

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andreja BRGLEZ

**PREIZKUŠANJE RAZLIČNIH BIOTIČNIH
NAČINOV ZATIRANJA OGRCEV (Scarabaeidae) NA
NARAVNEM TRAVNIKU V GOTENICI**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andreja BRGLEZ

**PREIZKUŠANJE RAZLIČNIH BIOTIČNIH NAČINOV ZATIRANJA
OGRCEV (Scarabaeidae) NA NARAVNEM TRAVNIKU V GOTENICI**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja

**TESTING OF DIFFERENT BIOLOGICAL AGENTS FOR
CONTROLLING WHITE GRUBS (Scarabaeidae) ON NATURAL
MEADOW IN GOTENICA**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2017

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Poskus smo izvedli na naravnem travniku v vasi Gotenica, občina Kočevje.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Stanislava TRDANA in za somentorico doc. dr. Damijano KASTELEC.

Komisija za oceno in zagovor:

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

Član: prof. dr. Stanislav TRDAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: izr. prof. dr. Damijana KASTELEC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Matej VIDRIH
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je magistrsko delo rezultat lastnega raziskovalnega 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 preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Andreja BRGLEZ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2
 DK UDK 632.937:633.2:632.76(497.4 Gotenica)(043.2)
 KG biotično varstvo rastlin/ogrci/junijski hrošč/*Amphimallon solstitiale*/Scarabaeidae/
 naravno travinje/Gotenica/talni izkopi/poljski poskus/*Beauveria brongniartii*/
Beauveria bassiana/*Heterorhabditis bacteriophora*/*Bacillus thuringiensis* var.
kurstaki/*Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*
 AV BRGLEZ, Andreja
 SA TRDAN, Stanislav (mentor), KASTELEC, Damijana (somentorica)
 KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Magistrski
 študijski program 2. stopnje Agronomija
 LI 2017
 IN PREIZKUŠANJE RAZLIČNIH BIOTIČNIH NAČINOV ZATIRANJA OGRCEV
 (Scarabaeidae) NA NARAVNEM TRAVNIKU V GOTENICI
 TD Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
 OP X, 47, [8] str., 7 pregl., 5 sl., 10 pril., 53 vir.
 IJ sl
 JI sl/en
 AI V letu 2013 smo na naravnem travniku v Gotenici preučevali učinkovitost biotičnih
 pripravkov in njihove kombinacije pri zatiranju ogrcev, ličink iz družine
 Scarabaeidae. Poskus smo zasnovali v 5 blokih in znotraj vsakega bloka smo imeli
 10 različnih obravnavanj. Poskusna enota je bila parcela velikosti 35 m² (5 x 7 m).
 Uporabili smo biotične pripravke na podlagi entomopatogenih gliv *Beauveria*
brongniartii (Melocont Pilzgerste) in *Beauveria bassiana* (Naturalis),
 entomopatogene ogorčice *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemasys G) in
 entomopatogenih bakterij *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Delfin WG) in var.
tenebrionis (Novodor FC). V vsakem bloku smo imeli kontrolno obravnavanje brez
 uporabe pripravkov. Enkrat mesečno smo med aprilom in novembrom naredili talne
 izkope (50 x 50 cm, 25 cm globoko), ogrcem vizualno določili vrsto in jih prešteli
 po razvojnih stopnjah (L₁, L₂, L₃) in stadijih (imago in buba). Po izvedbi poskusa
 ne moremo potrditi, da bi kateri od biotičnih pripravkov ali njihovih kombinacij
 signifikantno izstopal (bil učinkovitejši od ostalih pripravkov) pri zatiranju ogrcev.
 Za uspešno zatiranje ogrcev je najprej potrebno določiti zastopanost vrst ogrcev na
 območju in na podlagi rezultatov determinacije izbrati biotični pripravek, ki
