativnimi vplivi na učinkovitost biotičnih pripravkov (Celar in sod., 2011).

Neciljni vplivi pesticidov na koristne organizme, pridobivajo svoj pomen pri razvoju novih aktivnih snovi insekticidov in ponovno registracijo že obstoječih v Evropski skupnosti. Iz mikrobiološkega vidika, se že preučujejo stranski učinki pesticidov na entomopatogene glive in učinek entomopatogenih gliv na druge koristne mikroorganizme (Sterk in sod., 2003). Celar in sod. (2011) so naredili poskus, v katerem so preučevali učinkovitost biotičnega pripravka Naturalis® proti strunam v krompirju, sočasno pa so uporabili običajno kemično varstva za zatiranje bolezni in krompirja.

3 MATERIALI IN METODE DELA

V laboratorijskem poskusu smo preučevali vpliv dveh različnih herbicidnih sredstev, pendimetalina in prosulfokarba (preglednica 1) na rast in razvoj entomopatogene glive *Beauveria bassiana*, ki smo jo izolirali iz pripravka Naturalis (INTRACHEM Bio Italia S.p.A.).

V spodnji preglednici so prikazani osnovni podatki obeh uporabljenih herbicidnih pripravkov, proizvajalec, aktivna snov oziroma učinkovina, delež učinkovine v pripravku, priporočeni odmerek pripravka v litrih na hektar in priporočena poraba vode v litrih na hektar.

Preglednica 1: Osnovni podatki o herbicidih, uporabljenih v laboratorijskem preizkušanju (FITO-INFO, 2012)

Pripravek	Proizvajalec	Učinkovina	Delež [%]	Odmerek [l/ ha]	Priporočena poraba vode [l/ha]
Boxer	SYNGENTA Crop Protection AG, Basel	prosulfokarb	80	5	300-400
Stomp 400 SC	BASF SE	pendimetalin	40	5	200-400

Poskus smo si zastavili tako, da smo pripravili po štiri koncentracije za vsak herbicid in za vsako koncentracijo opravili po šest ponovitev. Vse skupaj pa smo izvedli pri dveh temperaturah, 15 °C in 25 °C. Naša obravnavanja so bila 25-, 50-, 75- in 100-odstotni hektarski odmerek. Pripravili pa smo tudi kontrolno obravnavanje brez herbicida, ki nam je služilo kot primerjava. Koncentracije smo preračunali na enotno porabo vode 1000 litrov na hektar.

3.1 POTEK DELA

Poskus smo začeli s pripravo gojišča, za katerega smo uporabili PDA gojišče. Za pripravo gojišča smo uporabili 1 l destilirane vode, v katero smo dodali 39 g PDA (Potato Dextose Agar, Biolife). Vse skupaj smo kuhali v vodni kopeli, približno 15 minut, oziroma dokler se ni agar popolnoma raztopil. Nato smo raztopino razdelili v 10 erlenmajeric (300 ml), v vsako po 100 ml, ter v vsako dodali še magnetno mešalo. Erlenmajerice smo pokrili z aluminijasto folijo, ter vse skupaj postavili v avtoklav, kjer je potekala mokra sterilizacija pri temperaturi 121,1 °C, tlaku 1,3 bara, 15 minut. Poleg erlenmajeric smo v avtoklav dali tudi tipse za pipete, ki smo jih kasneje uporabili za dodajanje pripravkov.

Po končanem avtoklaviranju smo erlenmajerice z pripravljenim gojiščem ohladili na 50 °C ter mu dodali ustrezno količino pripravka. Pri tem smo morali paziti, da se agar ni ohladil preveč, saj bi se v tem primeru pred razlivanjem strdil.

Po navodilih je pri obeh pripravkih priporočen odmerek herbicida 5 l/ha, zato smo to preračunali na 100 ml, ter na ustrezne manjše odmerke. Kot osnovo za pripravo raztopin fitofarmaceutskih sredstev smo za vse vzeli enotno porabo vode 1000 l/ha. Pri pripravku Boxer smo za željen 100-odstotni odmerek v erlenmajerico s 100 ml gojišča, s sterilnim tipsom odpipetirali 0,5 ml pripravka, za 75-odstotni odmerek 0,375 ml, za 50-odstotni odmerek 0,25 ml ter za 25-odstotni odmerek 0,125 ml. Nato smo postopek ponovili še pri drugem pripravku, Stomp-u. Tudi pri tem smo za 100-odstotni odmerek v erlenmajerico s 100 ml gojišča odpipetirali 0,5 ml pripravka, za 75-odstotni odmerek 0,375 ml, za 50-odstotni odmerek 0,25 ml ter za 25-odstotni odmerek 0,125 ml.

Erlenmajerice z gojiščem ter odmerjenimi pripravki smo dali na magnetno mešalo, kjer smo pri temperaturi mešalne plošče 60 °C vse skupaj dobro premešali, da smo pripravek enakomerno razporedili po celotnem gojišču. V brezprašni komori smo gojišča s pripravkom iz erlenmajeric razlili v sterilne petrijevke. Količina iz ene erlenmajerice je morala zadoščati za pripravo 6 agarnih plošč v petrijevkah, kar predstavlja eno obravnavanje. V vsako petrijevko smo nalili približno 15 ml. Postopek smo ponovili za vse erlenmajerice, tako, da smo na koncu dobili 108 petrijevk z gojišči, 54 petrijevk za vsako temperaturo. Od tega je bilo po 6 petrijevk za vsako temperaturo kontrolnih, kar pomeni, da je bil v teh le PDA gojišče brez dodanih herbicidov.

Na pripravljene agarne plošče smo na sredino nacepili koščke 14 dni stare kulture glive *Beauveria bassiana*, ki je bila gojena na PDA gojišču pri temperaturi 25 °C. Koščki, ki smo jih cepili na plošče so imeli premer 5 mm. Postopek je bil enak za vseh 108 agarnih plošč. Nato smo petrijevke zatesnili s parafilmom, ter jih označili (dodani pripravek, koncentracija dodanega pripravka, temperatura komore, zaporedna številka petrijevke v posameznem obravnavanju). Vse skupaj smo nato inkubirali 14 dni v dveh rastnih komorah, pri dveh različnih temperaturah, 15 °C in 25 °C, ter pri 60-odstotni relativni zračni vlagi.

3.2 MERITVE IN OBDELAVA PODATKOV

Prirast micelija *B. bassiana* smo opazovali po 7- in 14-dneh. Po 7-dneh inkubacije smo izmerili premer po širini ter dolžini in občrtali zunanji rob, isto smo nato ponovili še po 14-dneh. Po 14-dneh smo petrijevke dokončno preučili tako, da smo jih po obravnavanjih postavili skupaj na optični čitalnik, ter jih posneli, nato pa s pomočjo analizatorja slike (Nikon NIS Elements BR 2.30) ugotavljali površinske priraste micelija. Vse zbrane podatke smo prenesli v računalniški program Excel, ter jih uredili v tabele, nato pa jih statistično obdelali s pomočjo programa Statgraphics Plus; Student – Newman – Keuls testa pri 5-odstotnem tveganju.

Glede na dobljene rezultate smo nato izračunali odstotek inhibicije, po naslednji formuli:

$$I = \frac{K-H}{K} * 100 \quad \dots (1)$$

I (%) – odstotek inhibicije; K – površina micelija v kontrolnem obravnavanju; H – površina micelija v obravnavanju s herbicidom

Dobljeni odstotki inhibicije nam povejo stopnjo škodljivosti, ki obsegajo štiri razrede:

1 = neškodljiv (< 25-odstotna inhibicija rasti), 2 = rahlo škodljiv (25 – 50 %), 3 = zmerno škodljiv (51 – 75 %), 4 = škodljiv (> 75 %) (Sterk in sod., 2003).

