

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nika BAJC

**PREUČEVANJE ZDRUŽLJIVOSTI  
ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida:  
Steinernematidae in Heterorhabditidae) IN  
HERBICIDOV V LABORATORIJSKIH RAZMERAH**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nika BAJC

**PREUČEVANJE ZDRUŽLJIVOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC  
(Rhabditida: Steinernematidae in Heterorhabditidae) IN HERBICIDOV V  
LABORATORIJSKIH RAZMERAH**

MAGISTRSKO DELO  
Magistrski študij - 2. stopnja

**RESEARCH ON COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC  
NEMATODES (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae)  
AND HERBICIDES UNDER LABORATORY CONDITIONS**

M. SC. THESIS  
Master Study Programmes

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje smeri agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja magistrskega dela imenovala doc. dr. Žiga LAZNIKA.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Zlata LUTHAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Žiga LAZNIK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: dr. Gregor UREK  
Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu prek Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Nika BAJC

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 632.651:632.937:632.954.024(043.2)
KG	entomopatogene ogorčice/herbicidi/združljivost/smrtnost/laboratorijske razmere
AV	BAJC, Nika
SA	LAZNIK, Žiga (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2016
IN	PREUČEVANJE ZDRUŽLJIVOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida: Steinernematidae in Heterorhabditidae) IN HERBICIDOV V LABORATORIJSKIH RAZMERAH
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
OP	X, 42 str., 4 pregl., 9 sl., 34 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
Al	Z željo po razširitvi znanja o združljivosti entomopatogenih ogorčic (EO) s fitofarmacevtskimi sredstvi (FFS), smo preučili združljivost infektivnih ličink (IL) EO z osmimi herbicidi v laboratorijskih razmerah. Učinki, ki jih je imel posamezen herbicid na IL so bili preučeni v petrijevkah pri 15, 20 in 25 °C, čas izpostavljenosti posameznemu herbicidu pa je bil 1, 4 in 24 ur. Raziskava je pokazala, da je bila vrsta <i>S. kraussei</i> najbolj tolerantna med vsemi preučevanimi vrstami EO. Nasprotno pa je bila vrsta <i>S. carposcae</i> najbolj občutljiva na delovanje herbicidov. Največji odstotek preživelih IL je bil pri 15 °C (81 %). Največ IL je poginilo v kombinaciji z aktivno snovjo (a.s.) oksifluorfen (53 %). A.s. 2,4-D ni imela učinka na preživetje IL vrste <i>S. feltiae</i> pri 25 °C pri vseh treh vzorčnih časih. A.s. dikvat dibromid ni imela nikakršnega vpliva na IL vrste <i>S. kraussei</i> pri 15 °C in pri vseh treh vzorčnih časih. Raziskava je pokazala, da herbicidi negativno vplivajo na preživetje EO. Rezultati so pokazali tudi, da združljivost ni le vrstno specifična ampak tudi rasno specifična lastnost. Na preživetje IL vplivata tudi čas izpostavljenosti a.s. in temperatura. Kombinacije EO in herbicida bi lahko prihranile čas in denar pri hkratnem obvladovanju škodljivcev in plevelov.

#### KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2  
DC UDC 632.651:632.937:632.954024(043.2)  
CX entomopathogenic nematodes/herbicides/ compatibility/ mortality/laboratory conditions  
AU BAJC, Nika  
AA LAZNIK, Žiga (supervisor)  
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy  
PY 2016  
TY RESEARCH ON COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES  
(Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) AND HERBICIDES UNDER  
LABORATORY CONDITIONS  
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)  
NO X, 42 p., 4 tab., 9 fig., 34 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB In order to increase our knowledge on the susceptibility of entomopathogenic nematode (EPN) species to agrochemicals, the compatibility of the infective juveniles (IJs) of the EPN (*Steinernema* and *Heterorhabditis*) with eight chemical herbicides was investigated under laboratory conditions. The effect of direct IJ exposure to herbicides for 1, 4 and 24 h was tested in a Petri dish at 15, 20, and 25 °C. The study showed that *S. kraussei* proved to be the most tolerant among tested EPN species. The species *S. carposcapsae* was the most sensitive to all tested herbicides. The percentage of IJs that survived was statistically the highest after 15 °C (81 %). The largest percentage of IJs died in active ingredient oxyfluorfen (53 %). An active ingredient 2,4-D had no effect on *S. feltiae* survival at 25 °C at all times of exposure tested in our investigation. Statistical analyses showed that active ingredient diquat dibromide have no effect on *S. kraussei* survival at 15 °C at all times of exposure. Our investigation showed, that herbicides negatively affect nematode survival. The results confirmed the fact that the compatibility is not only species but also strain specific characteristic, influenced with temperature and time of the exposure. The combination could offer a cost-effective and time saving alternative to pest-weed control.

## KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION .....	IV
KAZALO VSEBINE .....	V
KAZALO PREGLEDNIC .....	VIII
KAZALO SLIK .....	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI .....	X
<b>1        UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1    POVOD ZA DELO .....	1
1.2    CILJI RAZISKAVE .....	1
1.3    DELOVNA HIPOTEZA .....	2
<b>2        PREGLED DOSEDANJIH OBJAV .....</b>	<b>3</b>
2.1    SPLOŠNO O EO .....	3
<b>2.1.1    Sistematika EO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2    Razvojni krog EO .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.3    Zgodovinski pregled raziskav uporabe EO v Sloveniji .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.4    Uporaba EO za zatiranje nadzemskih škodljivcev .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.5    Neciljno delovanje EO .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.6    Možnosti IVR z EO .....</b>	<b>6</b>
2.2    UČINKOVITOST EO PRI ZATIRANJU TALNIH ŠKODLJIVCEV .....	7
<b>2.2.1    Zatiranje ogrcev .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2    Zatiranje bramorjev .....</b>	<b>9</b>

<b>2.2.3 Zatiranje rilčkarjev.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.4 Zatiranje gosenic .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.5 Zatiranje košeninarjev.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3 EO UPORABLJENE V RAZISKAVI .....</b>	<b>9</b>
<b>2.3.1 <i>Steinernema kraussei</i> (Steiner, 1923) .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.2 <i>Steinernema feltiae</i> (Filipjev, 1943) .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.3 <i>Steinernema carpocapsae</i> (Weiser, 1955).....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.4 <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Poinar, 1976).....</b>	<b>11</b>
<b>2.4 ZDRUŽLJIVOST EO S FFS.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.1 Združljivost s kemičnimi sredstvi.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2 Združljivost EO z mikroorganizmi .....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.3 Združljivost s parazitoidi.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5 HERBICIDI UPORABLJENI V RAZISKAVI .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1 Afalon .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.2 Basta-15 .....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.3 Boom efekt .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5.4 Dicotex .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5.5 Fuego .....</b>	<b>17</b>
<b>2.5.6 Goal.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5.7 Reglone 200 SL .....</b>	<b>19</b>
<b>2.5.8 Sencor SC 600.....</b>	<b>19</b>

<b>3</b>	<b>MATERIALI IN METODE DELA .....</b>	21
3.1	HERBICIDI.....	21
3.2	EO.....	21
3.3	PREIZKUS ZDRUŽLJIVOSTI .....	22
3.4	STATISTIČNA ANALIZA .....	22
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	25
4.1	SPLOŠNA ANALIZA .....	25
4.2	VRSTA <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> .....	29
4.3	VRSTA <i>Steinernema feltiae</i> .....	31
4.4	VRSTA <i>Steinernema carposae</i> .....	33
4.5	VRSTA <i>Steinernema kraussei</i> .....	35
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI .....</b>	36
5.1	RAZPRAVA .....	36
5.2	SKLEPI .....	37
<b>6</b>	<b>POVZETEK.....</b>	38
<b>7</b>	<b>VIRI .....</b>	40
<b>ZAHVALA</b>		

## KAZALO PREGLEDNIC

<b>Preglednica 1:</b> Herbicidi uporabljeni v raziskavi, a.s., % a.s. in odmerki.....	21
<b>Preglednica 2:</b> Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po eno urni izpostavljenosti. ....	26
<b>Preglednica 3:</b> Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po štiriurni izpostavljenosti. ....	27
<b>Preglednica 4:</b> Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po štiriindvajseturni izpostavljenosti. ....	28

## KAZALO SLIK

<b>Slika 1:</b> Infektivne ličinke EO vrste <i>Steinernema feltiae</i> (foto: J. Rupnik) .....	12
<b>Slika 2:</b> Herbicidi uporabljeni v raziskavi (foto: J. Rupnik) .....	20
<b>Slika 3:</b> Nastavitev poskusa (foto: J. Rupnik).....	23
<b>Slika 4:</b> Postavitev vzorcev v gojitveno komoro pri izbrani temperaturi (foto: J. Rupnik) ....	23
<b>Slika 5:</b> Priprava podvzorca v katerem smo šteli preživele IL (foto: J. Rupnik) .....	24
<b>Slika 6:</b> Štetje preživelih IL pod elektronsko lupo (foto: J. Rupnik) .....	24
<b>Slika 7:</b> Korrigirana smrtnost IL EO po eni uri izpostavljenosti herbicidom.. .....	30
<b>Slika 8:</b> Korrigirana smrtnost IL EO po štiri urni izpostavljenosti herbicidom.. .....	32
<b>Slika 9:</b> Korrigirana smrtnost IL EO po štiriindvajsetih urah izpostavljenosti herbicidom.....	34

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

IVR integrirano varstvo rastlin

EO entomopatogene ogorčice

IL infektivne ličinke

FFS fitofarmacevtska sredstva

UV ultravijolično sevanje

a.s. aktivna snov

## 1 UVOD

### 1.1 POVOD ZA DELO

Entomopatogene ogorčice (EO) so znani naravni sovražniki žuželk. Sistematično jih uvrščamo v dve družini: Steinernematidae in Heterorhabditidae. Delujejo kot prenašalci bakterij, ki se nahajajo v njihovih prebavilih. Te bakterije ubijejo gostitelja (žuželke) oziroma ga razgradijo do produktov, ki jih EO lahko uporabi za hrano. EO v gostitelja vstopa skozi njegove naravne odprtine (Laznik in Trdan, 2011). Ker jih lahko nanašamo tudi na območja, ki so bila predhodno že tretirana z različnimi fitofarmacevtskimi sredstvi (FFS), je pomembno vedeti, kako ta sredstva vplivajo na vitalnost različnih vrst EO (Koppenhöfer in Grewal, 2005; García-del-Pino in Morton, 2010). Ker se vse bolj uporabljam v integriranem varstvu rastlin (IVR) se je povečal interes za sočasno nanašanje EO in FFS na rastline, da bi prihranili tako na času kot tudi denarju (Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014).

Narejenih je bilo kar nekaj raziskav, kjer so preučevali kompatibilnost (skladnost) EO s FFS (Rovesti in Deseö, 1990; Koppenhöfer in Grewal, 2005; Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014). Raziskovalci so ugotovili, da lahko nekatere vrste EO prenesejo krajšo izpostavljenost FFS (od 2 do 24 ur), ki pa lahko zmanjšajo vitalnost EO (Rovesti in Deseö, 1990). Seveda tega dejstva ne gre posploševati, saj je uspeh mešanja FFS in EO odvisen od mnogih dejavnikov, npr. vrste in rase EO, sestave FFS in seveda odmerka FFS, ki ga nanašamo na rastline (Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014).

EO lahko uporabljam za zatiranje različnih vrst škodljivcev. V primeru, da jih nanesemo v ugodnih razmerah (visoka vlaga, optimalna temperatura in nizka stopnja ultravijoličnega sevanja [UV]) jih lahko uporabljam tudi za zatiranje nadzemskih škodljivcev (Laznik in sod., 2010; Laznik in Trdan, 2011). Kot že omenjeno lahko EO nanašamo sočasno ali v krajših časovnih intervalih s FFS in tudi drugimi biotičnimi agensi. Prednost sočasnega nanašanja EO in herbicidov, bi se v okviru IVR pokazala na časovno hitrejšem nanosu različnih vrst FFS in prihranku denarja (namesto dveh voženj s škropilnico bi lahko z eno vožnjo, kjer apliciramo tako EO kot tudi herbicid, dosegli podoben učinek zatiranja škodljivih organizmov in plevelov). Pred vnosom EO in herbicida v okolje je dobro vedeti, ali so EO združljive z izbranim herbicidom. Zato smo izbrali nekaj najpogosteje uporabljenih herbicidov v Sloveniji in preverili njihovo združljivost z nekaterimi vrstami EO, ki so komercialno dostopne tudi pri nas.

### 1.2 CILJI RAZISKAVE

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, kako izpostavljenost infektivnih ličink (IL) EO vrst *Steinernema feltiae* (Filipjev) (komercialni pripravek Nemasy), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (komercialni pripravek Nemasy C), *Steinernema kraussei* (Steiner) (komercialni pripravek Nemasy L) in *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (komercialni pripravek Nemasy G) določenemu herbicidu vpliva na njihovo vitalnost. V laboratorijskih razmerah so bile omenjene vrste EO izpostavljene različnim herbicidom različno dolgo (1, 4 in 24 ur).

Poskus je potekal pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C). Da bi pridobili informacije, ki so koristne za Slovenijo, smo izbrali nekaj najpogosteje uporabljenih herbicidov pri nas. Uporabljenih je bilo osem aktivnih snovi (a.s.) za zatiranje plevelov; linuron (Afalon), glufosinat-amonijeva sol (Basta-15), glifosat (Boom efekt), 2,4-D (Dicotex), metazaklor (Fuego), oksifluorfen (Goal), dikvat dibromid (Reglone 200 SL) in metribuzin (Sencor SC 600). Ugotavljni smo združljivost izbranih herbicidov z EO.

### 1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevali smo, da so različne vrste EO različno združljive s herbicidi, katerih skupni nanos na ciljne rastline v naravi, bi prinesel številne prednosti v IVR. Vpliv herbicida na vitalnost EO pa ni odvisen samo od a.s. herbicida, ampak tudi od časa izpostavljenosti in temperature pri kateri so EO izpostavljene herbicidu.

## 2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV

### 2.1 SPLOŠNO O EO

#### 2.1.1 Sistematika EO

EO sistematično uvrščamo v dve družini: Steinernematidae in Heterorhabditidae. Za obe družini EO je značilno, da lahko parazitirajo žuželke iz različnih redov (Boemare in sod., 1993). V naravi EO uravnavajo naravno populacijo žuželk. V kmetijstvu se uporabljajo kot biotični agensi v preplavnem biotičnem varstvu rastlin (Milevoj, 2011). Na rastlinske škodljivce EO vplivajo s pomočjo simbioze s patogenimi bakterijami, ki so škodljive za žuželke. Rod *Heterorhabditis* živi v simbiozi z bakterijami rodu *Photorhabdus*, medtem ko rod *Steinernema* živi v simbiozi z bakterijami rodu *Xenorhabdus* (Boemare in sod., 1993). Leta 1982 je bilo dokazano, da EO rodu *Steinernema* tudi same tvorijo strupene snovi, ki vplivajo na imunski sistem gostiteljskih žuželk in lahko ubijejo gostitelja tudi brez prisotnosti simbiontskih bakterij (Gaugler, 2002).

Prostoživeče bakterije v tleh ne morejo preživeti, zato so zatočišče našle v prebavilih EO. Te jim nudijo zaščito in primerno bivališče. V gostitelju EO zavirajo antibakterijske procese. Bakterije gostiteljsko žuželko ubijejo, nato pa tvorijo antibiotike, ki preprečujejo razvoj njihovih antagonistov, hkrati pa predelajo gostiteljske žuželke v primerno hrano za EO (Gaugler, 2002).