Glede na odstotek inhibicije smo obravnavanja (odmerke) obeh uporabljenih herbicidov razvrstili v posamezne razrede glede škodljivosti.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Preučevali smo vpliv dveh izbranih herbicidov na rast micelija entomopatogene glive *B. bassiana* v različnih koncentracijah ter pri dveh različnih temperaturah. Površino prirastlega micelija smo zmerili po 7- in 14-dneh po nacepljenju glive, s pomočjo računalniškega programa (Nikon NIS Elements BR 2.30). Dobljene podatke smo nato še statistično obdelali s pomočjo Student – Newman – Keuls testa pri 5-odstotnem tveganju. Dobili smo podatke o povprečni inhibiciji rasti micelija glive *B. bassiana*, pri različnih deležih (25 %, 50 %, 75 %, 100 %) priporočenega poljskega odmerka herbicida v gojišče.

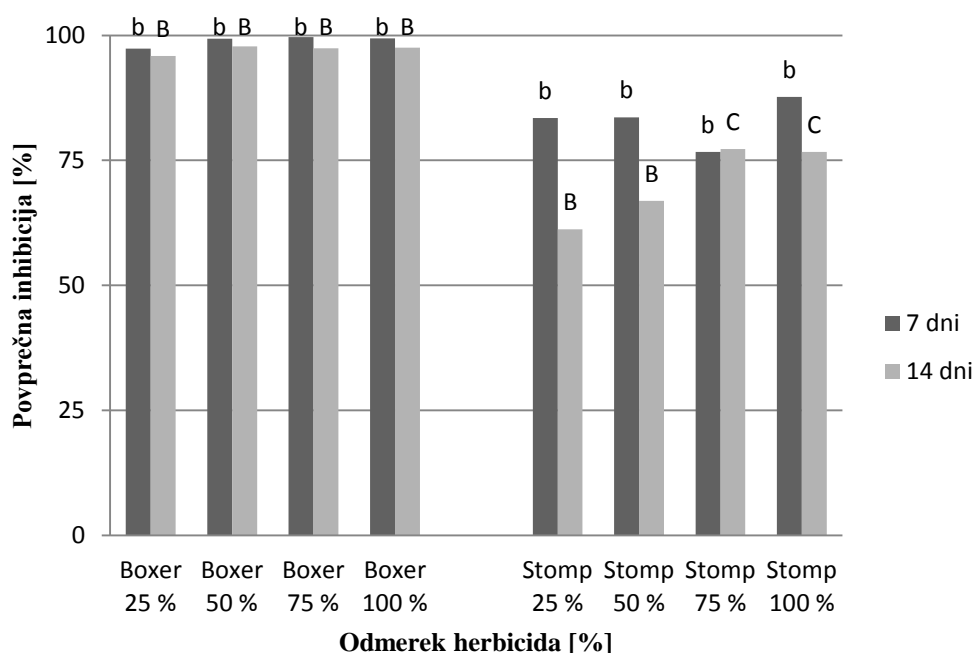
V preglednici 2 so zbrani podatki o povprečni inhibiciji glive po 7- in 14-dneh pri temperaturi 15 °C. Povprečno inhibicijo smo izračunali iz vseh ponovitev, ki smo jih naredili za posamezni odmerek pripravka pri posamezni temperaturi. Glede na dobljene rezultate povprečne inhibicije smo posamezna obravnavanja (odmerke) obeh herbicidov uvrstili v enega izmed štirih razredov glede na stopnjo škodljivosti (Sterk in sod., 2003). Ugotovili smo, da tako pripravek Boxer kot tudi Stomp delujeta zelo inhibitorno na glivo *B. bassiana*, ne glede na dodan odmerek, ki je bil v našem primeru od 25 % pa do 100 %. Obstajajo pa statistično značilne razlike med obema pripravkoma in kontrolnim obravnavanjem. Ne glede na temperaturo in odmerek herbicida, ki je bil dodan gojišču, pripravek Boxer (prosulfokarb) deluje veliko bolj inhibitorno na rast micelija glive kot pripravek Stomp (pendimetalin).

Preglednica 2: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* pri pripravkih Boxer in Stomp, v različnih odmerkih po 7- in 14-dneh pri temperaturi 15 °C v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem

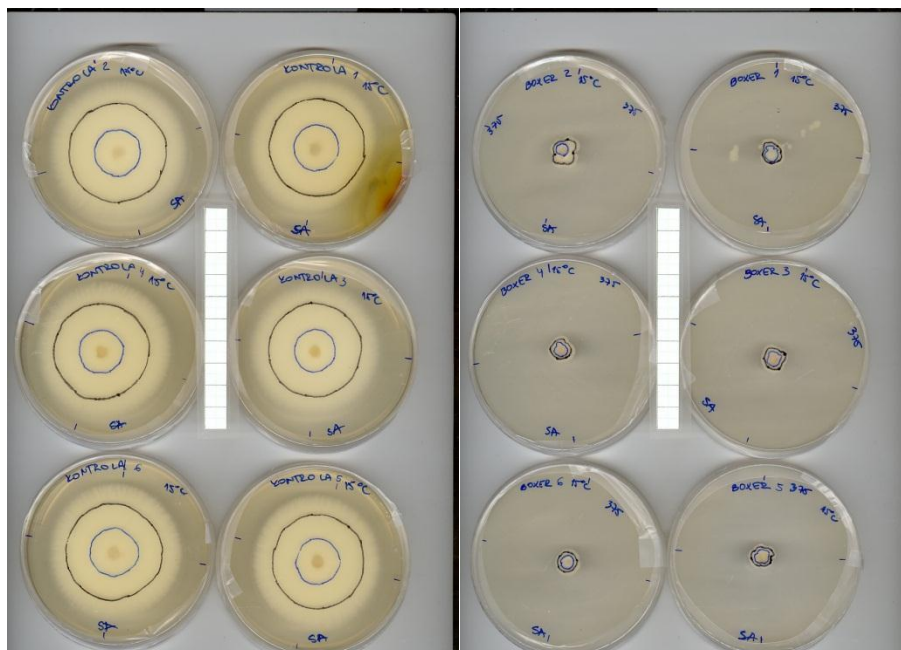
Preparat	Odmerek [%]	Povprečna inhibicija po 7-dneh [%]	Stopnja škodljivosti*	Povprečna inhibicija po 14-dneh [%]	Stopnja škodljivosti*
Boxer	25	97,36	4	95,85	4
	50	99,36	4	97,77	4
	75	99,64	4	97,42	4
	100	99,37	4	97,57	4
Stomp 400SC	25	83,48	4	61,21	3
	50	83,57	4	66,93	3
	75	76,67	4	77,29	4
	100	87,71	4	76,67	4

1 = neškodljiv (< 25-odstotna inhibicija rasti), 2 = rahlo škodljiv (25 – 50 %), 3 = zmerno škodljiv (51 – 75 %), 4 = škodljiv (> 75 %) (Sterk in sod., 2003)

Pri obravnavanju, kjer smo dodali v gojišče herbicid Boxer (prosulfokarb) je bila že po 7-dneh škodljivost največja, torej 4. Povprečna inhibicija pri 25-odstotnem odmerku je bila 97,36 %, pri 50-odstotnem odmerku 99,36 %, pri 75-odstotnem odmerku 99,64 % in pri 100-odstotnem odmerku 99,37 %. Statistična analiza je pokazala, da med posameznimi inhibicijami rasti pri vseh štirih odmerkih, ni statistično značilnih razlik. Po 14-dneh se je inhibicija nekoliko zmanjšala (slika 4), kar je posledica hitrejše rasti glive in prilagoditve na gojišče. Stopnja škodljivosti je bila kljub temu za vse štiri odmerke herbicida še vedno največja. Pri 25 % priporočenega odmerka je bila inhibicija prirasta micelija 95,85 %. Pri 50-odstotnem odmerku je bila inhibicija prirasta micelija 97,77 %, nato pa se je nekoliko zmanjšala in dosegla pri 75 % priporočenega poljskega odmerka 97,42 %. Pri 100-odstotnem odmerku pa je inhibicija znašala 97,57 %. Tudi tukaj smo ugotovili, da statistično značilnih razlik med odstotki inhibicije po odmerkih ni.

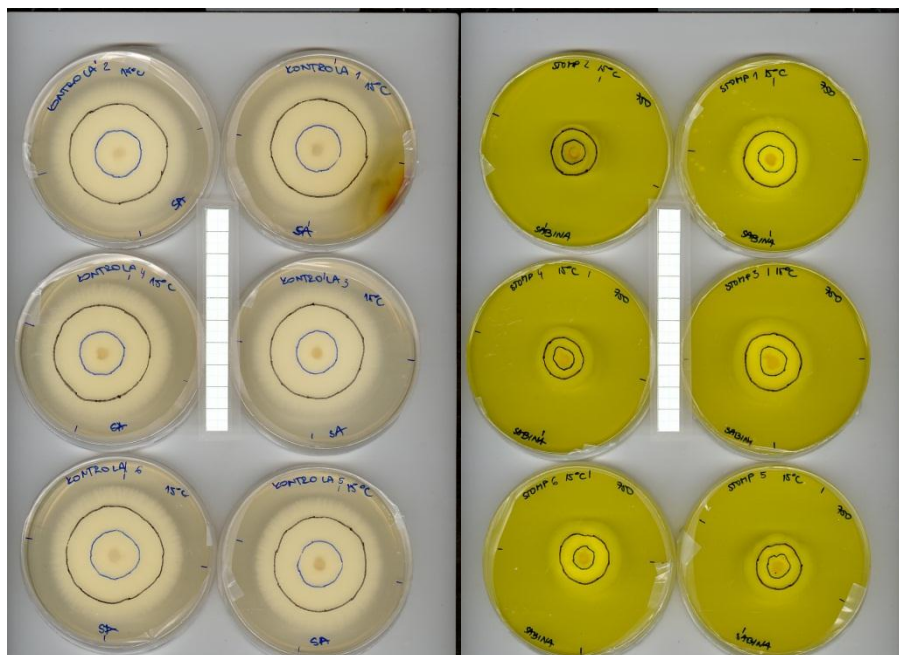


Slika 4: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7- in 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp, pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka (male po 7-dneh, velike po 14-dneh).



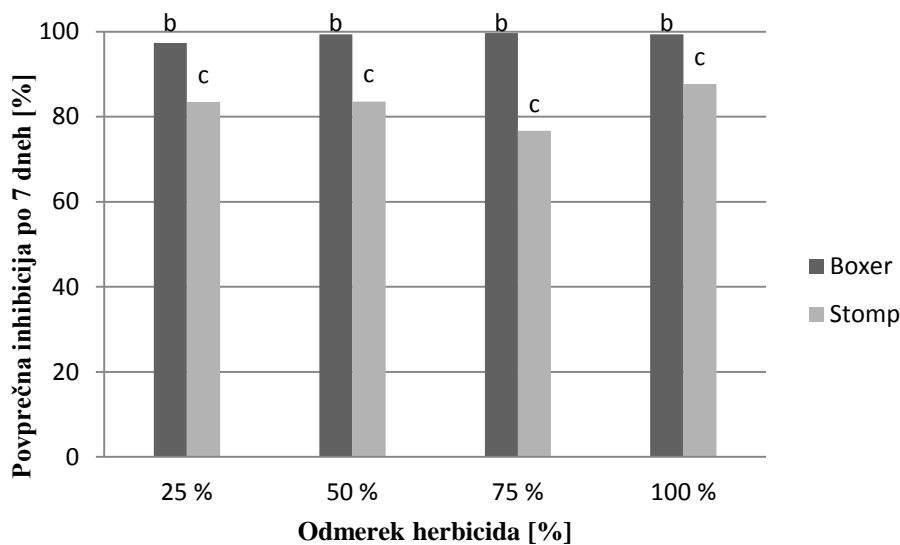
Slika 5: Primerjava prirasta micelija glive *Beauveria bassiana* v petrijevkah brez dodanega prosulfokarba (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom prosulfokarba (desno) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.

Pri herbicidu Stomp 400SC (pendimetalin) je bila inhibicija rasti micelija nekoliko manjša, predvsem po 14-dneh pri temperaturi 15 °C (slika 4). Meritve opravljene po 7-dneh rasti glive so pokazale, da ni statistično značilnih razlik med inhibicijo med posameznimi odmerki. Ne glede na odmerek herbicida (25 %, 50 %, 75 % in 100 %) je bila inhibicija tako velika, da se je pripravek Stomp uvrstil v četrti razred škodljivosti. Pri 25-odstotnem odmerku je bila inhibicija 83,48 %, pri 50-odstotnem 83,57 %, pri 75-odstotnem 76,67 % in pri 100-odstotnem odmerku 87,71 %. Po štirinajstih dneh rasti glive *B. bassiana*, pa so se pokazale statistično značilne razlike med inhibicijami glede na dodani odmerek herbicida. Statistično značilne razlike med prirastom micelija so bile pri 25-odstotnem in 50-odstotnem odmerku herbicida v primerjavi z 75-odstotnim in 100-odstotnim odmerkom herbicida. Inhibicija pri 25-odstotnih priporočenega poljskega odmerka je znašala 61,21%, za 50-odstotni odmerek pa 66,93 %, kar po stopnji škodljivosti pomeni, da sta oba odmerka zmerno škodljiva. Inhibicija za 75-odstotni odmerek je bila 77,29 %, za 100-odstotni odmerek pa 76,67 %, kar pomeni, da sta ti dve koncentraciji herbicida škodljivi in s tem neprimerni za sočasno uporabo z glivo *B. bassiana*.



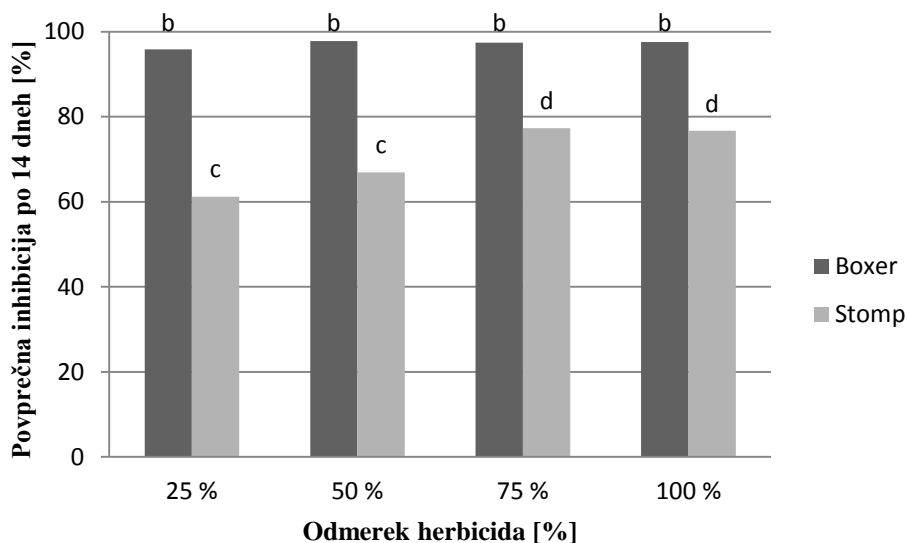
Slika 6: Primerjava prirasta micelija glive *Beauveria bassiana* v petrijevkah brez dodanega pendimetalina (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom pendimetalina (desno) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.