#### 2.1.2 Razvojni krog EO

Razvojni krog EO sestavljajo jajče, ličinka in odrasel osebek. Ličinka se štirikrat levi. IL so samo ličinke tretjega larvalnega stadija, ki so prostoživeče in dobro prilagojene na pomanjanje hrane (Gaugler, 2002). Posamezna IL v veziklih v sprednjem delu črevesa prenaša med 200 in 2000 simbiontskih bakterij (Laznik in Trdan, 2011). IL v gostitelja vstopa skozi naravne odprtine (ustna votlina, zadnjična odprtina ali dihala), nekatere vrste pa lahko vstopijo v gostitelja celo skozi odprtine v kutikuli (Gaugler, 2002). Ko prodrejo do hemolimfe gostitelja sprostijo bakterije, te pa hitro ubijejo žuželko. Gostiteljska žuželka, ki jo napadejo EO navadno pогine v 24 do 72 urah po infekciji (Laznik in Trdan, 2011). Poleg bakterij se v gostiteljski žuželki množijo tudi EO. Te iz prvega rodu preidejo v drugi rod, po štirikratni levitvi in obdobju odraslih osebkov pa v tretji rod. Ta rod je prisoten v gostitelju, dokler je na voljo hrana. Ker je gostitelj takrat že mrtev je ta rod saprofitski. Po končanem ciklu se EO vrnejo v tla (Laznik in Trdan, 2011). Načeloma EO rodu *Steinernema* zapustijo gostitelja po 6 do 11 dneh od vstopa, medtem ko EO rodu *Heterorhabditis* zapustijo žuželko po 12 do 14 dneh od vstopa (Gaugler, 2002).

### 2.1.3 Zgodovinski pregled raziskav uporabe EO v Sloveniji

Osnova biotičnega načina zatiranja škodljivih organizmov je v Sloveniji pod nadzorom Zakona o varstvu rastlin iz leta 2001, ki je razdelil to področje med Fitosanitarno upravo republike Slovenije in Ministrstvo za okolje in prostor, ki je odgovorno za ohranjanje narave. Bolj natančno pa je to področje obravnavano v Pravilniku o biotičnem varstvu rastlin (Uradni list RS 45/06). Pravilnik usmerja v uporabo koristnih organizmov, kot so na primer živi naravni sovražniki, antagonisti, kompetitorji ali njihovi produkti in vsi ostali organizmi, ki se lahko sami razmnožujejo, vključno z organizmi, ki so dostopni kot komercialni pripravki za varstvo rastlin. Pravilnik prepoveduje uporabo nekaterih mikroorganizmov (tujerodni). Koristni organizmi, ki so uporabljeni v biotičnem varstvu rastlin so lahko domorodni ali tujerodni. V Sloveniji se za namen biotičnega varstva sme uporabljati le tiste organizme, ki so na seznamu domorodnih organizmov (Laznik in Trdan, 2011).

Prve raziskave EO v Sloveniji so se začele leta 2004, do leta 2007 pa so bile EO označene kot tujerodni organizmi. Vse dotedanje raziskave so bile laboratorijske. Raziskovalci so preučevali vpliv EO pri različni koncentraciji suspenzije in različni temperaturi na različne vrste rastlinskih škodljivcev (Laznik in Trdan, 2011).

Izolacija EO iz tal poteka s standardnim postopkom za ekstrakcijo talnih ogorčic. S to tehniko pridobimo številne vrste ogorčic, zato moramo EO ločiti od ostalih in jih identificirati. Identifikacija je precej zahtevna, zato je boljša alternativa, da uporabimo ličinke voščene vešče (*Galleria melonella*), ki so dobri gostitelji za EO (Laznik in Trdan, 2011). Privabljanje EO z ličinkami voščene vešče je ena najpogosteje uporabljenih metod za ekstrakcijo IL EO iz tal. Uspeh te tehnike je večji, če uporabimo več zaporednih vab in jo izvajamo pri različnih temperaturah (Laznik in Trdan, 2011).

Tla vzorčimo tako, da z vsake lokacije vzamemo pet različnih vzorcev. Vsak vzorec tehta približno 1 kg in je mešanica 3 podvzorcev vzetih na globini od 3 do 15 cm na območju 20 m<sup>2</sup>. Vzorci so odvzeti vsaj 100 m narazen na vsaki lokaciji. Vzorce se nato shrani v polietilenske vrečke, da preprečimo izgubo vode in shranimo na 15 °C med transportom v laboratorij. V laboratoriju se v tla vnese naluknjane Eppendorfove tube v katere damo žive ličinke voščene vešče. Če so v talnem vzorcu zastopane EO, le-te vstopijo v ličinko voščene vešče in jo ubijejo. Mrtve ličinke voščene vešče 10 dni sušimo na sobni temperaturi in jih nato položimo na pasti za lovlenje EO (ang. *White trap*). Te pasti so postavljene v petrijevke s premerom 9 cm, ki so napolnjene z destilirano vodo. Vanje so postavljene manjše petrijevke, ki jih ovijemo v filter papir. Mrtve ličinke voščene vešče položimo na filter papir in inkubiramo na sobni temperaturi dokler EO ne splavajo v destilirano vodo. Nadaljnji postopek zahteva centrifugiranje in 5 % raztopino natrijevega hipoklorida, da izločimo IL EO iz suspenzije. IL shranimo v destilirani vodi pri 4 °C v hladilniku (Laznik in Trdan, 2011). Po izolaciji EO je potrebna še molekulska karakterizacija DNK, da se določi njihova identiteta. Najpogosteje se uporabi metoda PCR (Laznik in Trdan, 2011).

Med leti 2006 in 2009 je bilo analiziranih 570 talnih vzorcev vzetih na 114 različnih lokacijah po Sloveniji. Vzorčili so predvsem območja, kjer so tla primerna za živiljenje EO, to so lahka peščena tla, obdelovalne površine, gozdnata tla in travniška tla. Zastopanost EO je bila potrjena v 31 vzorcih, kar je predstavljalo 5,4 % vseh vzetih vzorcev (Laznik in Trdan, 2011). Raziskovalci so v Sloveniji do sedaj potrdili zastopanost petih vrst EO: *Steinernema affine*, *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *Heterorhabdits bacteriophora* (Laznik in Trdan, 2011).

Po odkritju petih vrst EO pri nas je njihova uporaba danes mogoča tudi v praksi. Slovenski raziskovalci so potrdili uspešnost delovanja domačih in komercialnih ras EO pri nekaterih škodljivcih, ki se pojavljajo na (1) prostem: koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata*) (Laznik in sod., 2010) in (2) v zavarovanih prostorih: cvetlični resar (*Frankliniella occidentalis*) (Trdan in sod., 2007) in rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum*) (Laznik in Trdan., 2011).

#### **2.1.4 Uporaba EO za zatiranje nadzemskih škodljivcev**

Do nedavnega je bila uporaba EO vezana le na zatiranje talnih škodljivcev rastlin (Kaya in Gaugler, 1993). V zadnjem času so raziskave usmerjene tudi v uporabo EO za zatiranje nadzemskih škodljivcev (Laznik in sod., 2010; Laznik in Trdan., 2011). Za uspešno preživetje in delovanje EO nad temi pa jim je potrebno zagotoviti posebne pogoje. Vzpostavljena mora biti primerna vlaga (Gaugler, 2002), ne sme biti premočnega ultravijoličnega sevanja in temperturnih ekstremov (Lello in sod., 1996). Zato je zatiranje nadzemskih škodljivcev bolj uspešno v laboratorijskih pogojih kot zunaj, znani pa so tudi primeri, ko so raziskovalci ob upoštevanju omejujočih dejavnikov dosegli zadovoljive rezultate uporabe EO tudi na prostem pri zatiranju nadzemskih škodljivcev (Laznik in sod., 2010; Laznik in Trdan., 2011).

Za foliarni nanos EO na rastline lahko uporabljamo razpršilce za nanos FFS, foliarnih gnojil ali pa kar razpršilni namakalni sistem (Gaugler, 2002). Na večje površine jih lahko nanašamo s traktorskimi škropilnicami. IL gredo lahko skozi škropilne šobe s premerom najmanj 500 µm in lahko prenesejo tlak do 2000 kPa (Laznik in Trdan, 2011).

IL EO prenesejo kratkotrajno izpostavljenost številnim FFS, gnojilom in tudi rastnim regulatorjem. S temi sredstvi jih lahko zmešamo in nanesemo skupaj (Rovesti in Deseö, 1990; García-del-Pino in Morton, 2010; Laznik in sod., 2012b; Laznik in Trdan, 2014).

EO je priporočljivo nanašati na rastline zgodaj zjutraj, zvečer ali pa v oblačnem vremenu, saj je tedaj stopnja UV sevanja nižja. UV predstavlja namreč zelo pomemben omejujoč dejavnik za preživetje in delovanje EO (Gaugler, 2002). Na preživetje EO na nadzemskih delih rastline so skušali vplivati tudi z različnimi dodatki, ki zadržujejo vlago in zmanjšujejo UV sevanje (Laznik in Trdan, 2011). Najbolj obetavne mešanice EO za zatiranje nadzemskih škodljivcev so sicer tiste, kjer so dodani drugi biotični agensi (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

### 2.1.5 Neciljno delovanje EO

EO veljajo za varne biotične agense, saj je njihovo delovanje ciljno in so neprimerljivo manj škodljive za okolje kot FFS (Ehlers, 2001). Njihovo delovanje je ciljno – gostiteljski organizmi so le žuželke, žal tudi tiste, ki so koristne (Rojht in sod., 2009). Rezultati nekaterih raziskav kažejo na zmeren vpliv EO na neciljne žuželke ali celo odsotnost takega učinka (Georgis in sod., 1991). Bathon (1996) poroča, da je mogoče opaziti smrtnost med neciljnimi organizmi, vendar je vpliv teh dejavnikov opisan kot začasen in lokalен in je tako le del populacije pod napadom. Georgis in sod. (1991) so pokazali zanemarljiv vpliv EO na neciljne organizme, če se uporablja samo v kratkoročnih časovnih intervalih zatiranja škodljivcev. Od njihove prve uporabe v fitofarmacevtske namene (davnega leta 1923) do danes ni bilo zabeleženega nobenega škodljivega vpliva na okolje, uporaba je varna za uporabnika in ne škodujejo sesalcem in rastlinam (Ehlers, 2001).

Farag (2002) poroča o visoki smrtnosti ličink polonice vrste *Coccinella undecimpunctata*, ki sta jo povzročili EO *Heterorhabditis taysearae* in *Steinernema carpocapsae* v laboratorijskih poskusih. Tako avtor odsvetuje uporabo teh dveh vrst EO na območjih, kjer je ta predator zastopan v večjem številu. EO vrste *Heterorhabditis bacteriophora* in *Steinernema carpocapsae* sta zelo škodljivi tudi za pisano polonico (*Harmonia axyridis*) in sedempikčasto polonico (*Coccinella setempunctata*), vrsti, ki sta zastopani tudi pri nas. V laboratorijski raziskavi (Rojht in sod., 2009) so dokazali, da so ličinke dvopike polonice (*Adalia bipunctata*) in navadne tenčičarice (*Chrysoperla carnea*) občutljive na napad EO. Smrtnost ličink dvopike polonice pri 25 °C je bila 93 %, smrtnost ličink navadne tenčičarice pa 42 % (Rojht in sod., 2009). Zapisov, ki bi omenjali vplive EO na neciljne organizme v naravem okolju nismo našli.

### 2.1.6 Možnosti IVR z EO

Kot že omenjeno lahko EO kombiniramo s številnimi FFS in tudi ostalimi biotičnimi agensi za različne namene. Raziskave so pokazale, da kombinacije EO in FFS prinesejo večji uspeh v IVR, poleg tega pa je njihova uporaba tudi bolj ekonomična. EO lahko nanašamo na rastline s skoraj vsemi komercialno dostopnimi pršilniki za nanašanje FFS ali gnojil. Če nanašamo EO skupaj s herbicidi ali fungicidi tako obvladamo hkrati plevele, bolezni in rastlinske škodljivce. Na primer; a.s. azoksistrobin, propamokarb in žveplo, ki dobro zatirajo kumarno plesen (*Pseudoperonospora cubensis*) in kumarovo pepelovko (*Erysiphe cichoracearum*) so se izkazale za skladne z EO vrste *S. feltiae* (Laznik in sod., 2012a). Ker se ob pojavi prej omenjenih bolezni na rastlini lahko sočasno pojavijo tudi nekateri škodljivci (cvetlični resar, rastlinjakov ščitkar), ki jih omenjena vrsta EO učinkovito parazitira (Laznik in Trdan, 2011), je sočasna uporaba fungicida in EO upravičena. Tako skupen nanos FFS in EO omogoča obvladovanje vseh omenjenih škodljivih organizmov hkrati. Vsekakor pa mora biti vsaka kombinacija EO in FFS ovrednotena s poljskimi poskusi, saj se lahko rezultati laboratorijskih poskusov in poljskih poskusov razlikujejo zaradi okoljskih omejujočih dejavnikov (Laznik in sod., 2010).

Svetovni trg biotičnih pripravkov je bil leta 2013 ocenjen na okrog 1,8 milijarde \$, pričakuje pa se, da se bo do leta 2019 povečal na okrog 4,4 milijarde \$. Največji uporabnik biotičnih agensov so na svetovni ravni še vedno ZDA, vendar se pričakuje, da bo v prihodnjih letih najhitreje rastoči trg z biotičnimi agensi prav Evropa, ki s strogo zakonodajo, vezano na uporabo FFS, načrtno pospešuje ekološko pridelavo živeža in krme. Nacionalni akcijski plan za zmanjševanje rabe FFS na primer določa, da mora vsakdo, ki želi kupiti in kasneje uporabljati FFS imeti opravljen izpit iz fitomedicine in potrdilo, da ga je opravil. Uporabnike uči in spodbuja k pravilni uporabi FFS. Prav tako pa spodbuja tudi IVR in ekološko kmetijsko pridelavo. Statistični podatki so pokazali, da se je prodaja biotičnih pripravkov med leti 2005 in 2015 povečala za 44 %. Rast trga je prav gotovo tudi posledica vse večje osveščenosti ljudi o varovanju okolja, kar je tudi ena izmed smernic EU, katere članica je Slovenija (Laznik in Trdan, 2011).

## 2.2 UČINKOVITOST EO PRI ZATIRANJU TALNIH ŠKODLJIVCEV

### 2.2.1 Zatiranje ogrcev

Ogrci so ličinke hroščev iz družine Scarabaeidae in veljajo za gospodarsko pomembne talne škodljivce (Laznik in Trdan, 2015). Hranijo se s podzemnimi deli rastlin. Škodo povzročajo tako na travnikih, njivah kot tudi na zemljiščih, ki so namenjena za rekreacijo (parki, golf igrišča, nogometna igrišča, itd.) (Grewal in sod., 2005). Prav na rekreacijskih zemljiščih vidimo največji potencial sočasne rabe EO s herbicidi.

Ogrce parazitirajo številne vrste EO. Vrste *Steinernema anomali*, *Steinernema glaseri*, *Steinernema kushidai*, *Steinernema scarabaei* in *Heterorhabditis megidis* so bile prvič odkrite prav v okuženih ogrcih (Grewal in sod., 2005). V zadnjih dvajsetih letih so se raziskave osredotočile tudi na uporabo EO za preplavno biotično varstvo travnikov in rekreacijskih površin za zatiranje ogrcev (Grewal in sod., 2005). Trenutno so za zatiranje ogrcev na trgu dostopne vrste *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis zealandica*, *Heterorhabditis marelata* in *Steinernema glaseri* (Grewal in sod., 2005).

Pomen EO za biotično varstvo rastlin je bil prvič predstavljen v ZDA. Leta 1923 sta Glaser in Fox odkrila ogorčico vrste *S. kraussei*, ki je napadla in povzročila smrt hrošča *Popillia japonica* (Glaser in Farell, 1935). Glaser je v tistem času tudi predstavil možnost vzunganja EO v »*in vitro*« sistemu. Tako so leta 1939 izvedli prvi poljski poskus v New Jerseyju za zatiranje vrste *Popillia japonica* (Kaya in Gaugler, 1993).

Prvi komercialni poskusi uporabe EO za zatiranje ogrcev so se pojavili v osemdesetih letih prejšnjega stoletja, ko so EO postale komercialno dostopne v obliki vodne raztopine. V prvih raziskavah sta se kot učinkoviti vrsti EO za zatiranje ogrcev *P. japonica* izkazali *S. glaseri* in *H. bacteriophora*, malo manj učinkoviti pa sta bili vrsti *S. carpocapsae* in *S. feltiae*. Kasneje so analizirali podatke 82 poljskih poskusov in ugotovili, da so za spodletele poskuse zatiranja japonskega hrošča krive neprimerne rase EO in pa tudi neprimerne okoljske razmere (Grewal in sod., 2005). Od takrat so raziskave usmerjene v oceno uporabnosti novih vrst in ras EO,

pojasnitev vpliva okoljskih razmer na EO in določitev medsebojnih interakcij EO in ostalih biotičnih agensov (Grewal in sod., 2005).