V spodnjih dveh grafih (slika 7 in 8) imamo prikazano primerjavo med obema uporabljenima pripravkoma Boxer in Stomp. Slika 7 prikazuje povprečno inhibicijo rasti glive *B. bassiana* po 7-dneh rasti pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni r.z.v. glede na uporabljeni odmerek posameznega herbicida, ki je znašal od 25 % pa do 100 % priporočenega poljskega odmerka. Pripravek Stomp deluje nekoliko manj inhibitorno od pripravka Boxer, obstajajo tudi statistično značilne razlike med obema pripravkoma. Znotraj posameznega pripravka pa statistično značilnih razlik ni, kar pomeni, da nobeden izmed uporabljenih odmerkov pripravka Stomp ali Boxer ni primeren za sočasno uporabo z entomopatogeno glivo *B. bassiana*. To prikazujejo tudi črke nad stolpci v grafu.



Slika 7: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega herbicida.

Slika 8 prikazuje povprečno inhibicijo rasti glive *B. bassiana* po 14-dneh rasti pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni r.z.v. glede na uporabljeni odmerek posameznega herbicida. Tudi po 14-dneh pripravek Stomp deluje nekoliko manj inhibitorno in obstajajo statistično značilne razlike med obema pripravkoma. Prav tako pa obstajajo statistično značilne razlike znotraj pripravka Stomp, kar prikazujejo različne črke nad stolpci (c in d).



Slika 8: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 15 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka.

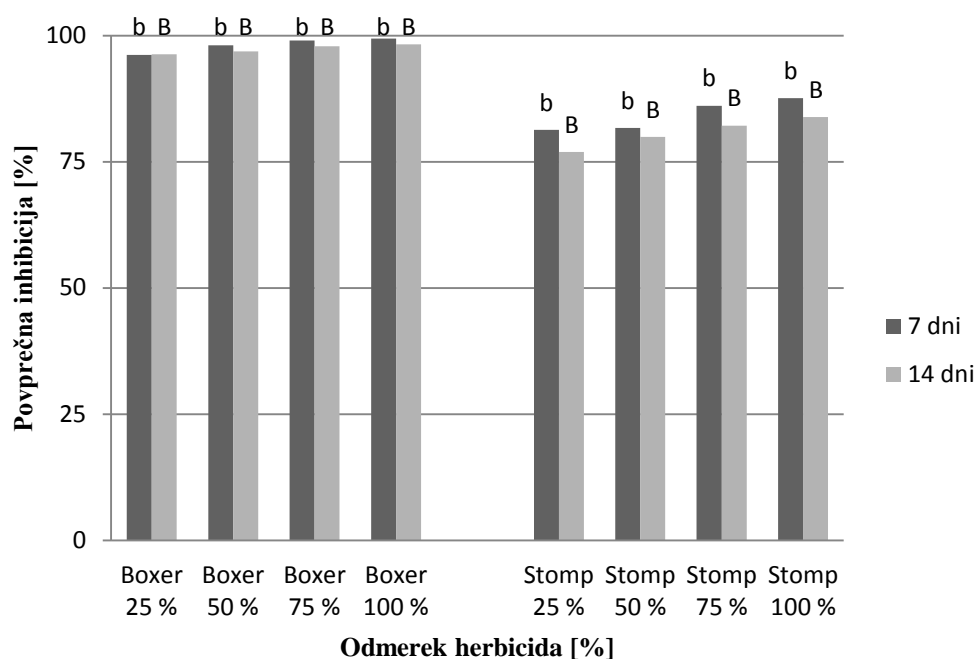
Preglednica 3: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. Bassiana* pri pripravkih Boxer in Stomp, v različnih odmerkih po 7- in 14-dneh pri temperaturi 25 °C v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem

Pripravek	Odmerek [%]	Povprečna inhibicija po 7-dneh [%]	Stopnja škodljivosti*	Povprečna inhibicija po 14-dneh [%]	Stopnja škodljivosti*
Boxer	25	96,19	4	96,28	4
	50	98,08	4	96,83	4
	75	99,02	4	97,89	4
	100	99,42	4	98,24	4
Stomp 400SC	25	81,29	4	76,92	4
	50	81,69	4	79,93	4
	75	86,10	4	82,17	4
	100	87,57	4	83,85	4

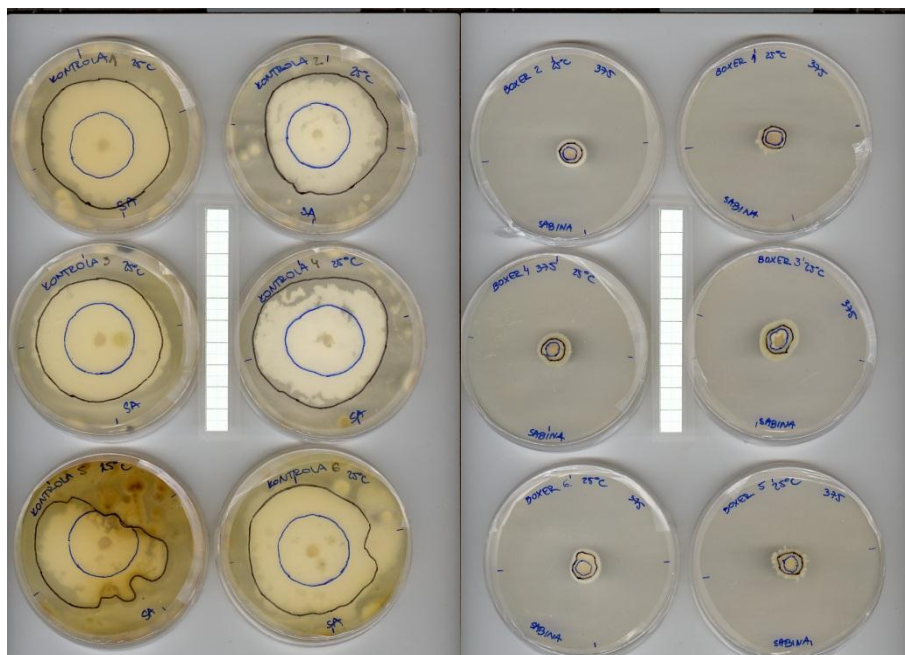
1 = neškodljiv (< 25-odstotna inhibicija rasti), 2 = rahlo škodljiv (25 – 50 %), 3 = zmerno škodljiv (51 – 75 %), 4 = škodljiv (> 75 %) (Sterk in sod., 2003)

V preglednici 3 so zbrani podatki o povprečni stopnji inhibicije rasti micelija glive po 7- in 14-dneh pri temperaturi 25 °C. Tudi pri višji temperaturi oba pripravka, tako Boxer kot

tudi Stomp delujeta zelo inhibitorno na rast micelija glive. Inhibicija rasti glive je pri pripravku Boxer (prosulfokarb), ne glede na uporabljen odmerek zelo velika. Pri 25-odstotnem odmerku znaša že kar 96,19 %, pri 50 % je malenkost večja in sicer 98,08 %, pri 75-odstotnem odmerku naraste na 99,02 % in pri 100-odstotnem odmerku na 99,42 %. Stopnja inhibicije za vse štiri odmerke uvršča pripravek v 4. razred škodljivosti po lestvici Sterk in sod. (2003). Po 14-dneh se je inhibicija večinoma nekoliko zmanjšala, kar je razvidno iz slike 8. Do večjih sprememb pri stopnji škodljivosti kljub temu ni prišlo, saj je herbicid Boxer še vedno uvrščen v četrti, najvišji razred. Pri 25-odstotnem priporočenem poljskem odmerku je bila inhibicija 96,28 %, pri 50-odstotnem odmerku 96,83 %, pri 75-odstotnem odmerku 97,89 % in pri 100-odstotnem odmerku 98,24 %.

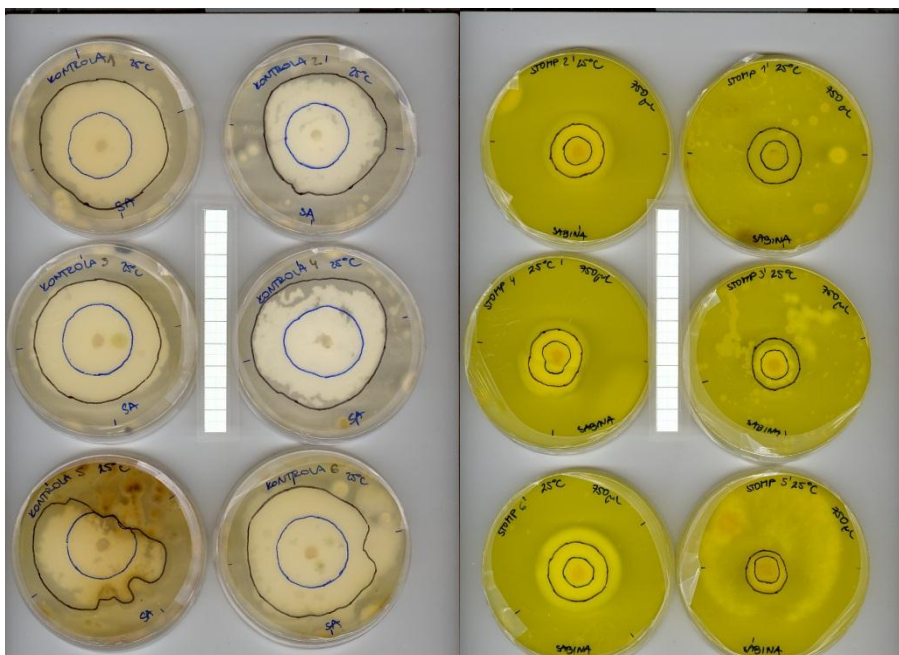


Slika 9: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7- in 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp, pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija po istem času rasti micelija glive in različnih koncentracijah dodanega herbicida, znotraj enega pripravka (male po 7-dneh, velike po 14-dneh).



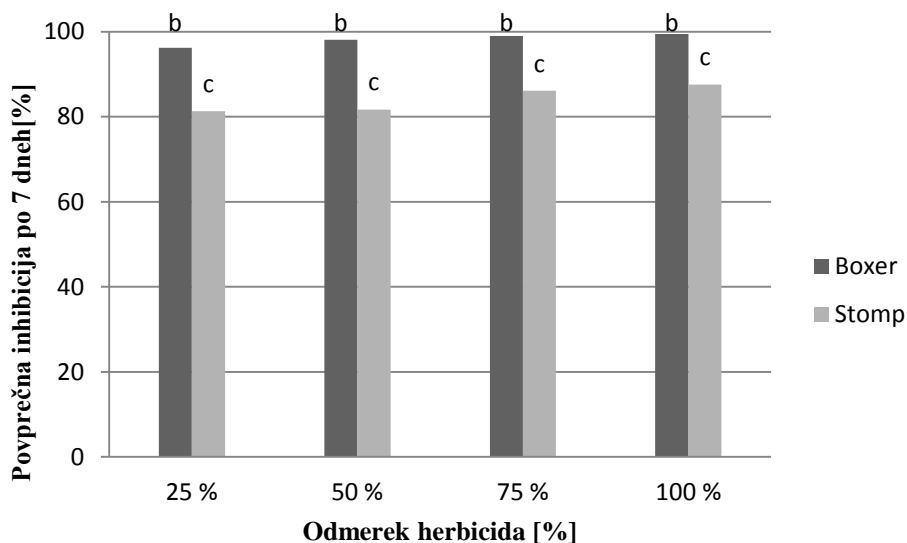
Slika 10: Primerjava prirasta micelija glive *Beauveria bassiana* v petrijevkah brez dodanega prosulfokarba (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom prosulfokarba (desno) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.

Tudi pripravek Stomp (slika 9) zelo zavira rast glive, vendar je povprečna inhibicija nekoliko manjša kot pri Boxerju. Po 7-dneh je inhibicija pri 25-odstotnem odmerku pripravka znašala 81,29 %, pri 50 % odmerka 81,69 % in pri 75 % odmerka 86,10 %. Pri 100-odstotnem odmerku pripravka je znašala že 87,57 %. Dobljeni odstotki inhibicije rasti micelija glive nam povedo, da pripravek Stomp, ne glede na odmerek, močno zavira rast micelija (4. razred – škodljiv). Po 14-dneh rasti glive *B. bassiana* so bili rezultati sledeči: pri 25-odstotnem odmerku herbicida je bil odstotek inhibicije 76,92 %, pri 50-odstotnem odmerku 79,93 %, pri 75-odstotnem odmerku 82,17 % in pri 100-odstotnem priporočenem poljskem odmerku 83,85 %. Pri vseh odmerkih je bil herbicid uvrščen v 4., najvišji razred škodljivosti.

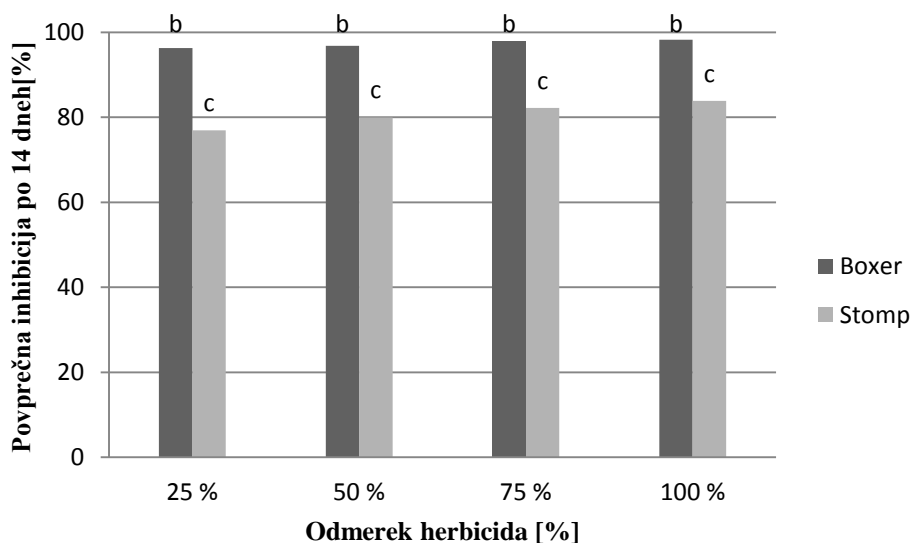


Slika 11: Primerjava prirasta micelija glive *Beauveria bassiana* v petrijevkah brez dodanega pendimetalina (levo) in v petrijevkah z dodanim 75-odstotnim poljskim odmerkom pendimetalina (desno) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi.

Oba uporabljena pripravka smo primerjali tudi pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni r.z.v., tako po sedmih kot tudi po štirinajstih dneh. Rezultati so bili podobni kot pri nižji temperaturi. Pri obeh primerjavah je iz spodnjih dveh grafov (slika 12 in 13) razvidno, da statistično značilni razlik znotraj posameznega pripravka, ne glede na trajanje rasti ni. Obstajajo pa statistično značilne razlike med uporabljenima herbicidoma.