Zatiranje ogrcev japonskega hrošča z EO je bilo preučevano predvsem s poljskimi poskusi. Večina poskusov je pokazala izredno uspešnost treh vrst EO. *H. bacteriophora* rasa GPS11 (od 83 do 96 % smrtnost ogrcev) in rasa TF (od 65 do 92 % smrtnost ogrcev), *H. zealandica* rasa X1 (od 96 do 98 % smrtnost ogrcev) in *S. scarabaei* rasa AMK001 (100 % smrtnost ogrcev) (Grewal in sod. 2005). Rase vrst *S. glaseri*, *S. kushidai* in *S. carpocapsae* so bile manj uspešne pri zatiranju ogrcev japonskega hrošča (Grewal in sod., 2005).

Pri zatiranju ogrcev hrošča vrste *Cyclocephala borealis* so se kot najuspešnejše pokazale EO vrste *H. zelandica* rasa X1 pa tudi *S. scarabaei* rasa AMK001 in *H. bacteriophora* rasa GPS11 (Grewal in sod., 2005). EO vrste *Steinernema glaseri* je bila pri zatiranju ogrcev neučinkovita. Poskusi zatiranja ogrcev hroščev vrst *Cyclocephala hirta* in *Cyclocephala pasadenae* so bili neuspešni, saj nobena do tedaj poznanih vrst EO ni prinesla želenega uspeha (Grewal in sod., 2005).

Za zatiranje ogrcev vrste *Anomala orientalis* se je kot najbolj učinkovita izkazala vrsta *S. scarabaei*, rasa AMK001. Predvidevajo, da bi bile enako uspešne tudi druge vrste, na primer *S. kushidai*, *H. bacteriophora* rasa GPS11 in *H. zealandica*, a žal za te vrste še niso bili izvedeni poljski poskusi. V poskusih v rastlinjaku se je najbolje odrezala vrsta *S. kushidai* (Grewal in sod., 2005).

Pri zatiranju vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola*) je bila bolj uspešna vrsta *H. bacteriophora* kot *H. megidis*. Pri hroščih *Phylophaga spp.* sta vrsti *H. bacteriophora* in *S. carpocapsae* dali variabilne rezultate, ki se pri povečanju odmerka EO niso bistveno izboljšali. Pomen koncentracije suspenzije ogorčic so v raziskavah preučevali tudi slovenski raziskovalci in ugotovili, da pri zatiranju številnih škodljivih žuželk, koncentracija suspenzije ogorčic ni imela vpliva na končni uspeh zatiranja (Laznik in Trdan, 2011). Vse preučevane rase vrste *S. carpocapsae* so bile pri zatiranju uspešne (75 % smrtnost ogrcev) (Grewal in sod., 2005). Ogrce vrste *Rhizotrogus majalis* so uspešno zatrli z vrsto *S. scarabaei*, medtem ko vrsti *S. glaseri* in *H. bacteriophora* rasa TF nista bili učinkoviti. Do podobnih rezultatov so prišli tudi pri poskusu zatiranja ogrcev hrošča *Maladera castanea*. Za zatiranje ogrcev vrste *Hoplia philanthus* so na voljo le rezultati poskusov v rastlinjakih, ki kažejo, da sta vrsti *S. glaseri* in *H. megidis* sprejemljivi za zatiranje, medtem ko je vrsta *S. feltiae* neučinkovita (Grewal in sod., 2005).

Ogrci poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) so v Sloveniji gospodarsko najpomembnejši škodljivci na travinju. Za zatiranje teh škodljivcev na travinju trenutno v Sloveniji nimamo registriranega nobenega kemičnega pripravka. Zato so slovenski raziskovalci izvedli poljsko raziskavo, kjer so preučevali učinkovitost različnih biotičnih agensov (EO *H. bacteriophora*, entomopatogeni glivi *Beauveria bassiana*, *B. brongniarthis*, entomopatogeni bakteriji *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*) za zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča, junijskoga hrošča (*Amphimallon solstitialis*), julijskoga hrošča (*Anomala dubia*) in vrtnegog hrošča (*Phyllopertha horticola*) (Laznik in Trdan, 2015). V poskusu so preučevali tudi skladnost ostalih biotičnih agensov z

EO za zatiranje omenjenih vrst ogrcev. Njihovi rezultati so pokazali neučinkovitost delovanja vseh biotičnih agensov za zatiranje ogrcev tretje larvalne stopnje ( $L_3$ ), medtem ko so se EO posamično ali v kombinaciji z entomopatogenima glivama izkazale kot sprejemljivo učinkovit biotični agens pri zatiranju mlajših larvalnih stopenj ( $L_1$  in  $L_2$ ) ogrcev na prostem (Laznik in Trdan, 2015).

### **2.2.2 Zatiranje bramorjev**

EO uspešno zmanjšujejo škodo, ki jo na travinju naredijo bramorji. Vrsta *Steinernema scapterisci*, ki je bila odkrita v okuženem bramorju v Urugvaju, je v laboratorijskih pogojih povzročila od 75 do 100 % smrtnost bramorjev (Grewal in sod., 2005). Kot preplavno biotično varstvo proti bramorjem je bila ta vrsta uporabljena tudi v poljskem poskusu, kjer je bila smrtnost bramorjev 11 %. Poleg te pa sta bili preizkušeni še dve vrsti EO. *Steinernema riobrave* je bila uporabljena v poljskem poskusu in je dosegla od 66 do 86 % smrtnost bramorjev. Vrsta *Steinernema carpocapsae* je v povprečju dosegla 58 % smrtnost bramorjev (Grewal in sod., 2005).

### **2.2.3 Zatiranje rilčkarjev**

Pri zatiranju rilčkarja vrste *Sphenophorus* spp. sta se kot uspešni vrsti EO pokazali *S. carpocapsae* in *H. bacteriophora*. Ti dve vrsti sta učinkovito parazitirali tudi rilčkarja vrste *S. parvulus* (78 % smrtnost ogrcev). Rilčkarja vrste *S. venatus vestitus* EO *S. carpocapsae* celo uspešneje zatira kot insekticid, ki je za omenjenega škodljivca registriran (84 % smrtnost ogrcev pri uporabi EO in 69 % smrtnost ogrcev pri uporabi insekticida) (Grewal in sod., 2005).

### **2.2.4 Zatiranje gosenic**

Vrsta *Steinernema carpocapsae* se lahko uspešno uporablja za zatiranje gosenic vseh vrst sovk. Dokazano je, da lahko na golf igriščih zatiramo gosenice sovke *Agrotis ipsilon* z aplikacijo suspenzije EO  $2,5 \times 10^9$  IL/ha. Gosenice so občutljive na EO, saj lahko okužijo vse stadije, tudi bubo. Gosenice vrste *Pseudaleletia unipuncta* uspešno zatira kar 28 ras EO *H. bacteriophora*, pojavljajo pa se tudi velike razlike v virulentnosti teh ras. Smrtnost ličink šeste stopnje ( $L_6$ ) gosenic *Pseudaleletia unipuncta* po okužbi z EO je nihala med 33 % in 100 % po 96 urni izpostavljenosti v petrijevkah. Najbolj virulentna rasa *H. bacteriophora* naj bi bila rasa Az29. Isti rezultat je pokazal tudi poljski poskus, kjer je omenjena rasa bolje zatirala gosenice *Pseudaleletia unipuncta*, kot *S. carpocapsae* rasa Az20 in *H. bacteriophora* rasa Az32 (Grewal in sod., 2005).

### **2.2.5 Zatiranje košeninarjev**

Ličinke košeninarjev vrst *Tipula paludosa* in *Tipula oleracea* so občutljive na EO iz družine Heterorhabditidae in delno na vrsto *Steinernema feltiae*. Pri obeh omenjenih vrstah košeninarjev se občutljivost na *S. feltiae* manjša z razvojem ličink (Grewal in sod., 2005)

## 2.3 EO UPORABLJENE V RAZISKAVI

### 2.3.1 *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923)

*S. kraussei* je vrsta EO rodu *Steinernema*. Izločala so pri odraslih ogorčicah nameščena na sprednjem delu blizu srednjega dela žrela. Rep mladih samic je koničast, pri starejših pa bolj zaobljen. Rep samcev obeh rodov ima tanek mukron, ki včasih pri drugem rodu izgine. Spikule na repu samcev vrste *S. kraussei* imajo nekoliko ukrivljeno lusko, ki ima izboklino. Konica spikule je koničasta in nima kljukaste strukture. Razmerje širine in dolžine manubriuma je 1 : 1. IL vrste *S. kraussei* spadajo med srednje velike, njihova dolžina je med 700 in 1000 µm. Zadnji konec je sestavljen iz osmih grebenov, srednji in zunanjji par pa nista zelo izrazita. Prozorna regija obsega okoli 40 % repne dolžine. Telo IL je tanjše v primerjavi z IL vrste *S. glaseri*. EO vrste *S. kraussei* najdemo predvsem na gozdnatih območjih, redko pa na odprtih območjih z izjemo nekaterih alpskih pokrajin. Vrsta je bila najdena v Evropi, na Daljnem Vzhodu in v Severni Ameriki (Kanada in ZDA) (Nguyen in Hunt, 2007). Zastopanost omenjene vrste je bila potrjena tudi v Sloveniji (Laznik in Trdan, 2011).

### 2.3.2 *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1943)

Vrsta *S. feltiae* je najpogostejsa vrsta med srednje velikimi IL EO. Izločala so nameščena približno v sredini višine žrela. Zadnji del ima osem grebenov z manj izrazitim zunanjim parom v srednjem delu telesa. Rep je tanek in prosojna regija obsega manj kot polovico dolžine repa. Samci imajo rahlo ukrivljene rjave spikule s podolgovatim manubriumom. Oba rodovala imata mukron, ki je pri prvem rodu včasih povečan. Samice imajo rahlo štrlečo vulvalno odprtino locirano na zadnjem delu telesa. Samice prvega rodu imajo koničast rep (Nguyen in Hunt, 2007).

Vrsto *S. feltiae* lahko namnožimo na ličinkah voščene vešče (*Galleria mellonella*). Tako poljski kot laboratorijski poskusi so pokazali, da je ta vrsta učinkovita pri zatiranju številnih rastlinskih škodljivcev. *S. feltiae* je najbolj kozmopolitska vrsta, saj jo lahko najdemo v Evropi, Aziji, Severni in Južni Ameriki, Avstraliji ter Novi Zelandiji. Ta vrsta poseljuje tako odprta kot tudi gozdnata območja (Nguyen in Hunt, 2007), njena zastopanost pa je bila potrjena tudi v Sloveniji (Laznik in Trdan, 2011).

### 2.3.3 *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955)

Vrsto *S. carpocapsae* prepoznamo po kratkem telesu IL, ki meri 558 µm in E % = 60 (E je razmerje med oddaljenostjo žrela od izločilne odprtine/dolžina repa x 100). Izločala so nameščena spredaj, zadnji del je podoben samčevemu, le da je veliko večji. Od ostalih vrst EO lahko vrsto *S. carpocapsae* ločimo po majhnih IL in po obliki spikule in gubernakuluma, ki ima obliko črke Y (Nguyen in Hunt, 2007).

Vrsta *S. carpocapsae* naj bi lahko okužila in ubila okoli 250 različnih vrst rastlinskih škodljivcev, ki spadajo v 10 različnih redov. Zato so bile s to ogorčico opravljene že številne raziskave. Razširjena je v Evropi in Severni Ameriki, najdena pa je bila tudi v Južni Ameriki,

na Kitajskem, v Koreji, Tajvanu, Avstraliji in na Novi Zelandiji (Nguyen in Hunt, 2007). Zastopanost omenjene vrste je bila potrjena tudi v Sloveniji (Laznik in Trdan, 2011).

#### **2.3.4 *Heterorhabdus bacteriophora* (Poinar, 1976)**

Pri samcih je sprednji del odsekan in zaobljen. Ustna odprtina ima šest štrlečih zob. Izločala so nameščena pri bazalni odprtini. Spikule so v parih in ločene, oblika kapituluma je variabilna. Pri hermafroditnih samicah je sprednji del zelo podoben samčevemu, le da je večji. Vulva je locirana v sredini telesa. Genitalni sistem je amfidelpičen. Rep je koničast. Enospolne samice so podobne hermafroditnim, le da imajo stožčasto oblikovan sprednji del. Ustnični del je komaj ločljiv od preostanka glave. Analna regija je rahlo štrleča. Sprednji del IL ima mozaični vzorec, zadnji del ima podolgovate grebene. Izločala so nameščena za živčnim obročem, vendar pred bazo žrela. Oralna odprtina in anus sta zaprta, oblika žrela pa je tipična za spol IL. Rep je koničast (Nguyen in Hunt, 2007).

IL vrste *H. bacteriophora* lahko okužijo in ubijejo ličinko voščene vešče (*G. mellonella*) v 48 urah. IL v ličinke voščene vešče vstopijo skozi dihalno odprtino ali prebavila (ustna, zadnjična odprtina). Tri do štiri dni po okužbi velike hermafroditne samice izležejo potomce, ki se v dveh dneh razvijejo v enospolne samice in samce. Po parjenju zarod ostane v samici dokler se ne razvije v bolj infektivno obliko, preden zapusti materino EO. IL prenašajo specifične bakterije vrste *Photorhabdus luminescens* subsp. *luminescens*, ki se nahajajo v posebni mošnji v sprednjem delu črevesa. Te bakterije se sprostijo iz mošnje, ko so IL nameščene v hemolimfi žuželk. Obdukcija sveže ubitih žuželk je pokazala, da so bakterije prisotne skozi celoten razvoj EO. Te bakterije spremenijo barvo ubitega škodljivca v rdečkasto, tako je jasno, da je škodljivec nedvomno ubit s strani bakterij v sodelovanju z EO. Zaradi zmožnosti okužbe številnih rastlinskih škodljivcev je vrsta *H. bacteriophora* zelo komercializirana s strani številnih podjetij s FFS. Vrsta *H. bacteriophora* je bila najdena v Evropi, Severni in Južni Ameriki, na Karibih, v Aziji, Afriki, Avstraliji in na Novi Zelandiji (Nguyen in Hunt, 2007). Zastopanost omenjene vrste je bila potrjena tudi v Sloveniji (Laznik in Trdan, 2011).



**Slika 1:** Infektivne ličinke EO vrste *Steinernema feltiae* (foto: J. Rupnik).

## 2.4 ZDRAŽLJIVOST EO S FFS

IL EO so lahko krajši čas (od 2 do 24 ur) izpostavljene mnogim kemičnim in biotičnim insekticidom, fungicidom, herbicidom, gnojilom in rastnim regulatorjem, zato jih lahko s temi sredstvi zmešamo in sočasno nanesemo na rastline (Rovesti in Deseö, 1990; García-del-Pino in Morton, 2010; Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014). S sočasno uporabo lahko prihranimo tako na času kot stroških nanosa FFS (Laznik in Trdan, 2014). Če EO in FFS nista skladna lahko to premostimo z izbiro časovnega intervala med nanosi, dolžina intervala pa je odvisna od obstojnosti FFS v tleh oz. na rastlini (Koppenhöfer in Grewal, 2005). Priporočeno je počakati vsaj teden ali dva po aplikaciji FFS pred aplikacijo EO. Vrste EO so različno združljive s posameznimi kemičnimi ali biološkimi snovmi (Laznik in sod., 2012; Laznik in Trdan, 2014). Nekatere snovi, ki so uporabljene kot inertne sestavine ali dodatki formulacijam FFS so lahko toksične za EO. Zato bi morala biti preučena združljivost vsake formulacije FFS v kombinaciji s posamezno vrsto in raso EO pred nanosom na rastline (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

Kombinacija dveh agensov pri zatiranju določenega škodljivca lahko privede do antagonističnega, komplementarnega ali sinergističnega odnosa med agensoma (Koppenhöfer in Grewal, 2005). To vpliva na smrtnost gostitelja (žuželke). Komplementarni odnos med agensoma pomeni, da med njima ni interakcij, saj vplivata vsak po svoje. Sinergističen in antagonističen odnos pa povzroči, da je kombinacija, ki jo nanašamo na rastline bolj ali manj učinkovita kot v primeru komplementarnega odnosa med agensoma. Sinergizem je definiran kot skupna akcija agensov in privede do boljših rezultatov kot če bi uporabili vsak agens posamezno. Antagonizem pa pomeni, da se učinki agensov izključujejo in je zato kombinacija manj učinkovita (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

#### **2.4.1 Združljivost s kemičnimi sredstvi**

Organofosfat oksamil sinergistično deluje z vrsto *S. carpocapsae* pri zatiranju ozimne sovke (*Agrotis segetum*), a le v razkuženih tleh. Piretroid teflutrin šibko sinergistično deluje z vrstama *S. carpocapsae* in *H. bacteriophora*, ko parazitirata ličinke koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera*). Ta učinek pripisujejo subletalnim odmerkom teflutrina, ki povzročajo krčevite in paralitične odzive ličink koruznega hrošča in so tako bolj občutljive na napad EO. Dobro preučen je sinergizem med *Heterorhabditis* spp. in *S. glaseri* ter neonikotinoidom imidakloprid. Imidakloprid poveča občutljivost ogrcev na EO. Z večino ostalih preučevanih kemičnih sredstev pa imajo EO komplementarni odnos (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

#### **2.4.2 Združljivost EO z mikroorganizmi**

Dve različni vrsti EO imata načeloma komplementarni odnos. V laboratorijskih pogojih lahko dve vrsti EO sočasno okužita istega gostitelja, v naravi pa se to težje zgodi, saj EO rodu *Steinerinema* žuželke, ki so že okužene z drugo vrsto EO, odbijajo. Skupno nanašanje dveh vrst EO na isti ciljni organizem dolgoročno vodi v prevlado ene izmed obeh vrst pri okuženju določenega škodljivca. Takšne kombinacije pa lahko prinesejo uspeh pri zatiranju dveh različnih vrst škodljivcev, če sta škodljivca različno odporna na eno vrsto EO (na način okuženja in/ali na način napada EO) (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

EO imajo z bakterijo *Bacillus thuringiensis* komplementaren ali antagonističen odnos pri zatiranju ličink redu Lepidoptera (metulji). Pri zatiranju travniškega komarja (*Tipula paludosa*) sta imela EO *S. carpocapsae* in β-eksotoksin, ki ga sprošča *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* močan sinergističen odnos. Vrsti *S. glaseri* in *H. bacteriophora* imata z *Bacillus thuringiensis* var. *japonensis* sinergističen odnos, ob sočasni aplikaciji na ličinke skarabejev, ki so občutljive na *Bacillus thuringiensis* var. *japonensis*. V kombinaciji s številnimi rasami *Bacillus thuringiensis* pa se reprodukcija EO v ciljnih organizmih zmanjša ali preneha, razen v primeru, ko je EO v ciljni organizem vnesena nekoliko pred bakterijo. Bakterija *Paenibacillus popilliae*, ki okužuje L3 ličinke hrošča vrste *Cyclocephala hirta* olajša vstop v črevo ličink EO vrst *H. bacteriophora* in *S. glaseri*. Reprodukcija EO in bakterije *Paenibacillus popilliae* ni ovirana. Počasen razvoj bakterije *Paenibacillus popilliae* v ličinki in pomanjkanje *in vitro* produkcijskih metod za množitev bakterije sta vzrok, da ta metoda ni zelo uporabna. Sočasen nanos bakterije *Serratia marcescens* z EO *H. indica* ali *S. carpocapsae* z namenom zatiranja hrošča vrste *Curculio caryae*, rezultira v antagonistični odnos med bakterijo in EO. Smrtnost hrošča *Curculio caryae* je manjša, kot pri nanosu bakterije ali EO posebej, saj se pojavljajo negativne interakcije med bakterijo *Serratia marcescens* in simbiontskimi bakterijami EO. *Photorhabdus marescens*, ki je simbiontska bakterija EO rodu *Heterorhabditis* in *Serratia marcescens* v *in vitro* razmerah inhibirata delovanje druge druge (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

Kombinacije EO in gliv imajo v splošnem komplementaren odnos. V večini raziskav je smrtnost zaradi EO ali glive posamezno tako visoka, da so odnosi preučevani z vidika hitrosti

smrtnosti ciljnega organizma. V cilnjem organizmu EO in glice navadno nimajo potomcev, saj se glive in simbiotske bakterije EO izključujejo. Agens, ki prvi okuži ciljni organizem navadno izključuje drugega. EO vrst *H. bacteriophora* in *S. carpocapsae* se v naravi izogibata gostiteljem, ki so predhodno okuženi z entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana*. Kombinacije *Beauveria bassiana* in *S. carpocapsae* ali *H. indica* so antagonistične pri zatiranju hrošča *Curculio caryae*. Kombinacije EO z glivo *Metarrhizium anisopliae* imajo komplementarni odnos, zato bi bilo zanimivo takšne kombinacije bolje preučiti. Pri kombinaciji *S. carpocapsae* ali *H. indica* z glivo *Paecilomyces fumosoroseus* pa je bil ugotovljen antagonizem (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

Kombinacija *S. carpocapsae* z nukleopolihedrovirusom, ki okužuje gosenice vrste *Spodoptera exigua* povzročijo večjo smrtnost gosenic, brez omejevanja razmnoževanja EO. Če se okužba ciljnega organizma z EO zgodi nekaj dni preden je ta ubit s strani nukleopolihedrovirusa so EO, ki se razvijajo v njem izpostavljene izsušitvi, ker se kutikula žuželke razgradi. V ličinki šeste stopnje vrste *Pseudaletia unipuncta* okužene z granulovirusom se *S. carpocapsae* razmnožuje normalno (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

#### **2.4.3 Združljivost s parazitoidi**

Preživetje parazitoidov vrst *Apanteles militaris* in *Hyposoter exiguae* v ličinkah *Pseudaletia unipuncta* ter preživetje parazitoida vrste *Meteorus rubens* v ličinkah ipsislon sovke (*Agrotis ipsilon*) je bilo zmanjšano, če so bile omenjene ličinke okužene z EO vrste *S. carpocapsae*, čeprav je preživetje parazitoidov večje, če je okužena ličinka starejša. *S. carpocapsae* se nemoteno razmnožuje v ličinkah okuženih s parazitoidi ali takšnih, ki so jih parazitoidi že zapustili. Po nastanku kokona so bube *Apanteles militaris*, *Hyposoter exiguae*, *Cotesia medicaginis* in *Chelonus* sp. odporne na okužbo z EO. Vrsta *S. carpocapsae* zmanjša tudi preživetje gostiteljev parazitodov vrst *Cardicohiles diaphaniae* in *Diaphania* spp., bube omenjenih parazitoidov pa so odporne na okužbo z EO. Ličinke ektoparazitov *Mastrus ridibundus* in *Liotryphon caudatus* so občutljive na *S. carpocapsae*. Samice teh dveh vrst parazitoidov ne odlagajo jajčec na gostitelje, ki so okuženi z ogorčico *S. carpocapsae*. Parazitoid *Ganaspilum utilis*, ki parazitira ličinke in bube zelenjadne zavrtalke (*Liriomyza trifolii*) je občutljiv na vrsto *S. carpocapsae*, vseeno pa kombinacija obeh agensov pripomore k večji smrtnosti zelenjadne zavrtalke. Parazitoid *Diglyphus begini* se na ličinkah zelenjadne zavrtalke hrani, a na njih ne odlaga jajčec, saj se tako izogne neustreznemu gostitelju. EO rodu *Steinernema*, ki so bile vnesene v tla z namenom zatiranja kožekrilca vrste *Cephalcia arvensis*, je zmanjšala pojav parazitoida *Xenoschesis fulvipes* za 66,6 % (Koppenhöfer in Grewal, 2005). Če se v odraslem osebku vrste *Scapteriscus vicinus* srečata ogorčica *S. scapterisci* in parazitoid *Ormia depleta*, se pojavi večji odstotek potomcev EO in manjši odstotek potomcev parazitoida v primerjavi, če bi bil bramor izpostavljen vsakemu agensu posebej. EO *S. carpocapsae* okužujejo več kot tri dni stare ličinke parazitoida *Compsilura concinnata* v gostitelju in tudi odrasle osebke, ko zapustijo gostitelja, ne okužujejo pa bube. Če se v gostitelju srečata EO in manj kot tri dni stare ličinke parazitoida se obe vrsti lahko nemoteno razvijata (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

## 2.5 HERBICIDI UPORABLJENI V RAZISKAVI

### 2.5.1 Afalon

Aktivna snov (a.s.): linuron (45 %)

Formulacija: koncentrirana suspenzija

Afalon je kontaktni in sistemični herbicid za zatiranje enoletnega širokolistnega plevela v korenju, v odmerku 2 l/ha (20 ml na 100 m<sup>2</sup>) po setvi, vendar pred vznikom korenja ali v odmerku 1,5 l/ha po vzniku, ko korenje razvije od 3 do 4 liste. Uporabljamo ga tudi v soji in sončnicah v odmerku od 2,0 do 2,1 l/ha po setvi, pred vznikom soje ali sončnic.

Afalon lahko na eni površini uporabimo samo enkrat v rastni sezoni. Ne smemo ga uporabljati na lahkih tleh z več kot 6 % organske snovi. Priporočena količina vode pri uporabi je od 200 do 400 l/ha. V primeru daljših in močnejših padavin se lahko izpira v rizosfero. Prav tako na tretiranih površinah najmanj štiri mesece po tretiranju ne smemo gojiti novega posevka, ker lahko pride do poškodb rastlin. Karenca pri uporabi na korenju je 70 dni, pri uporabi na sončnicah in soji je karenca zagotovljena s časom uporabe. Mejna vrednost ostankov linurona v vseh treh posevkih je v skladu s predpisi o ostankih v/na živilih in kmetijskih pridelkih (FITO-INFO, 2015).

### 2.5.2 Basta-15

Aktivna snov (a.s.): glufosinat (glufosinat-amonijeva sol) (15 %)

Formulacija: vodotopni koncentrat

Basta-15 se uporablja kot kontaktni, delno tudi sistemični, neselektivni herbicid za zatiranje enoletnega in večletnega plevela v sadovnjakih in vinogradih, v vrstah pod krošnjami oz. trtami. Odmerek je od 4 do 5 l/ha, odvisno od vrste plevela. Uporabimo ga, ko plevel doseže višino od 15 do 20 cm. Sredstvo dobro zatira navadno zvezdico (*Stellaria media*), navadni grint (*Senecio vulgaris*), mnogosemensko metliko (*Chenopodium polyspermum*), navadno škrbinko (*Sonchus oleraceus*), navadni regrat (*Taraxacum officinale*), ptičjo dresen (*Polygonum aviculare*), plazečo deteljo (*Trifolium repens*), latovke (*Poa sp.*) in topolistno kisllico (*Rumex obtusifolius*). Sredstvo slabše zatira škrlatnordečo mrtvo koprivo (*Lamium purpureum*) in plazečo zlatico (*Ranunculus repens*).

Priporočena uporaba vode je od 200 do 400 l/ha. Če v štirih urah po tretiranju začne deževati se učinkovitost sredstva zmanjša. Basta-15 najbolje učinkuje, ko so pleveli v fazi aktivne rasti. Po tretiranju se v od 2 do 3 dneh pokaže rumenenje tretiranih rastlinskih delov, ki se v naslednjih od 10 do 14 dneh posušijo. Po 60 dneh je tretirana površina spet prekrita s pleveli.

Basta-15 lahko v eni rastni sezoni uporabimo samo enkrat, tretiramo lahko samo v pasovih, največji dovoljeni odmerek pri enem tretiranju ne sme biti večji od 5 l/ha. Potrebno je paziti, da se pri nanosu ne omoči zelenih delov in plodov rastlin, ker se v nasprotnem primeru posušijo. Karenca za sadno drevje in trto je 21 dni. Mejna vrednost ostankov je v skladu s predpisi (FITO-INFO, 2015).

### 2.5.3 Boom efekt

Aktivna snov (a.s.): glifosat v obliki izopropilamino soli (48 %)

Formulacija: vodotopni koncentrat

Pripravek Boom efekt se uporablja kot sistemični neselektivni herbicid za zatiranje enoletnega in večletnega plevela na strniščih, v sadovnjakih, vinogradih in na nekmetijskih površinah pa tudi v gozdnih nasadih. Za zatiranje enoletnih plevelov v odmerku od 2 do 3 l/ha. Pri zatiranju večletnih plevelov so odmerki odvisni od vrste: od 8 do 9 l/ha za zatiranje prstastega pesjaka (*Cynodon dactylon*), ko plevel doseže višino od 15 do 20 cm, od 6 do 8 l/ha za zatiranje njivskega slaka (*Convolvulus arvensis*) v času cvetenja, od 6 do 7 l/ha za zatiranje robide (*Rubus spp.*) v septembru in oktobru, 4 + 1 l/ha v deljeni (split) aplikaciji za zatiranje okrogle ostrice (*Cyperus rotundus*) v času cvetenja, od 3,5 do 5 l/ha za zatiranje divjega sirka (*Sorghum halepense*) v fazi metličenja, njivskega osata (*Cirsium arvense*), kodrolistne kislice (*Rumex crispus*), topolistne kislice (*Rumex obtusifolius*) in navadnega pelina (*Artemisia vulgaris*), ko plevel doseže 40 cm, ter navadnega regrata (*Taraxacum officinalis*) in od 2,5 do 3,5 l/ha za zatiranje plazeče pirnice (*Elymus repens*), ko doseže višino od 25 do 30 cm. Priporočena uporaba vode je od 100 do 200 l/ha. V gozdnih drevesnicah smreke in rdečega bora za zatiranje ozkolistnega in širokolistnega plevela v času mirovanja sadik v 1 % koncentraciji ob uporabi 400 l vode na hektar, ko tretiramo celo površino ali v času aktivne rasti v 2 % koncentraciji, ob uporabi 400 l vode na hektar, ko tretiramo med vrstami sadik in obvezno uporabljam ščitnik. V mladih nasadih iglavcev s tem pripravkom zatiramo olesenele plevele listavcev v 1,5 % koncentraciji ob porabi 300 l vode na hektar, ko tretiramo med vrstami sadik in se obvezno uporablja ščitnik. Za zatiranje koreninskih izrastkov in poganjkov iz štorov listavcev (hrast, gaber in bukev) v 15 % koncentraciji, s premazovanjem takoj po poseki, od maja do decembra.

Boom efekt lahko na enem zemljišču uporabljam samo enkrat v rastni sezoni. Potrebna je posebna pozornost, da ne zanesemo sredstva na sosednje posevke ali nasade. Zemljišča ne smemo obdelovati vsaj 60 dni pred in 28 dni po tretiranju. Na tretiranih površinah ne smemo pasti živine prav tako, ne smemo posušenih tretiranih rastlin uporabljati za krmo živine, ker je možna kontaminacija mleka. Pri tretiranju sadovnjakov in vinogradov ne smemo omočiti zelenih delov rastlin. Ne smemo tretirati sadovnjakov mlajših od dveh let in vinogradov mlajših od štirih let. Karenca za sadovnjake in vinograde je 35 dni. Mejna vrednost ostankov je v skladu s predpisi (FITO-INFO, 2015).