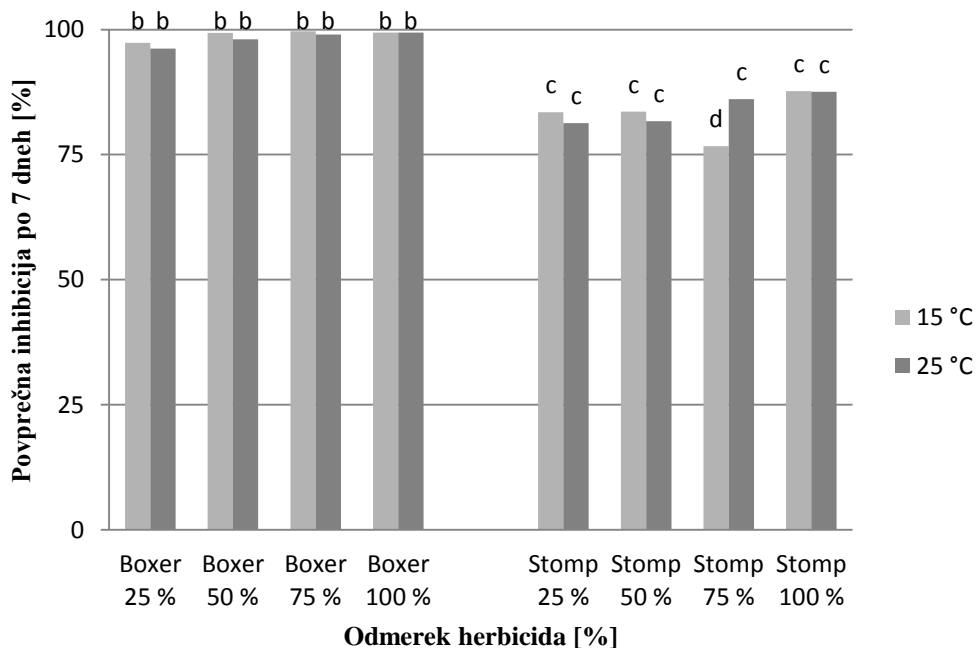


Slika 12: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka.

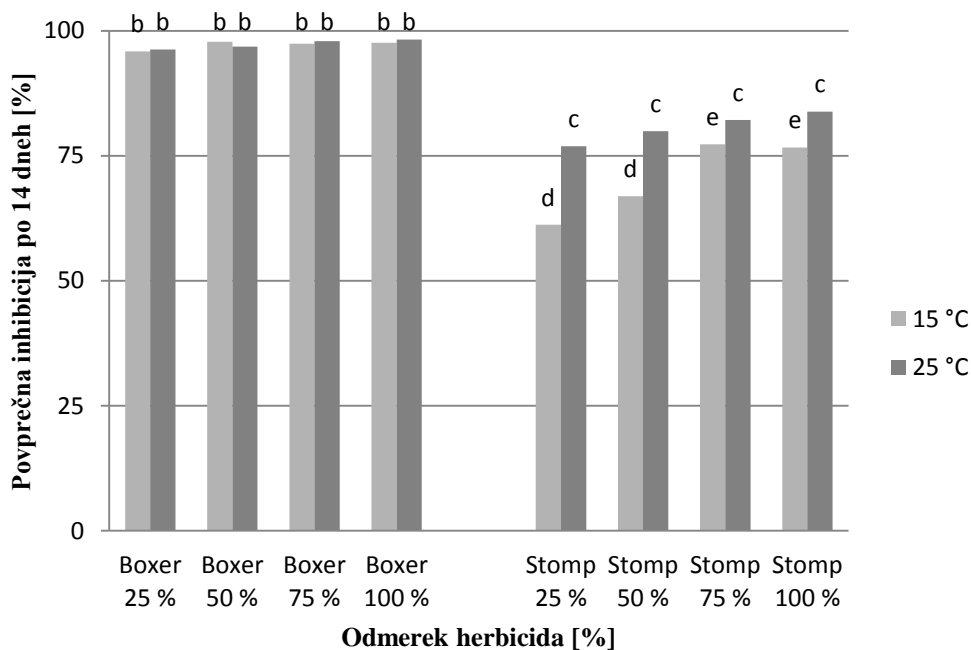


Slika 13: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida (Boxer oziroma Stomp) pri temperaturi 25 °C in 60-odstotni relativni zračni vlagi. Črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med dvema pripravkoma pri enakem odmerku in med različnimi odmerki istega pripravka.

Grafično smo podatke obdelali tudi po obeh temperaturah, tako da smo dobili primerjavo med stopnjo inhibicije rasti micelija glive *B. bassiana* in uporabljenim odmerkom herbicida (Boxer in Stomp) glede na temperaturo pri kateri smo glivo gojili. Rezultati so prikazani v spodnjih grafih (slika 14 in 15).



Slika 14: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 7-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp pri dveh različnih temperaturah, 15 °C in 25 °C ter 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med različnimi temperaturama pri enakem odmerku in med različnimi odmerki herbicida pri enaki temperaturi.



Slika 15: Povprečna inhibicija rasti micelija glive *B. bassiana* po 14-dneh glede na uporabljeni odmerek herbicida Boxer in Stomp pri dveh različnih temperaturah, 15 °C in 25 °C ter 60-odstotni relativni zračni vlagi. Različne črke nad stolpci prikazujejo statistično značilne razlike v prirastu micelija med različnimi temperaturama pri enakem odmerku in med različnimi odmerki herbicida pri enaki temperaturi.

Iz zgornjih dveh grafov (slika 14 in 15) je razvidno, da na stopnjo inhibicije rasti glive *B. bassiana*, pri aktivni snovi prosulfokarb (Boxer), nima bistvenega vpliva niti temperatura, pri kateri gojimo glivo, niti čas rasti glive. Rezultati inhibicije so bili zelo podobni in brez večjih odstopanj pri obeh temperaturah (15 °C in 25 °C) tako po sedmih kot štirinajstih dneh.

Nekoliko večji vpliv na rast in razvoj glive ima temperatura in čas rasti pri aktivni snovi pendimetalin (Stomp), vendar tudi tu ni nekih bistvenih odstopanj, ki bi pripomogle k temu, da bi pripravek lahko potrdili kot primeren za souporabo z glivo *B. bassiana*.

Dobljeni rezultati kažejo na to, da statistično značilnih razlik znotraj pripravkov Boxer in Stomp skorajda ni. Statistično značilne razlike so se pokazale le pri pripravku Stomp, po 14-dneh rasti glive *B. bassiana*, pri temperaturi 15 °C. Obstajajo pa statistično značilne razlike med obema pripravkoma, pri obeh temperaturah (15 °C in 25 °C) in pri obeh dolžinah rasti (7 oziroma 14 dni).

Herbicidi so pogosto uporabljene kemikalije za varstvo rastlin, ki imajo lahko pozitivne ali negativne vplive na neciljne organizme, kot so talne glive in bakterije (Wardle in Parkinson, 1992). Tla so tista kjer poteka del življenjskega cikla mnogih entomopatogenih gliv. Študije so pokazale, da je pravilna izbira in umeščanje pesticidov nujna za omejitev njihovih škodljivih učinkov na entomopatogene glive (Storey in McCoy, 1992).

V raziskavi, ki sta jo opravila Harrison in Gardner (1992) je bil raziskan vpliv šestih herbicidov na rast in razvoj glive *Beauveria bassiana*. Preučevala sta vpliv naslednjih herbicidov: parakvat, diuron, simazin, glifosat, terbacil in norflurazon. Ugotovila sta, da komercialna oblika diurona, norflurazona, parakvata, simazina in terbacila očitno inhibira rast inokuluma glive v tleh.

Že Gardner in Storey (1985) sta z *in vitro* testi potrdila, da dvajset od enaindvajsetih herbicidov pri glivi *Beauveria bassiana* ovira kalitev konidijev ali rast micelija ali pa oboje. Ugotovila sta, da komercialne oblike herbicidov diurona, simazina, in terbacila inhibirajo kalitev glive *B. bassiana*, vendar nimajo večjega vpliva na rast micelija *in vitro*. Ti herbicidi so imeli fungistatični učinek na glivo *B. bassiana*.

Tudi Poprawski in Majchrowicz (1995) sta raziskavala učinke metolaklora na entomopatogeno glivo *B. bassiana* in ugotovila, da aktivna snov deluje na glivo fungistatično. To sta z podobnim herbicidom dokazala tudi Celar in Kos (2012a), ki sta preizkušala učinek S-metolaklora in ugotovila, da tudi ta zavira rast micelija glive *B. bassiana* (93 %). V obeh raziskavah sta bila uporabljena podobna herbicida, koncentracije ki so bile uporabljene, pa so bile v drugi raziskavi nekoliko manjše.