## 2.5.4 Dicotex

Aktivna snov (a.s.): 2,4-D (7,3 %), dikamba (2,3 %), MCPA (7,4 %) in mekoprop – P (4,4%)

Formulacija: vodotopni koncentrat

Dicotex se uporablja kot herbicid za zatiranje širokolistnega plevla na športnih in golf igriščih v odmerku 10 l/ha. Dicotex dobro zatira navadno marjetico (*Bellis perennis*), njivsko deteljo (*Trifolium arvensis*), plazečo deteljo (*Trifolium repens*), navadni regrat (*Taraxacum officinale*), navadni plešec (*Capsella bursapastoris*), navadno zvezdico (*Stellaria media*), dlakavo penušo (*Cardamine hirsuta*), njivski osat (*Cirsium arvense*), navadno korenje (*Daucus carota*), malo kisllico (*Rumex acetosella*), navadno kisllico (*Rumex acetosa*), navadno kurjo češnjico (*Anagallis arvensis*) in njivsko preslico (*Equisetum arvense*). Slabše zatira plazečo zlatico (*Ranunculus repens*), trpotec (*Plantago* sp.), navadni rman (*Achillea millefolium*), navadno črnoglavko (*Prunella vulgaris*), jetičnike (*Veronica* sp.), smiljko (*Cerastium* sp.), ptičjo dresen (*Polygonum aviculare*) in gomoljasto zlatica (*Ranunculus bulbosus*).

Dicotex-a ne smemo uporabljati na okrasnih trtah, javnih površinah, parkih, površinah namenjenih igri otrok in na travinju in pašnikih, ki so namenjeni za proizvodnjo. Tretirane trate se ne sme uporabljati za krmo živine. V eni rastni sezoni lahko Dicotex uporabimo samo enkrat na istem zemljišču, v času od začetka aprila do konca septembra. Od zadnje košnje mora miniti vsaj 5 dni, do naslednje pa najmanj 7 dni. Za učinkovito delovanje morajo biti pleveli dovolj razviti. Ne smemo ga uporabljati v času suše in ko je nevarnost padavin v naslednjih 24 urah po uporabi. Izhlapovanje lahko povzroči škodo na bližnjih rastlinah ali spremembo lastnosti ostalih sredstev. Paziti moramo, da ga ne nanesemo na sosednje rastline. Z uporabo pričnemo šele šest mesecev po setvi trate. Lahko ga mešamo z drugimi FFS, karenca je zagotovljena z načinom uporabe (FITO-INFO, 2015).

## 2.5.5 Fuego

Aktivna snov (a.s.): metazaklor (50 %)

Formulacija: koncentrirana suspenzija

Sredstvo Fuego uporabljamo kot selektivni talni herbicid za zatiranje nekaterih vrst širokolistnega in ozkolistnega plevla v ozimni oljni ogrščici v odmerku 1,5 l/ha pri porabi vode 200 do 400 l/ha. Tretiramo v fenološki fazi pred ali takoj po vzniku oljne ogrščice, do faze, ko ima oljna ogrščica razvita 2 lista (BBCH 00-12) ter pred vznikom plevela oziroma najpozneje do faze drugega lista plevela. V brokoliju, brstičnemu ohrovту, zelju, ohrovtu in cvetači tretiramo v odmerku 1,5 l/ha pri porabi vode od 200 do 400 l/ha. Tretiramo po presajanju sadik oziroma najpozneje, ko imajo gojene rastline razvite od 3 do 4 prave liste (BBCH 13-14), pred vznikom plevela oziroma najpozneje do faze, ko ima plevel dva lista.

Fuego dobro zatira mrtvo koprivo (*Lamium* spp.), kamilico (*Matricaria* spp.), navadni srakoperec (*Apera spicaventri*), drobnocvetni rogovilček (*Galinsoga parviflora*), krvomočnice (*Geranium* sp.), njivsko spominčico (*Myosotis arvensis*), breskovo dresen (*Polygonum persicaria*) in perzijski jetičnik (*Veronica* spp.), navadno zvezdico (*Stellaria media*) in njivski lisičji rep (*Alopecurus myosuroides*). Nekoliko slabše pa zatira njivski mošnjak (*Thlaspi arvense*) in navadni plešec (*Capsella bursa-pastoris*).

Fuego v odmerku 1 kg aktivne snovi/ha lahko na istem zemljišču uporabljam samo vsako tretje leto. Za učinkovito delovanje je dobro, če so tla vlažna. Ozimna žita ali ozimna oljna ogrščica se po obdelavi tal do 20 cm lahko seje 7 dni po tretiranju zemljišča s sredstvom Fuego. Poljščine pa ne smemo uporabljati za krmvo v obliki žita, za klajo ali slamo. Pred spomladansko setvijo moramo tretirano zemljišče obdelati vsaj 15 cm globoko. Listnatih vrtnin ne smemo sejati na tretirano zemljišče vsaj 6 mesecev. Karenca je zagotovljena s časom uporabe. Mejne vrednosti ostankov so v skladu s predpisi (FITO-INFO, 2015).

## 2.5.6 Goal

Aktivna snov: oksifluorfen (24 %)

Formulacija: koncentrat za emulzijo

Goal je selektivni herbicid, ki se uporablja pred in po vzniku plevela. V nasadih pečkarjev, koščičarjev in vinogradih starejših od 4 let se uporablja pri zatiranju enoletnega ozkolistnega in širokolistnega plevela pred vznikom oziroma, ko ti razvijejo od 2 do 3 liste, v odmerku od 3 do 4 l/ha in večletnega širokolistnega plevela, vključno z njivskim slakom (*Convolvulus arvensis*) in veliko koprivo (*Urtica dioica*), ko doseže višino od 40 do 50 cm, v odmerku od 3 do 4 l/ha. Zaradi boljše učinkovitosti se priporoča v kombinaciji s pripravki na osnovi a.s. glifosat (480 g/L) v razmerju 10:1, na primer 2 l sredstva na osnovi a.s. glifosat + 0,2 l sredstva Goal oziroma 3 l sredstva na osnovi a.s. glifosat + 0,3 l sredstva Goal jeseni ali spomladi na že razvit plevel. V mladih nasadih pečkarjev in koščičarjev (starejši od enega leta) in mladih nasadih vinske trte (od 3. rastne dobe naprej) Goal uporabljam za zatiranje enoletnega ozkolistnega in širokolistnega plevela, v odmerku od 3 do 4 l/ha. Tretiramo v fazi mirovanja sadnega drevja.

Na isti površini lahko uporabimo pripravek Goal samo enkrat v rastni sezoni in samo v pasovih blizu tal, od jeseni do zgodnje pomladi. Ne smemo ga uporabljati na peščenih, propustnih in erozivnih tleh. Ne smemo ga uporabljati v vročem in vetrovnem vremenu. Pozorni moramo biti na onesnaženje vodotokov, jezer, vodnjakov in izvirov. Tretirati moramo vsaj 20 m od njih, paziti moramo tudi, da ne omočimo zelenih delov gojenih rastlin (FITO-INFO, 2015).

### 2.5.7 Reglone 200 SL

Aktivna snov: dikvat dibromid (20 %)

Formulacija: vodotopni koncentrat

Reglone 200 SL je kontaktni neselektivni herbicid, ki ga uporabljamo za sušenje krompirjevke semenskega krompirja v odmerku 4 l/ha in jedilnega krompirja v odmerku 2,5 l/ha. Krompirjevko tretiramo, ko imajo gomolji želeno debelino oziroma 14 dni pred izkopom in skladiščenjem krompirja. Priporočena poraba vode je od 300 do 400 l/ha. Uporabljamo ga tudi za sušenje semenske lucerne in detelje v odmerku 3 l/ha. Tretiramo med biološko zrelostjo. Priporočena uporaba vode je od 300 do 400 l/ha.

Če krompir tretiramo prezgodaj lahko pride do ponovnega obraščanja. Tretirati moramo v jasnem in suhem vremenu. Tla ne smejo biti zasičena z vLAGO, če so razmere sušne pa je potrebno opraviti SMART test. Zaradi pojava rezistence ga lahko uporabljamo samo enkrat v rastni sezoni na istem zemljišču. Ne vpliva na naslednje posevke, paziti pa moramo, da na tretirano površino ne zaide živila. Paziti moramo, da ne omočimo zelenih delov rastlin, ki jih ne želimo tretirati. Karenca za semenski in jedilni krompir je 10 dni, za lucerno je zagotovljena s časom uporabe. Delovna karenca je tri dni, paša pa je prepovedana vsaj 28 dni na tretirani površini. Mejna vrednost ostankov je v skladu s predpisi (FITO-INFO, 2015).

### 2.5.8 Sencor SC 600

Aktivna snov: metribuzin (60 %)

Formulacija: koncentrirana suspenzija

Sencor SC 600 je selektivni herbicid za zatiranje enoletnega širokolistnega in nekaterih ozkolistnih plevelov v krompirju. Uporabljamo ga po sajenju pred vznikom krompirja v odmerku 0,75 l/ha. Pred vznikom lahko tretiramo enkrat v rastni dobi. Tretiramo lahko tudi po vzniku krompirja, ko je plevel v fazi kličnih listov do 2 razvitih pravih listov v odmerku 0,15 l/ha. Če plevel naknadno vznikne se tretiranje ponovi z enakim odmerkom. Interval med tretiranji mora biti vsaj od 10 do 14 dni. Drugo tretiranje se opravi najpozneje do stadija, ko ima rastlina na glavnem steblu razvitih devet listov (BBCH 19). Tretiramo lahko največ dvakrat v isti sezoni. Dobro zatira metlike (*Chenopodium* sp.), njivski slak (*Convolvulus arvensis*), rogovilčke (*Galinsoga* sp.), dresni (*Polygonum* sp.) in navadni grint (*Senecio vulgaris*).

Sredstvo lahko nanašamo samo s traktorsko škropilnico ali pršilnikom. Če posevek krompirja propade lahko na tretirano površino po preoravanju posejemo koruzo. Korenje lahko na tretirano površino sejemo po preoravanju vsaj 3 mesece po tretiranju. Štiri mesece po tretiranju pa ne smemo sejati kapusnic, pese, solate, kumar, lubenic in drugih gojenih rastlin. Karenca za krompir je 42 dni. Mejna vrednost ostankov je v skladu s predpisi (FITO-INFO, 2015).



**Slika 2:** Herbicidi uporabljeni v raziskavi (foto: J. Rupnik)

### 3 MATERIALI IN METODE DELA

Poskus smo opravili v Laboratoriju za fitomedicino, Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo na Oddelku za agronomijo, Biotehniške fakultete na Univerzi v Ljubljani, v letu 2014.

#### 3.1 HERBICIDI

V raziskavi smo uporabili osem različnih komercialnih pripravkov za zatiranje plevelov, ki so bili tedaj registrirani v Sloveniji. Herbicide smo izbrali glede na pogostost uporabe v Sloveniji, izbrali smo najbolj uporabljeni. Zanimalo nas je predvsem kako določena vrsta EO reagira v stiku z določenimi aktivnimi snovmi herbicidov. V preglednici je predstavljen podrobnejši opis uporabljenih pripravkov.

**Preglednica 1:** Herbidi uporabljeni v raziskavi, aktivna snov, % aktivne snovi in odmerki

Trgovsko ime	Aktivna snov (a.s.)	% a.i.	Odmerek na ha	Odmerek v poskusu na liter vode (ml)
Afalon	linuron	45	1,5 – 2,1 l	2,4
Basta-15	glufosinat-amonijeva sol	15	4 – 5 l	5,4
Boom efekt	glifosat	48	2 – 9 l	3
Dicotex	2,4-D	7,3	3 – 9 l	12
Fuego	metazaklor	50	10 l	1,8
Goal	oksifluorfen	24	3 – 4 l	4,2
Reglone 200 SL	dikvat dibromid	20	2,5 – 4 l	3
Sencor SC 600	metribuzin	60	0,15 – 0,75 l	0,9

#### 3.2 EO

Vse preučevane EO v poskusu so bile vzgojene z uporabo živih ličink voščene vešče (*Galleria mellonella*), ki smo jih parazitirali z EO (Bedding in Akhurst, 1975). Gre za t.i. metodo *in vivo*. Ličinke voščene vešče smo vzgojili v komori tipa RK-900 CH (proizvajalec Laboratorijska oprema Kambič, Semič, Slovenija) pri  $28 \pm 2$  °C in 60 % relativne zračne vlage (RV) pri 12 urni fotoperiodi (Laznik in Trdan, 2014).

V poskus so bile vključene štiri različne vrste EO. Komercialni pripravki Nemasy (a.s. *S. feltiae*), Nemasy C (a.s. *S. carpocapsae*), Nemasy L (a.s. *S. kraussei*) in Nemasy G (a.s. *H. bacteriophora*) so bile naročene pri podjetju Becker Underwood (Littlehampton, Velika Britanija). Uporabljene so bile le IL mlajše od dveh tednov. Shranjene so bile pri 4 °C in gostoti  $2500$  IL ml<sup>-1</sup> (Laznik in sod., 2012a). Pred začetkom raziskave smo določili vitalnost IL in uporabili le tiste, katerih vitalnost je znašala 95 % ali več (Laznik in Trdan, 2014).

### 3.3 PREIZKUS ZDRUŽLJIVOSTI

Vsi herbicidi so bili preizkušeni pri najvišji priporočeni koncentraciji. Raztopine herbicidov smo pripravili v vodi. V 15 ml pripravljene suspenzije herbicida s 120 % priporočeno koncentracijo smo dodali 3 ml suspenzije IL EO z gostoto 2500 IL ml<sup>-1</sup>. Dodana suspenzija EO je razredčila suspenzijo herbicida na priporočen odmerek (100 %) (Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014). Mešanico herbicida in EO smo odmerili v plastične petrijevke (40 x 10 mm, proizvajalec Kemomed d.o.o., Slovenija) in sicer po 3 ml mešanice v vsako petrijevko. IL v vsaki petrijevki so bile preštete pri vsakem koraku poskusa, pred dodatkom herbicida in takoj po mešanju. IL smo prešteli pod lupo. EO, ki so se premikale oz. niso bile iztegnjene so bile smatrane za žive. Vsako obravnavanje je bilo ponovljeno petkrat, celoten poskus smo ponovili trikrat. Kot kontrolo smo uporabili vodo. Petrijevke smo postavili v komoro tipa RK-900 CH (proizvajalec Laboratorijska oprema Kambič, Semič, Slovenija), v temo pri treh različnih temperaturah 15, 20 in 25 °C ter 70 % RV. Petrijevke so bile postavljene v vrste, vsako obravnavanje enega herbicida je bilo v eni vrsti. Izhlapevanje suspenzije je bilo pri vseh treh temperaturah zanemarljivo. Vitalnost IL inkubiranih v različnih herbicidih je bila ocenjena po 1, 4 in 24 urah izpostavljenosti. Ocenili smo jo tako, da smo iz vsake petrijevke odvzeli podvzorec 5 x 10 µl vsake ponovitve znotraj posameznega obravnavanja. V vsakem vzorcu in kontroli smo prešteli vsaj 100 IL. Tiste, ki se niso premikale tudi po dregljaju z iglo smo obravnavali kot mrtve.

### 3.4 STATISTIČNA ANALIZA

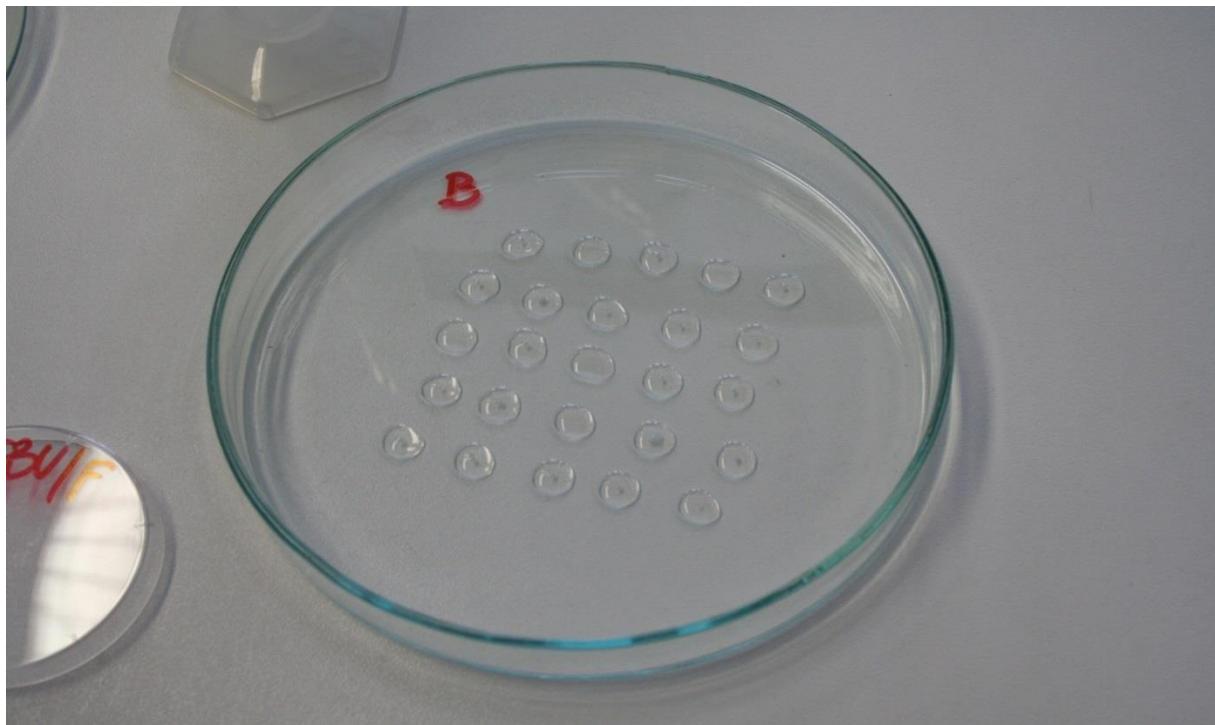
Pred statistično analizo so bili vsi podatki smrtnosti IL EO korigirani glede na smrtnost v kontroli (Abbott, 1925). Podatki smrtnosti IL so bili analizirani z enosmerno analizo variance (ANOVA) v programu Statgraphics Plus za Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.). Različne herbicide smo med seboj primerjali s Tukeyevim preizkusom mnogoterih primerjav pri  $\alpha = 0,05$ .



Slika 3: Nastavitev poskusa (foto: J. Rupnik)



Slika 4: Postavitev vzorcev v gojitveno komoro pri izbrani temperaturi (foto: J. Rupnik)



Slika 5: Priprava podvzorca v katerem smo šteli preživele IL (foto: J. Rupnik)



Slika 6: Štetje preživelih IL pod elektronsko lupo (foto: J. Rupnik)

## 4 REZULTATI

### 4.1 SPLOŠNA ANALIZA

Največji odstotek preživelih IL EO ( $P < 0,05$ ) je bil ugotovljen pri temperaturi 15 °C (po 1 uri:  $83,2 \pm 3,1\%$ ; po 4 urah:  $86,4 \pm 2,4\%$ ; po 24 urah:  $73,3 \pm 2,1\%$ ). Pri vseh treh vzorčnih časih je bila najvišja smrtnost IL ugotovljena pri 20 °C (po 1 uri:  $50,0 \pm 0,9\%$ ; po 4 urah:  $46 \pm 3,3\%$ ; po 24 urah:  $42,3 \pm 2,0\%$ ). Preračunane vrednosti korigirane smrtnosti so pokazale, da je glede na vse tri vzorčne čase izpostavljenosti herbicidom (po 1 uri:  $10,7 \pm 0,9\%$ ; po 4 urah:  $17,8 \pm 0,9\%$ ; po 24 urah:  $29,7 \pm 1,2\%$ ) najvišjo tolerantnost izpostavljenim herbicidom v našem poskusu pokazala EO *S. kraussei*. Kot najbolj občutljiva vrsta v naši raziskavi se je izkazala vrsta *S. carpocapsae*, ki je imela največji odstotek smrtnosti (po 1 uri:  $50,5 \pm 1,2\%$ ; po 4 urah:  $46,2 \pm 2,3\%$ ; po 24 urah:  $53,5 \pm 2,4\%$ ). Po štiriindvajset urni izpostavljenosti herbicidom med vrstama *S. kraussei* in *H. bacteriophora* ni bilo ugotovljenih statistično značilnih razlik ( $P = 0,4975$ ) v odstotku preživelih IL ( $70,3 \pm 1,2\%$ ;  $68,8 \pm 3,2\%$ ).

Preračunane vrednosti korigirane smrtnosti so pokazale, da je po enourni izpostavljenosti (preglednica 2) največ IL pognilo v a.s. linuron ( $47,8 \pm 2,2\%$ ) in metribuzin ( $42,4 \pm 4,1\%$ ). Najmanjši odstotek smrtnosti IL je bil ugotovljen v a.s. glifosat ( $20,9 \pm 1,1\%$ ) in dikvat dibromid ( $23,9 \pm 4,4\%$ ). Po štiriurni izpostavljenosti (preglednica 3) je bil odstotek smrtnosti IL v poskusu višji. Največja smrtnost IL je bila zabeležena v a.s. oksifluorfen ( $48,5 \pm 2,3\%$ ), glufosinat-amonijeva sol ( $45,8 \pm 3,1\%$ ), metribuzin ( $44,9 \pm 4,4\%$ ) in linuron ( $44,1 \pm 5,1\%$ ). Statistično značilno nižja smrtnost IL je bila ugotovljena pri izpostavljenosti EO a.s. dikvat dibromid ( $25,4 \pm 2,7\%$ ), glifosat ( $27,5 \pm 4,4\%$ ) in metazaklor ( $29,8 \pm 2,2\%$ ). Po štiriindvajset urni izpostavljenosti (preglednica 4) je bila smrtnost IL v poskusu najvišja. Preračunane vrednosti korigirane smrtnosti so pokazale, da je bil največji odstotek poginulih IL v a.s. oksifluorfen ( $70,9 \pm 1,3\%$ ). Najnižji odstotek poginulih IL je bil ugotovljen v a.s. dikvat dibromid ( $31,2 \pm 2,4\%$ ), glifosat ( $31,6 \pm 3,3\%$ ) in 2,4-D ( $34,8 \pm 6,2\%$ ).

**Preglednica 2:** Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po eno urni izpostavljenosti.

aktivna snov									
Vrsta T (°C)	linuron	glufosinat- amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metrib uzin	
Sf	15	77,7 e	38,3 cd	27,9 bc	38,6 cd	46,5 d	22,8 b	4,2 a	28,3 bc
	20	91,2 g	64,9 e	72,1 f	62,5 e	31,9 d	0,0 a	6,1 b	21,1 c
	25	99,2 e	59,4 d	7,8 b	0,0 a	24,3 c	0,0 a	12,8 b	55,1 d
Sc	15	44,4 d	42,8 d	28,9 bc	42,5 d	33,8 c	54,1 e	21,7 b	50,6 e
	20	48,6 b	62,0 c	66,5 c	93,6 f	42,5 b	79,8 d	87,7 e	76,6 d
	25	47,2 e	23,8 c	21,7 c	18,1 c	32,5 d	48,3 e	6,7 b	45,9 e
Sk	15	17,5 b	0,0 a	18,6 b	38,1 c	0,0 a	47,1 d	0,0 a	12,9 b
	20	63,4 g	54,2 f	19,0 b	44,3 d	34,4 c	48,5 e	38,8 c	53,7 ef
	25	44,8 cd	41,5 d	0,0 a	35,7 bcd	42,5 bcd	18,3 b	0,0 a	26,1 bc
H b	15	25,7 bc	33,8 cd	0,0 a	23,1 b	25,8 bc	35,2 d	25,5 bc	30,9 cd
	20	36,1 b	47,1 d	31,9 b	57,3 e	39,9 c	45,3 d	45,3 d	57,3 e
	25	35,8 b	39,9 b	1,2 a	50,1 c	58,5 c	32,4 b	51,2 c	45,5 bc

Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Vrednosti z oznako a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carposcae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

**Preglednica 3:** Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po štiri urni izpostavljenosti.

		aktivna snov							
Vrsta	T (°C)	linuron	glufosinat-amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metribuzin
Sf	15	49,8 e	46,2 e	9,7 b	28,9 d	13,1 bc	31,2 d	6,7 a	23,0 cd
	20	56,1 c	21,3 b	71,5 d	77,6 f	69,6 d	55,7 c	71,3 d	70,8 d
	25	84,8 d	56,0 c	18,5 b	0,0 a	0,6 a	15,2 b	14,6 b	55,5 c
Sc	15	43,8 d	51,3 e	30,9 c	12,2 b	40,3 d	58,7 f	19,1 b	36,2 cd
	20	15,0 b	41,2 c	71,7 d	88,7 f	41,6 c	90,3 f	82,4 e	88,4 f
	25	45,0 c	50,9 d	43,5 c	30,9 b	41,4 bc	65,8 f	37,2 b	59,4 e
Sk	15	33,7 d	43,2 d	10,0 b	37,1 d	6,3 b	48,7 e	0,0 a	23,9 c
	20	25,3 c	35,1 d	0,0 a	20,8 c	0,0 a	8,1 b	23,2 c	37,2 d
	25	50,4 cd	55,5 d	16,8 b	27,3 b	25,5 b	55,0 d	19,5 b	29,5 bc
Hb	15	39,9 e	28,2 d	14,5 bc	1,7 a	8,5 b	12,7 b	17,1 c	25,3 d
	20	33,9 b	60,2 ef	45,9 c	58,9 de	44,0 c	50,0 cd	41,9 c	64,5 f
	25	59,5 e	45,2 d	13,1 b	33,3 c	63,5 e	61,4 de	30,0 c	43,8 d

Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Vrednosti z označko a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; Sf – *Steinerinema feltiae*; Sc – *Steinerinema carpocapsae*; Sk – *Steinerinema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

**Preglednica 4:** Odstotek korigirane smrtnosti EO izpostavljenim različnim herbicidom pri različnih temperaturah po štiriindvajset urni izpostavljenosti.

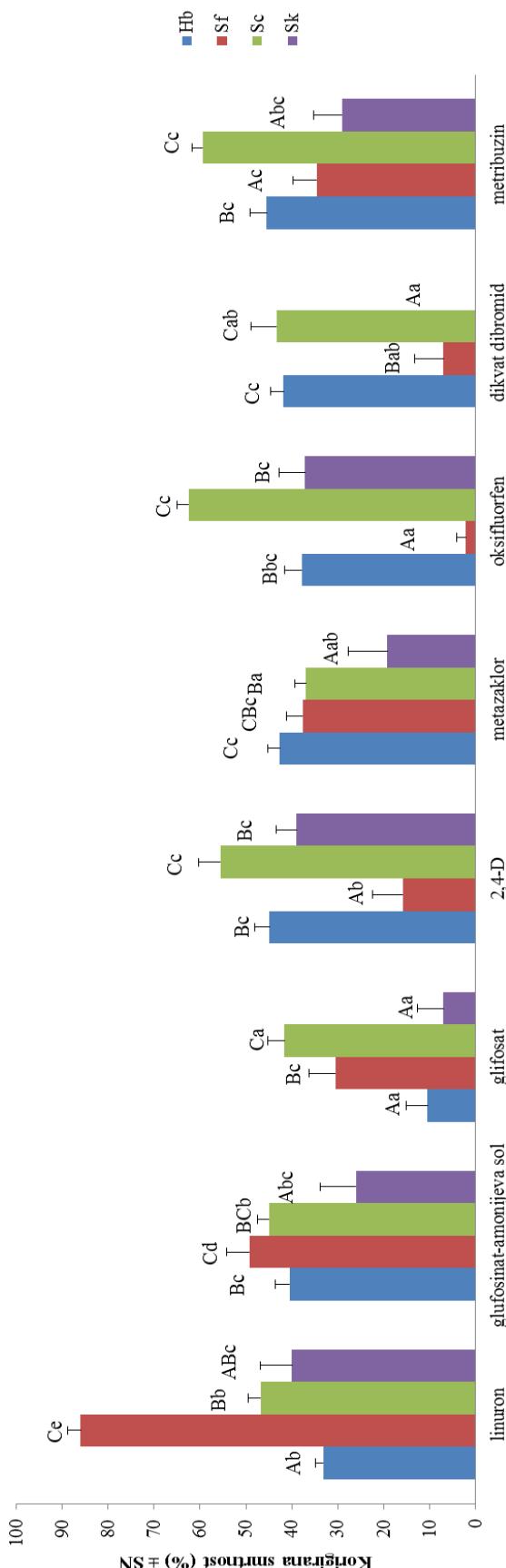
		aktivna snov							
Vrsta	T (°C)	linuron	glufosinat-amonijeva sol	glifosat	2,4-D	metazaklor	oksifluorfen	dikvat dibromid	metribuzin
Sf	15	27,4 b	51,0 c	25,1 b	26,3 b	66,2 d	27,8 b	42,5 c	49,4 c
	20	64,8 d	50,0 b	48,0 b	56,8 bc	66,6 de	62,1 cd	70,3 e	58,2 c
	25	89,2 f	0,0 a	0,0 a	5,2 b	80,0 e	2,8 b	24,2 c	66,8 d
Sc	15	38,4 d	35,3 c	32,2 cd	27,7 c	85,6 f	16,2 b	59,9 e	32,5 cd
	20	69,4 c	78,2 d	94,0 g	33,8 b	96,0 g	88,5 e	91,3 fg	33,3 b
	25	44,0 de	44,0 de	28,9 c	39,3 d	96,6 g	11,1 b	67,6 f	48,5 e
Sk	15	7,2 ab	44,2 c	46,0 c	16,0 b	61,4 d	0,0 a	41,7 c	13,3 b
	20	14,5 c	6,7 b	34,2 e	2,7 b	44,9 f	21,6 d	43,4 f	42,9 f
	25	77,9 ef	17,1 bc	12,9 b	33,6 d	77,6 f	18,0 b	27,9 c	58,3 e
Hb	15	30,8 c	18,3 b	35,5 c	61,0 e	51,6 d	50,8 d	47,4 d	57,0 de
	20	40,9 b	29,7 b	56,8 c	50,7 c	62,7 d	37,8 b	65,1 d	39,4 b
	25	55,9 de	18,1 b	41,8 c	67,6 f	56,2 de	48,0 cd	63,9 ef	42,2 c

Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Vrednosti z označko a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

#### 4.2 VRSTA *Heterorhabdus bacteriophora*

Po 1 uri in po 4 urah izpostavljenosti herbicidom ni bilo statistično značilnih razlik ( $P = 0,3781$ ) v odstotku preživelih IL pri temperaturi  $15^{\circ}\text{C}$  ( $67,5 \pm 1,9\%$ ;  $70,2 \pm 1,9\%$ ) in  $25^{\circ}\text{C}$  ( $70,1 \pm 3,2\%$ ;  $68,8 \pm 3,0\%$ ) (preglednica 2 in preglednica 4). Med vsemi tremi vzorčnimi časi je bila najvišja smrtnost IL ugotovljena pri  $20^{\circ}\text{C}$  (po 1 uri:  $63,8 \pm 2,2\%$ ; po 4 urah:  $57,3 \pm 2,5\%$ ; po 24 urah:  $51,9 \pm 2,1\%$ ) (preglednica 3). Po eno urni izpostavljenosti vsem preučevanim herbicidom pri vseh treh vzorčnih temperaturah je bila populacija živih IL EO statistično značilno nižja ( $P < 0,0001$ ). Odstotek mrtvih IL je znašal od  $10,4 \pm 4,6\%$  v a. s. glifosat do  $45,5 \pm 3,6\%$  v a.s. metribuzin (slika 7). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po statistični analizi podatkov, kjer smo preučevali vitalnost EO, ki so bile izpostavljene različnim herbicidom štiri ure (slika 8). A.s. glifosat je povzročila najnižjo smrtnost IL ( $24,8 \pm 4,8\%$ ). Največ IL je poginilo, ko smo jih pomešali z a.s. metribuzin ( $45,7 \pm 2,9\%$ ). Raziskava je potrdila podobne rezultate tudi po štiriindvajset urni izpostavljenosti herbicidom. Tudi tedaj je a. s. glifosat povzročila najmanjši odstotek smrtnosti IL ( $18,4 \pm 6,1\%$ ) medtem, ko je več IL poginilo v kombinaciji z a.s. metribuzin ( $59,2 \pm 3,7\%$ ), oksifluorfen ( $56,8 \pm 2,7\%$ ) in metazaklor ( $60,5 \pm 6,1\%$ ) (slika 9).