Celar in Kos (2012b) sta preučevala učinek šestih herbicidov (amidosulforon, dikamba, metribuzin, piridat, S-metaklor in tembotrion) na rast micelija entomopatogene glive *B. bassiana*. V gojišča sta dodala različne koncentracije herbicidov (0 % - 100 %) ter opazovala rast glive. Ugotovila sta, da ima vseh šest herbicidov različno intenziven fungistatični učinek, ki je odvisen od herbicida kot tudi od odmerka.

V raziskavah Todorove in sod. (1998) so rezultati pokazali, da agrokemikalije na splošno bistveno vplivajo na rast micelija in sporulacijo glive *B. bassiana in vitro*. Vseh šest preizkušenih fungicidov (klortalonil, maneb, tiofaant-metil, mankozeb, metalaksil+mankozeb in cineb) je zmanjšalo rast micelija v tekoči kulturi in na trdnem

gojišču tvorbo konidijev glive *B. bassiana*. Klortalonil, mankozeb, maneb in cineb so fungicidi s širokim spektrom delovanja, saj se uporabljajo za zatiranje številnih glivičnih bolezni in zato se je tudi pričakovalo, da bodo zavirali rast glive *B. bassiana*.

Zaviranje rasti micelija ni nujno pokazatelj zmanjšanja sporulacije ali preživetja konidijev in obratno (Zimmermann, 1975).

V eni izmed raziskav so Morjan in sod. (2002) ugotovili, da na fungicidno delovanje pripravkom, poleg aktivne snovi vpliva tudi formulacija pripravka, kar pomeni, da rezultatov raziskav za pripravek z neko aktivno snovjo ne moremo upoštevati pri vseh pripravkih s to aktivno snovjo.

5 POVZETEK IN SKLEPI

Biotično varstvo ali biotično zatiranje rastlinam škodljivih organizmov je način, ki uporablja žive koristne organizme (parazitoide, entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive, itd.) za obvladovanje populacij škodljivih organizmov, tem zmanjšujejo škodo, ki bi jo povzročili.

Izpopolnjevanje znanja s področja biotičnega zatiranja škodljivcev je vse bolj pomembno, še posebej na območjih, kjer je uporaba fitofarmaceutskih sredstev omejena (npr. razvoj odpornosti škodljivih organizmov na FFS) ali prepovedana, na primer vodovarstvena območja. V ta namen se razvijajo FFS na podlagi biotičnih agensov, med njimi tudi glive *Beauveria bassiana*, ki so uporabni proti več različnim vrstam škodljivcev, med drugim tudi proti hroščem, listnim ušem, ličinkam metuljev, strunam in drugim.

V diplomskem delu so predstavljeni rezultati naših raziskav na dveh herbicidih, ki se običajno uporabljata v slovenski rastlinski pridelavi. Preučevali smo vpliv dveh talnih herbicidov, Boxer z aktivno snovjo prosulfokarb in Stomp 400 SC z aktivno snovjo pendimetalin, na rast micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana*. Poskus je potekal v laboratoriju, kjer smo pripravili PDA gojišče, v katerega smo dodali različne deleže (%) priporočenega poljskega odmerka posameznega herbicida. Vsak herbicid je bil dodan v petih koncentracijah in sicer 0, 25, 50, 75, 100 %, v šestih ponovitvah. Na gojišča smo nato nacepili glivo *B. bassiana*, ter vse skupaj gojili pri dveh temperaturah, 15 in 25 °C. Po 7-ter 14-dneh smo ugotavljali prirast micelija, z občrtavanjem zunanje roba posameznega micelija. Nato smo po 14-dneh s pomočjo čitalca posneli sliko vseh obravnavanj in jih obdelali s pomočjo računalniškega programa Nikon NIS Elements BR 2.30, ki nam je podal površino micelija glive po 7- in 14-dneh. Dobljene rezultate smo nato obdelali še statistično s programom Statgraphics Plus; Student – Newman – Keuls testa pri 5-odstotnem tveganju. Z rezultati, ki smo jih dobili, smo izračunali še odstotek inhibicije rasti micelija v primerjavi s kontrolnim obravnavanjem.

Oba uporabljena herbicida, tako Boxer (prosulfokarb) kot tudi Stomp 400 SC (pendimetalin) zelo zavirata rast entomopatogene glive *Beauveria bassiana*, saj je bila inhibicija ne glede na temperaturo in odmerke herbicidov nad 60 %, kar po stopnji škodljivosti pomeni zmerno škodljiv oziroma škodljiv. Na inhibicijo v večji meri ne vpliva niti temperatura (15 °C in 25 °C), niti čas gojenja glive.

Prosulfokarb ima zelo inhibitoren vpliv na rast micelija glive ne glede na dodan odmerek pripravka, ki je bil od 25 % do 100 % priporočenega poljskega odmerka. Na zaviralni učinek herbicida ni vplivala niti temperatura, saj je bil odstotek inhibicije velik (nad 95 %) ne glede na to ali smo imeli gojišča z glivo pri temperaturi 15 °C ali 25 °C. Prav v vseh primerih je bil odstotek inhibicije od 95 do 99,64 %.

Pendimetalin nekoliko manj zavira rast micelija glive kot prosulfokarb, vendar je odstotek inhibicije še vedno v večini primerov tako velik, da je po stopnji škodljivosti uvrščen v 4. razred, izjemi sta le dve koncentraciji in sicer, 25 % in 50 % priporočenega poljskega odmerka pri temperaturi 15 °C. Vendar sta tudi ta dva odstotka inhibicije večja od 60 %, kar po stopnji škodljivosti pomeni zmerno škodljiv (3. razred). Rast micelija glive je pri uporabi pendimetalina zavirana v območju od 60 do 88 %.

Laboratorijska raziskava je pokazala, da oba uporabljena herbicida, tako Boxer (prosulfokarb) kot tudi Stomp 400 SC (pendimetalin) močno zavirata rast micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana*, saj je bila dokazana inhibicija rasti, ne glede na temperaturo (15 °C in 25 °C), nad 60 %, kar ju uvršča po škodljivosti v razreda zmerno škodljiv oziroma škodljiv. Temperatura v večji meri ne vpliva na inhibicijo.

Med obema pripravkoma v stopnji inhibicije rasti micelija obstajajo statistično značilne razlike, ki potrjujejo, da ima, ne glede na temperaturo (15 °C in 25 °C), pripravek Boxer (prosulfokarb) bolj inhibitorni učinek na rast glive *Beauveria bassiana* kot pripravek Stomp 400 SC (pendimetalin).

Da bi lahko dobljene laboratorijske rezultate potrdili, jih moramo izvesti tudi v naravnih razmerah na polju, saj moramo vedeti, da razmer v laboratoriju ne moremo primerjati kaj šele enačiti z zunanjimi, naravnimi razmerami, ki bi botrovale poljskemu poskusu. Šele s poljskim poskusom bi lahko laboratorijske rezultate dokončno potrdili ali zavrnili.

6 VIRI

Alan Wood's Web site 1996.

<http://www.alanwood.net> (27.12.2012)

Ambethgar V., Swamiappan M., Rabindra R. J., Rabindran R. 2009. Influence of some herbicides on in vitro vegetative growth of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Resistant Pest Management Newsletter, 19: 13-16

Barbosa P. 1998. Conservation biological control. San Diego, Academic Press: 396 str.