Odstotek korigirane smrtnosti EO *H. bacteriophora* izpostavljene različnim herbicidom lahko vidimo v preglednicah 2, 3 in 4. Interakcije med temperaturo, časom izpostavljenosti in posameznim herbicidom so bile v našem poskusu statistično značilne. A.s. glifosat ni vplivala na smrtnost IL po eni uri izpostavljenosti pri  $15^{\circ}\text{C}$  in  $25^{\circ}\text{C}$ . Pri  $20^{\circ}\text{C}$  se je odstotek preživelih IL v a.s. glifosat ( $31,9 \pm 1,1\%$ ) statistično značilno razlikoval od obravnavanja kontrola. Podobne ugotovitve smo zabeležili tudi za a. s. 2,4-D po štiriurni izpostavljenosti. Vsi ostali herbicidi uporabljeni v raziskavi so statistično značilno zmanjšali populacijo IL (preglednica 3). Po 24 urah so vsi uporabljeni herbicidi vplivali na preživetje IL EO (preglednica 4).

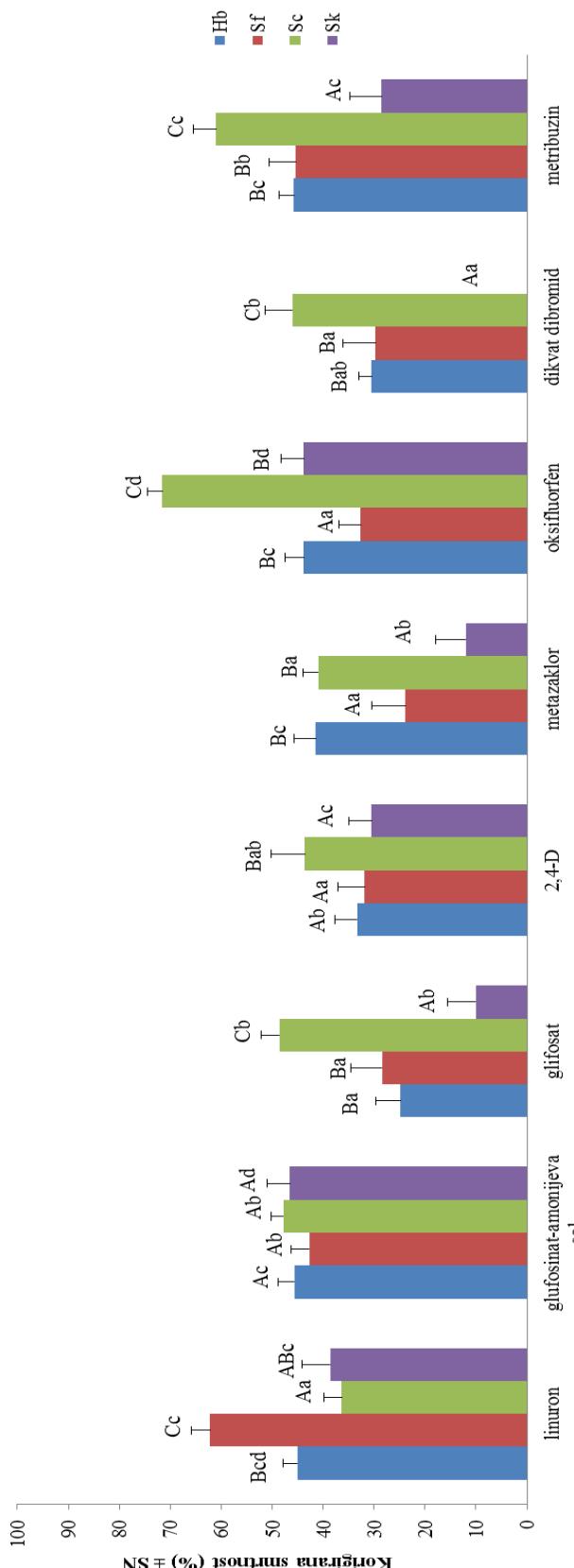


**Slika 7:** Korigirana smrtnost IL EO po eni uri izpostavljenosti herbicidom. Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Velike tiskane črke primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znatnoj posamezne aktivne snovi med vrstami EO, male tiskane črke pa primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znatnoj vrste EO med različnimi aktivnimi snovmi. Vrednosti z označko a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; Sf – *Steinernema feltiae*; Sc – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussei*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

#### 4.3 VRSTA *Steinernema feltiae*

Pri vseh treh vzorčnih časih je bil največji odstotek preživelih IL ugotovljen pri 15 °C (po 1 uri:  $90,9 \pm 3,2\%$ ; po 4 urah:  $94,4 \pm 1,7\%$ ; po 24 urah:  $84,8 \pm 2,8\%$ ) (preglednica 2). Najvišja smrtnost IL je bila ugotovljena pri temperaturi 20 °C (po 1 uri:  $31,2 \pm 1,5\%$ , po 4 urah:  $34,6 \pm 1,7\%$ , po 24 urah:  $44,9 \pm 1,7\%$ ) (preglednica 3). Po enourni izpostavljenosti a. s. oksifluorfen ni bilo statistično značilno zmanjšano število preživelih IL EO v primerjavi s kontrolo pri vseh treh vzorčnih temperaturah (slika 7). Vse preizkušene a. s. herbicidov so statistično značilno ( $P < 0,0001$ ) zmanjšale populacijo IL EO po štiriurni izpostavljenosti. Odstotki mrtvih IL so se gibali med  $23,8 \pm 6,4\%$  v a.s. metazaklor in  $62,2 \pm 3,6\%$  v a.s. linuron (slika 8). Po štiriindvajsetih urah izpostavljenosti le a.s. 2,4-D ni statistično značilno zmanjšala populacije IL pri vseh treh vzorčnih temperaturah ( $5,2 \pm 5,2\%$ ). Vsí ostali preizkušeni herbicidi, so statistično značilno ( $P < 0,0001$ ) zmanjšali populacijo IL, odstotek smrtnosti IL pa se je gibal od  $27,3 \pm 4,9\%$  v a.s. glifosat do  $69,8 \pm 2,3\%$  v a.s. oksifluorfen (slika 9).

Odstotek korigirane smrtnosti EO *S. feltiae* izpostavljene različnim herbicidom lahko vidimo v preglednicah 2, 3 in 4. Interakcije med temperaturo, časom izpostavljenosti in različnim herbicidom uporabljenim v raziskavi so statistično značilne. A.s. oksifluorfen ni statistično značilno zmanjšala populacije IL po 1 uri izpostavljenosti pri 20 °C in 25 °C (preglednica 2). Izpostavljenost IL v a.s. oksifluorfen pri 15 °C je po 1 uri povzročila  $22,8 \pm 1,3\%$  smrtnost, kar se statistično značilno razlikuje od kontrole. A.s. dikvat dibromid je pokazala šibek vpliv na preživetje IL po eni uri izpostavljenosti (preglednica 2), zato jo lahko smatramo kot herbicid, ki je skladen z vrsto *S. feltiae*. Na smrtnost IL v poskusu je najbolj vplivala a.s. linuron (pri 15 °C:  $77,7 \pm 2,7\%$ ; pri 20 °C:  $91,2 \pm 3,7\%$ ; pri 25 °C:  $99,2 \pm 0,8\%$ ) (preglednica 2). A.s. 2,4-D dokazano nima nikakršnega učinka na preživetje IL EO pri 25 °C pri vseh vzorčnih časih (preglednica 2, 3 in 4).

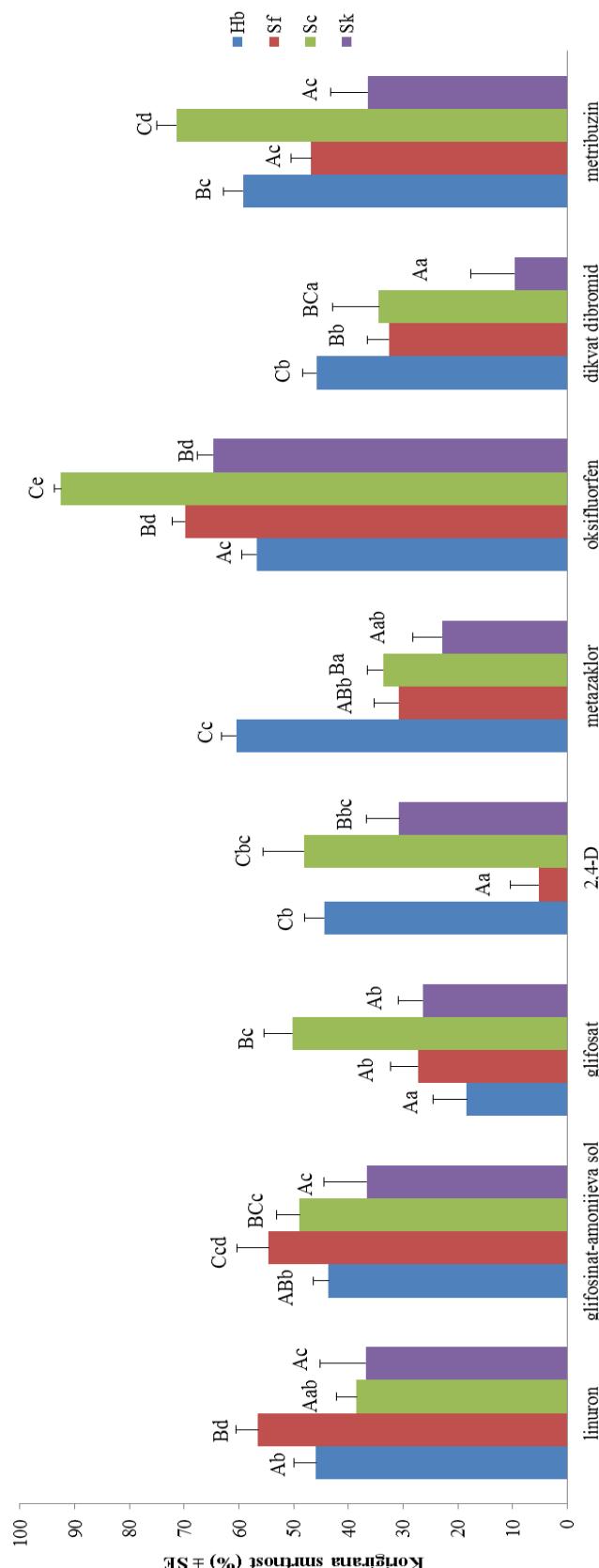


**Slika 8:** Korigirana smrtnost IL EO po štiri urni izpostavljenosti herbicidom. Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Veliike tiskane črke primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znotraj posamezne aktivne snovi med vrstami EO, male tiskane črke pa primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znotraj vrste EO med različnimi aktivnimi snovmi. Vrednosti z označko a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; Sf – *Steinernema carpocapsae*; Sk – *Steinernema kraussii*; Hb – *Heterorhabditis bacteriophora*.

#### 4.4 VRSTA *Steinernema carpocapsae*

Največ IL *S. carpocapsae* je preživelno pri temperaturi 15 °C (po 1 ur:  $64,3 \pm 1,9\%$ ; po 4 urah:  $72,2 \pm 2,2\%$ ; po 24 urah:  $68,8 \pm 3,2\%$ ) (preglednica 2). Najmanj IL *S. carpocapsae* je preživelno pri temperaturi 20 °C (po 1 ur:  $44,4 \pm 3,3\%$ ; po 4 urah:  $42,7 \pm 3,3\%$ ; po 24 urah:  $29,0 \pm 3,4\%$ ) (preglednica 3). Po enourni izpostavljenosti vsem herbicidom, uporabljenim v raziskavi, se je populacija statistično značilno zmanjšala ( $P < 0,0001$ ) pri vseh treh vzorčnih temperaturah (slika 7). Odstotek mrtvih IL se je gibal med  $36,9 \pm 2,4\%$  v a.s. metazaklor in  $62,5 \pm 2,5\%$  v a.s. oksifluorfen (slika 7). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po štiriurni izpostavljenosti herbicidom (slika 8). A.s. linuron je povzročila najmanjši odstotek smrtnosti IL ( $34,6 \pm 3,4\%$ ). Največji odstotek smrtnosti IL je povzročila a.s. oksifluorfen ( $71,6 \pm 2,9\%$ ) (slika 8). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po štiriindvajset urni izpostavljenosti. Najmanjši odstotek smrtnosti IL so povzročile a.s. metazaklor ( $33,6 \pm 2,9\%$ ), dikvat dibromid ( $34,4 \pm 8,5\%$ ) in linuron ( $38,5 \pm 3,7\%$ ). Največja smrtnost IL je bila ugotovljena v a.s. oksifluorfen ( $92,5 \pm 1,3\%$ ) (slika 9).

Odstotek korigirane smrtnosti EO *S. carpocapsae* izpostavljene različnim herbicidom lahko vidimo v preglednicah 2, 3 in 4. Po eni uri izpostavljenosti so vsi herbicidi statistično značilno zmanjšali odstotek preživelih IL ne glede na preučevano temperaturo (preglednica 2). A.s. dikvat dibromid je pri 15 °C in 25 °C povzročila najmanjši odstotek smrtnosti IL ( $21,7 \pm 2,1\%$ ;  $6,7 \pm 1,9\%$ ) (preglednica 2). V a.s. oksifluorfen je po štirih urah poginilo statistično značilno največ IL pri vseh preučevanih temperaturah (15 °C:  $58,7 \pm 2,3\%$ ; 20 °C:  $90,3 \pm 1,7\%$ ; 25 °C:  $65,8 \pm 4,1\%$ ) (preglednica 3). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po štiriindvajset urni izpostavljenosti, kjer je a.s. oksifluorfen povzročila največji odstotek smrtnosti pri vseh treh preučevanih temperaturah (preglednica 4).



**Slika 9:** Korigirana smrtnost IL EO po štirindvajsetih urah izpostavljenosti herbicidom. Vrednosti, ki jim sledijo različne črke so statistično različne ( $P < 0,05$ ). Velike tiskane črke primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znotraj posamezne aktivne snovi med vrstami EO, male tiskane črke pa primerjajo vrednosti korigirane smrtnosti znotraj vrste EO med različnimi aktivnimi snovmi. Vrednosti z označko a se statistično značilno ne razlikujejo s kontrolo; SF – *Steinernema feltiae*; SC – *Steinernema carpocapsae*; SK – *Steinernema kraussae*; HB – *Heterorhabditis bacteriophora*.

#### 4.5 VRSTA *Steinernema kraussei*

Vrsta *S. kraussei* je imela največji odstotek preživetja pri 15 °C pri vseh treh vzorčnih časih (po 1 uri:  $99,0 \pm 1,0\%$ ; po 4 urah:  $94,9 \pm 3,4\%$ ; po 24 urah:  $93,4 \pm 4,2\%$ ). Najmanjši odstotek preživelih IL smo opazili pri 20 °C (po 1 uri:  $50,5 \pm 2,2\%$ , po 4 urah:  $43,0 \pm 1,5\%$ ; po 24 h:  $43,1 \pm 1,5\%$ ). Po eni uri izpostavljenosti a. s. dikvat dibromid se populacija IL ni statistično značilno zmanjšala v primerjavi s kontrolo ( $0,0 \pm 0,0\%$ ) (slika 7). Vsi ostali preučevani herbicidi so statistično značilno ( $P < 0,0001$ ) zmanjšali populacijo IL (slika 7). Odstotki mrtvih IL so se gibali med  $6,9 \pm 5,6\%$  v a.s. glifosat in  $40,0 \pm 6,9\%$  v a.s. linuron (slika 7). Podobna opažanja smo potrdili tudi po štiriurni izpostavljenosti herbicidom (slika 8), kjer le a.s. dikvat dibromid ni vplivala na zmanjšanje populacije IL ( $0,0 \pm 0,0\%$ ) v primerjavi s kontrolo. Vsi ostali preizkušeni herbicidi so statistično značilno ( $P < 0,0001$ ) zmanjšali populacijo IL, odstotki smrtnosti pa so se gibali med  $10,0 \pm 5,6\%$  v a.s. glifosat in  $46,5 \pm 4,4\%$  v a.s. glifosinat-amonijeva soli (slika 8). Prav tako so vsi herbicidi, ki smo jih preizkusili pri vseh treh vzorčnih temperaturah po štiriindvajsetih urah izpostavljenosti statistično značilno ( $P < 0,0001$ ) zmanjšali populacijo preživelih IL (slika 9). Odstotek preživelih IL se je gibal med  $9,6 \pm 8,1\%$  v a.s. dikvat dibromid in  $64,7 \pm 2,8\%$  v a.s. oksifluorfen (slika 9).