Batič F., Šircelj H., Turk B. 2004. Pregled rastlinskega sistema. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
http://web.bf.uni-lj.si/ag/botanika/gradiva/AGR_ZOO_VET_Pregled%20sistema_Skripta.pdf
(23.01.2013)

Benz G. 1987. Environment. V: Epizootiology of insect diseases. Fuxa R., Tanada J. (eds.). New York, Wiley: 177-214

Boucias D. G., Penland J. C., Latge J. P. 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. Applied and Environmental Microbiology, 54, 7: 1795-1805

Boucias D. G., Penland J. C. 1991. Attachment of mycopathogens to cuticle. V: The initial event of mycoses in arthropod hosts. The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Cole G. T., Hoch H. C. (eds.). New York, Plenum Press: 101-127

Celar F., Sekne Š., Mesec D., Kos K. 2011. Učinek herbicidov in fungicidov na rast micelija entomopatogene glive *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.). V: Zbornik predavanj in referatov 10. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Podčetrtek, 1.-2. Marec 2011. Maček J., Trdan S. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin: 171-175

Celar F., Kos K. 2012a. Compatibility of selected herbicides with entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Acta agriculturae Slovenica, 99, 1: 57-63

Celar F., Kos K. 2012b. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. to selected herbicides. Pest Management Science (v tisku).
<http://dx.doi.org/10.1002/ps.3427> (3.12.2012)

Feng M. G., Chen C., Chen B. 2004. Wide dispersal of aphid-pathogenic Entomophthorales among aphids relies upon migratory alates. Environmental Microbiology, 6: 510-516

FITO – INFO – Slovenski informacijski sistem za varstvo rastlin.

<http://www.fito-info.si/> (30.11.2012)

Gardner W. A., Storey G. K. 1985. Sensitivity of *Beauveria bassiana* to selected herbicides. Journal of Economic Entomology, 78: 1275–1279

Groden E. 1999. Using *Beauveria bassiana* for insect management. New England vegetable and berry growers conference and trade show, Sturbridge, MA: 313-315
<http://www.hort.uconn.edu/ipm/general/htms/bassiana.htm> (21.12.2012)

- Hajek A. E. 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. *Advances in Microbial Ecology*, 15: 193-249
- Harrison D. R., Gardner A. W. 1992. Fungistasis of *Beauveria bassiana* by selected herbicides in soil. *Journal of entomological science*, 27 (3): 233-238
- Index Fungorum 2008.
<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=7346> (23.01.2013)
- Inglis G. D., Goettel M. S., Butt T. M., Strasser H. 2001. Use of hyphomycetous fungi for Managing Insect Pests. V: *Fungi as Biocontrol Agents – Progress, Problems and Potential*. Butt T. M., Jackson C. W., Magan N. (eds.). Walingford, CABI Publishing: 23-69
- Karsia 2007.
<http://www.karsia.si/html/dom.php> (5.12.2012)
- Keller S. 1991. Les maladies fongiques des ravageur et leur importance pratique. *Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture*, 23: 299-310
- Lacey L.A., Frutos R., Kaya H.K., Vail P. 2001. Insect pathogens as Biological control agents: Do they have a future? *Biological Control*, 21: 230-248
- Lešnik M. 2007. Tehnika in ekologija zatiranja plevelov. Ljubljana, Kmečki glas: 243 str.
- Likar M. 1987. Mikrobiologija. Ljubljana, Cankarjeva založba: 390 str.
- Luz B., Bastos N., Nunes R. 2007. In vitro susceptibility to fungicides by invertebrate-pathogenic and saprobic fungi. *Mycopathologia*, 164: 39-47
- Maček J., Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Ljubljana, Kmečki glas: 500 str.
- Mahr S. 1997. The Entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Midwest Biological Control News (MBCN online)*, 4, 10
<http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf410.html> (19.11.2012)
- Mavsar S., Knapič V. 2007. Ureditev biotičnega varstva rastlin v Sloveniji. V: *Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. Marec 2007*
<http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/> (19.12.2012)
- Meyling N. V., Eilenberg J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium ansipoliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43: 145-155
- Morjan W. E., Pedigo L. P., Levis L. C. 2002. Fungicidal effects glyphosate and glyphosate formulations on four species of entomological fungi. *Environmental Entomology*, 31, 6: 1206-1212
- Poprawski T. J., Majchrowicz I. 1995. Effects of herbicides on in vitro vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. *Crop Protection*, 14: 81-87
- PPDB – Pesticide properties data base. University of Hertforshire.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/> (22.11.2012)

Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin. Ur. l. RS, št. 45/06

<http://www.uradni-list.si/1/content?id=73135#!Pravilnik-o-bioticnem-varstvu-rastlin>
(19.12.2012)

Qin Y., Ying S. H., Chen Y., Shen Z. C., Feng M. G. 2010. Integration of insecticidal protein Vip3Aa1 into *Beauveria bassiana* enhances fungal virulence to *Spodoptera litura* larvae by cuticle and per Os infection. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 4611–4618

Steinhaus E. A. 1956. Microbial control-the emergence of an idea: A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *Hilgardia*, 26: 107–160

http://cordyceps.us/files/Steinhaus_1956_Microbial_control.pdf (25.11.2012)

Sterk G., Hassan S. A., Baillood M., Bakker F., Bigler F., Blumel S., Bogenschutz H., Boller E., Bromand B., Brun J., Calis J. N. M., Coremans-Pelseneer J., Duso C., Garrido A., Grove A., Heimbach U., Hokkanen H., Jacas J., Lewis G., Moreth L., Polgar L., Roversti L., Samsøe-Peterson L., Sauphanor B., Schaub L., Staubli A., Tuset J. J., Vainio A., Van de Veire M., Viggiani G., Vinuela E., Vogt H. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *BioControl*, 44, 1: 99-117

Sterk G., Heuts F., Merck N., Bock J. 2003. Sensitivity of non-target arthropods and beneficial plant protection products: Results of laboratory and semi-field trials. V: 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, 14-18 januar 2002, USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team: 306-313

Storey G. K., McCoy C. W. 1992. Potential for biological control of soil insects using microbial pesticides in the Caribbean. *Florida Entomologist*, 785: 533-539

Syngenta.

http://www.syngenta.com/country/si/sl/Syngenta_programi/varstvorastlin/Proizvodi/Herbicidi/Pages/Boxer.aspx (28.12.2012)

Todorova S. I., Coderre D., Duchesne R.-M., Côte J.-C. 1998. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. *Environmental Microbiology*, 27: 427-433

Wardle D. A., Parkinson D. 1992. The influence of the herbicide glyphosate on interspecific interactions between four soil fungal species. *Mycological Research*, 96: 180-186

Zakon o fitofarmaceutskih sredstvih. Ur. l. RS, št. 35/07

<http://www.uradni-list.si/1/content?id=79798> (10.12.2012)

Zimmermann G. 1975. Über die Wirkung systemischer Fungizide auf verschiedene insektenpathogene Fungi imperfecti in vitro. *Nachrichtenbl Deutsch Pflanzenschutzdienst*, 27: 113-117

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Franciju Aco Celarju za strokovno vodstvo pri izdelavi diplomske naloge. Najlepša hvala za vso pomoč v laboratoriju, zbiranju literature ter temeljito popraviljanje diplomske naloge.

Zahvaljujem se asistentki Katarini Kos za vso pomoč v laboratoriju, pri statistični obdelavi podatkov ter pomoč pri iskanju literature.

Najlepša hvala članici komisije doc. dr. Darji Kocjan Ačko in predsedniku komisije prof. dr. Francu Batiču za hiter in temeljit končni pregled diplomske naloge.

Posebna zahvala gre mojim domačim, ki so mi v vseh teh letih stali ob strani in mi omogočili študij. Zahvaljujem se jim za vso potrpežljivost in spodbudo ob pisanju diplomske naloge.

Iskrena hvala tebi, dragi Grega, da si bil ves čas ob meni in me podpiral.

Zahvaljujem se tudi vsem ostalim, ki ste mi kakorkoli pomagali v času študija ter pri oblikovanju in urejanju diplomske naloge.