Odstotki korigirane smrtnosti za IL *S. kraussei* so predstavljeni v preglednicah 2, 3 in 4. Interakcije med temperaturo, časom izpostavljenosti in posameznim herbicidom uporabljenim v raziskavi so statistično značilne. A.s. dikvat dibromid ni statistično značilno zmanjšala števila živih IL po eni uri izpostavljenosti pri temperaturah 15 °C in 25 °C (preglednica 2). Pri temperaturi 20 °C pa se je po eni uri izpostavljenosti a. s. dikvat dibromidu odstotek poginulih IL statistično značilno razlikoval od kontrole ( $38,8 \pm 2,6\%$ ). A.s. glifosat in metazaklor sta bili edini, ki pri 20 °C po 4 urah nista imeli učinka na populacijo živih IL (preglednica 3). A.s. dikvat dibromid dokazano nima nikakršnega učinka na populacijo IL pri 15 °C in pri vseh treh vzorčnih časih (preglednica 2, 3 in 4).

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V raziskavi smo želeli preučiti združljivost različnih kemičnih herbicidov s štirimi vrstami EO (*S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *H. bacteriophora*). Tako naša, kot tudi že nekatere predhodne raziskave (Rovesti in Deseö, 1990; De Nardo in Grewal, 2003; Laznik in Trdan, 2014) so potrdile, da je združljivost EO s FFS mogoča, a je odvisna od vrste EO. Raziskava je potrdila, da je vrsta *S. kraussei* najbolj tolerantna izmed vseh štirih preučevanih vrst EO. Najbolj občutljiva je bila vrsta *S. carpocapsae*. A.s. dikvat dibromid (herbicid Reglone 200 SL) ni imela vpliva na preživetje vrste *S. kraussei* pri 15 °C in pri vseh treh vzorčnih časih (po 1, 4 in 24-ih urah). Na preživetje vseh preostalih vrst EO v raziskavi je a.s. dikvat dibromid vplivala. Po eni uri izpostavljenosti se je pokazala združljivost vrste *S. feltiae* z a.s. oksifluorfen (herbicid Goal). Omenjena a.s. je vplivala na smrtnost vrst *S. carpocapsae* in *H. bacteriophora* že po eni uri izpostavljenosti.

Rezultati predhodnih raziskav (Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014) so pokazali, da je združljivost odvisna tudi od rase EO. *H. bacteriophora* rasa IH 145, ki je bila uporabljena v raziskavi Rovesti in sod. (1988) je pokazala združljivost z a.s. oksifluorfen in metribuzin (herbicid Sencor SC 600). Na preživetje komercialne rase *H. bacteriophora*, uporabljene v naši raziskavi, sta obe prej omenjeni a.s. vplivali. Ta dejstva potrjujejo teorijo, da združljivost EO in herbicidov ni odvisna samo od vrste temveč tudi od rase EO (Laznik in Trdan, 2014). Naša raziskava je poleg tega potrdila tudi rezultate predhodne raziskave (Rovesti in Deseö, 1990), kjer je bilo dokazano, da a.s. oksifluorfen vpliva na smrtnost vrste *S. carpocapsae*. Iz podatkov lahko sklepamo, da je komercialna rasa *S. carpocapsae* uporabljena v naši raziskavi sorodna rasi I95, ki sta jo uporabila Rovesti in Deseö (1990). Omenjeno trditev lahko potrdimo tudi s teorijo, ki sta jo postavila Stuart in Gaugler (1996). Omenjena teorija pravi, da je lahko odziv EO na biotične in abiotične dejavnike genetsko pogojen.

V našem poskusu je bilo dokazano, da temperatura vpliva na preživetje IL, če jih pomešamo s herbicidi. Pri 15 °C je bila smrtnost IL manjša, kot pri višjih temperaturah. Do podobnih rezultatov sta prišla tudi raziskovalca v sorodni raziskavi (Laznik in Trdan, 2014), ki sta preučevala skladnost EO z insekticidi. Znano je, da je aktivnost EO najvišja pri temperaturi med 18 °C in 22 °C (Gaugler, 2002; Laznik in sod., 2010). Občutljivost, odpornost ali toleranco, ki jo imajo EO na določen herbicid, si lahko razlagamo z zmožnostjo upiranja osmotskemu stresu (Finnegan in sod., 1999).

Skladnost EO z različnimi FFS je bila preučevana že v veliko laboratorijskih raziskavah (Rovesti in Deseö, 1990; Gordon in sod. 1996; De Nardo in Grewal, 2003; García-del-Pino in Morton, 2010; Laznik in Trdan, 2014). Rezultati vseh raziskav so pokazali, da je lahko velika variabilnost med FFS iz iste kemične skupine in njihova skladnost z EO vprašljiva. Prav takšen neželen rezultat je prineslo združevanje različnih ras iste vrste EO z različnimi FFS iz iste kemične skupine (Laznik in sod., 2012a; Laznik in Trdan, 2014). Naša raziskava je pokazala, da herbicidi negativno vplivajo na preživetje IL. Rezultati so potrdili, da

zdržljivost ni samo vrstno, temveč tudi rasno značilna lastnost, na katero vplivata tudi temperatura in čas izpostavljenosti. Kombinacija EO in herbicida bi lahko prihranila čas in denar pri skupnem zatiranju plevelov in škodljivcev na kmetijskih ali rekreativskih površinah.

## 5.2 SKLEPI

- (1) Rezultati naše raziskave so pokazali, da je vrsta *S. kraussei* najbolj primerna za mešanje s herbicidi, saj se je izmed vseh preučevanih vrst izkazala kot najbolj tolerantna na delovanje različnih a.s.
- (2) Pri 15 °C a.s. dikvat dibromid (herbicid Reglone 200 SL) ni imela vpliva na preživetje EO vrste *S. kraussei*.
- (3) Izmed preučevanih vrst EO je bila vrsta *S. carpocapsae* najbolj občutljiva na delovanje različnih a.s. s herbicidnim delovanjem.
- (4) Dokazana je bila združljivost vrste *S. feltiae* in herbicida Goal (aktivna snov oksifluorfen).
- (5) Kombinacija EO in herbicidov je mogoča, seveda pa moramo biti pri tem pozorni na okoljske dejavnike (temperatura) in čas izpostavljenosti EO herbicidu.
- (6) Združljivost EO s FFS je rasno značilna lastnost, zato moramo biti pozorni ne le pri izbiri vrste EO, temveč tudi rase.

## 6      POVZETEK

EO uporabljamo v varstvu rastlin, saj so znani naravni sovražniki (paraziti) rastlinskih škodljivcev (žuželk). V gostitelja vstopijo skozi njegove naravne odprtine, pokončajo pa ga zaradi simbioze z bakterijami, ki žive v nekakšni vrečki v njihovih prebavilih. V fitofarmacevtske namene so bile prvič uporabljeni že leta 1923. V Sloveniji se je podrobnejše preučevanje EO začelo v letu 2006. Odkrili so pet vrst EO: *Steinernema affine*, *Steinernema feltiae*, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema kraussei* in *Heterorhabdits bacteriophora*.

Sprva so se EO uporabljale le za zatiranje talnih škodljivcev. Raziskave, ki so bile opravljene v zadnjem času pa nakazujejo tudi možnost njihove uporabe pri zatiranju nadzemskih škodljivcev rastlin. Seveda moramo biti pri foliarni uporabi pozorni na biotske dejavnike, ki so prisotni nad zemljo in lahko negativno vplivajo na preživetje EO. Ti dejavniki so temperatura, vлага in UV sevanje.

EO veljajo za varne biotične agense, saj je njihovo delovanje ciljno. Tarčno napadajo žuželke in pri tem ne poškodujejo rastlin ali sesalcev. Žal ne napadajo samo škodljivcev ampak tudi koristne organizme (polonice, tenčičarice). Če jih uporabljamo v kratkih časovnih intervalih je vpliv na koristne organizme zanemarljiv. V dolgoletni uporabi niso pokazale nikakršnih škodljivih učinkov na okolje in na ljudi.

EO prenesejo kratkoročno izpostavljenost različnim kemičnim in tudi biotičnim (bakterije, virusi) FFS. Takšne kombinacije so zanimive predvsem v IVR, saj prihranijo čas in denar. Seveda je pred vsako uporabo kombinacij EO in FFS potrebno preizkusiti, če sta agens in sredstvo združljiva. Združljivost je vrstno in rasno specifična lastnost. Tako je lahko določeno kemično sredstvo smrtonosno za eno raso določene vrste EO, na druge pa nima nikakršnega vpliva. EO lahko na rastline nanašamo s skoraj vsemi komercialno dostopnimi pršilniki za nanos FFS ali gnojil.

V največji meri se uporabljajo EO pri zatiranju ogrcev različnih vrst. Pri tem so EO zelo uspešne in posledično je to področje eno bolj raziskanih. V Sloveniji se z uporabo EO rešuje problematika ogrcev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) in junijskega hrošča (*Amphimallon solstitialis*). Poleg ogrcev pa lahko z EO zatiramo tudi rilčkarje, košeninarje, gosenice in celo bramorje.

Naša raziskava je preučevala združljivost različnih vrst EO z različnimi kemičnimi herbicidi. Rezultati so pokazali, da je združljivost mogoča, a je odvisna od vrste in rase EO, nanjo pa vplivajo tudi drugi dejavniki npr. temperatura in čas izpostavljenosti določenemu herbicidu. Toleranca na herbicide in ostala FFS je tudi genetsko pogojena, tako lahko za določeno vrsto ali raso EO sklepamo, kako bo prenesla izpostavljenost kemičnemu sredству, če na primer vemo, da je genetsko sorodna neki drugi vrsti ali rasi EO, ki je bila že preizkušena v kombinaciji z določenim kemičnim sredstvom. EO *S. kraussei* so bile izmed vseh preučevanih vrst najbolj tolerantne na herbicide, najbolj občutljive pa so bile EO *S. carpocapsae*. Vrsta *S.*

*kraussei* je združljiva s herbicidom Reglone 200 SL pri 15 °C, vrsta *S. feltiae* pa je združljiva s herbicidom Goal.

Iz rezultatov dane raziskave lahko sklepamo, da je združljivost EO s herbicidi mogoča, pri čemer moramo nameniti posebno pozornost izbiri vrste in rase EO, ki jo želimo nanašati skupaj z določenim herbicidom. Pred uporabo moramo preizkusiti ali se komponenti ujemata ob nanosu pa bodimo pozorni na temperaturo. Ko se daljša čas izpostavljenosti EO določenemu herbicidu se navadno veča tudi odstotek piginulih EO.

## 7 VIRI

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267
- Bathon H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 421-434
- Bedding R.A., Akhurst R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21:109-110
- Boemare N.E., Akhurst R.J., Mourant R.G. 1993. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43: 249-255
- De Nardo E.A.B., Grewal P.S. 2003. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with pesticides and plant growth regulators used in glasshouse plant production. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 441-448
- Ehlers R.-U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56: 523-633
- Farag N.A. 2002. Impact of two entomopathogenic nematodes on the ladybird, *Coccinella undecimpunctata* and its pray, *Aphis fabae*. *Annals of Agricultural Science*, 47: 431-443
- Finnegan M.M., Dawnes J.D., O'Regan M., Griffin C.T. 1999. Effect of salt and temperature stresses on the survival and infectivity of *Heterorhabditis* spp. *IJs. Nematology*, 1: 69-78
- FITO-INFO: Slovenski informacijski sistem za zdravstveno varstvo rastlin. 2015.  
<http://www.fito-info.si> (20. 11.2015)
- García-del-Pino F., Morton A. 2010. Synergistic effect of the herbicides glyphosate and MCPA on survival of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 20: 483-488
- Gaugler R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. New Jersey, CABI Publishing: 373 str.
- Georgis R., Kaya H.K., Gaugler R. 1991. Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on nontarget arthropods. *Environmental Entomology*, 20: 815-822

- Glaser R.W., Farrell C.C. 1935. Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite. *Journal of New York Entomological Society*, 43: 345
- Gordon R., Chippett J., Tilley J. 1996. Effects of 2 carbamates on infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* All strain and *Steinernema feltiae* Umea strain. *Journal of Nematology*, 28: 310-317
- Grewal P.S., Ehlers R.-U., Shapiro-Ilan D.I. 2005. Nematodes as biocontrol agents. Wallingford, UK, CABI Publishing: 505 str.
- Kaya H.K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38: 181-206
- Koppenhöfer A.M., Grewal, P.S. 2005. Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. *Nematodes as biocontrol agents*, Grewal, P.S., Ehlers, R.-U. in Shapiro-Ilan, D.I. (ur.) (eds.). Wallingford, CABI: 363-381
- Laznik Ž., Trdan S. 2011. Entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) in Slovenia: from tabula rasa to implementation into crop production systems. *Insecticides – pest engineering*. Peerven F. (ed.). Intech, Rijeka, Croatia: 627-656
- Laznik Ž., Trdan S. 2014. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. *Pest Management Science*, 70: 784-789
- Laznik Ž., Trdan S. 2015. Failure of entomopathogens to control white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B*, 65: 95-108
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2008. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. *Acta agriculturae Slovenica*, 91: 351-359
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2010. Control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on potato under field conditions: a comparison of the efficacy of foliar application of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiametoxam. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 117: 129-135
- Laznik Ž., Vidrih M., Trdan S. 2012a. Effect of different fungicides on viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae* Weiser and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin & Burnell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72: 62-67

- Laznik Ž., Vidrih M., Vučajnk F., Trdan S. 2012b. Is foliar application of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) an effective alternative to thiametoxam in controlling cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* [L.]) on winter wheat. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10: 716-719
- Lello E.R., Patel M.N., Mathews G.A., Wright D.J. 1996. Application technology for entomopathogenic nematodes against foliar pests. *Crop Protection*, 15: 567-574
- Milevoj L. 2011. Biotično zatiranje škodljivcev v zavarovanih prostorih. Ljubljana, Fitosanitarna uprava RS: 84 str.
- Nguyen K.B., Hunt D.J. 2007. Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacterial symbionts. *Nematology monographs and perspectives*. Nguyen K.B., Hunt D.J. (eds.). Leiden, Boston, Brill: 816 str.
- Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin. 2006. Uradni list Republike Slovenije št. 45/06
- Rojht H., Kač M., Trdan S. 2009. Nontarget effect of entomopathogenic nematodes on larvae of twospotted lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) and green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*, 102: 1440-1443
- Rovesti L., Heinzpeter E.W., Tagliente F., Deseö, K.V. 1988. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica*, 34: 462-476
- Rovesti L., Deseö K.V. 1990. Compatibility of chemical pesticides with entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, 36: 237-245
- Stuart R.J., Gaugler R. 1996. Genetic adaptation and founder affect in laboratory populations of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri*. *Canadian Journal of Zoology*, 74: 164-170
- Trdan S., Žnidarčič D., Vidrih M. 2007. Control of *Frankliniella occidentalis* on glasshouse-grown cucumbers: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* and spraying with abamectin. *Russian Journal of Nematology*, 15: 25-34
- Zakon o zdravstvenem varstvu rastlin. 2001. Uradni list Republike Slovenije št. 45/01

## ZAHVALA

Najprej se globoko zahvaljujem svojemu mentorju doc. dr. Žigi Lazniku za vso nesebično pomoč, potrpežljivost, napotke in spodbudo, ki mi jo je nudil vseskozi nastajanje mojega magistrskega dela.

Za slikovno gradivo gre zahvala Jaki Rupniku.

Zahvaljujem se tudi svojima staršema, ki sta mi študij finančno omogočila in mi vseskozi stala ob strani.

Prav posebno zahvalo pa namenjam moji mali Diani, ki je vselej potrpežljivo počakala, da sem končala s pisanjem. Za podporo in spodbudo se zahvaljujem tudi svojemu partnerju.