 najučinkoviteje deluje na problematično vrsto ogrcev na izbranem območju.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2
 DC UDC 632.937:633.2:632.76(497.4 Gotenica)(043.2)
 CX biological control/grubs/*Amphimallon solstitiale*/European June beetle/Scarabaeidae/permanent grassland/Gotenica/field experiment/soil excavation/*Beauveria brongniartii*/*Beauveria bassiana*/*Heterorhabditis bacteriophora*/*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*/*Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*
 AU BRGLEZ, Andreja
 AA TRDAN, Stanislav (supervisor), KASTELEC, Damijana (co-advisor)
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy, Master Study Programme in Agronomy
 PY 2017
 TI TESTING OF DIFFERENT BIOLOGICAL AGENTS FOR CONTROLLING WHITE GRUBS (Scarabaeidae) ON NATURAL MEADOW IN GOTENICA
 DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
 NO X, 47, [8] p., 7 tab., 5 fig., 10 ann., 53 ref.
 LA sl
 AL sl/en
 AB In 2013, we investigated the effectiveness of different biological control agents and their combinations for the suppression of white grubs, the larvae of scarab beetles (Coleoptera: Scarabaeidae), on natural meadow in Gotenica. Experiment was conducted in 5 blocks and within each block we had 10 different treatments. The experimental unit was a plot of 35 m² (5 x 7 m) in size. We used the biological control agents based on entomopathogenic fungi *Beauveria brongniartii* (Melocont Pilzgerste) and *Beauveria bassiana* (Naturalis), entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemasys G) and entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Delfin WG) and var. *tenebrionis* (Novodor FC). In each block we had also a control treatment. Once a month between April and November we made soil excavations (50 x 50 cm, 25 cm deep) to visually determined the species of white grubs and count them by their developmental stages (L₁, L₂, L₃, pupa and adult). At the end of experiment we can not confirm whether any biological control agents or their combinations are more effective in controlling white grubs. For the successful suppression of white grubs it is first necessary to determine the occurrence of the white grubs species in the area and based on such results to choose biological control agents, which efficiently control the problematic white grubs species on selected area.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE	X
1 UVOD	1
1.1 PREDSTAVITEV IZHODIŠČA	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE	2
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 POLJSKI MAJSKI HROŠČ (<i>Melolontha melolontha</i> [L.])	3
2.1.1 Morfologija in bionomija	3
2.1.2 Gostiteljske rastline	4
2.1.3 Spremljanje ogrcev z namenom prognoze njihovega pojava	5
2.1.4 Naravni sovražniki	5
2.2 JUNJSKI HROŠČ (<i>Amphimallon solstitiale</i> [L.])	6
2.3 GOZDNI MAJSKI HROŠČ (<i>Melolontha hippocastani</i> [L.])	7
2.4 JULJSKI HROŠČ (<i>Anomala dubia</i> [Scopoli])	7
2.5 NAČINI ZATIRANJA OGRCEV	7
2.5.1 Entomopatogene glive	9
2.5.1.1 <i>Beauveria brongniartii</i> [Saccardo] Petch.	11
2.5.1.2 <i>Beauveria bassiana</i> [Bals.-Criv.] Vuill.	12
2.5.2 Entomopatogene ogorčice	14
2.5.2.1 <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [G. O. Poinar]	17
2.5.3 Entomopatogene bakterije	18
2.5.3.1 <i>Bacillus thuringiensis</i> [Berliner 1915]	18
2.5 TRAVINJE	20
2.5.1 Škoda na travinju	21
3 MATERIAL IN METODE	24
3.1 OPIS OBMOČJA IZVEDBE POSKUSA	24
3.2 OPIS IZVEDBE POSKUSA	24
3.3 UPORABLJENI MATERIALI	27
3.3.1 Melocont Pilzgerste	27
3.3.2 Naturalis	27
3.3.3 Delfin WG	27
3.3.4 Novodor FC	27
3.3.5 Nemasys G	28
3.4 STATISTIČNA ANALIZA	29
4 REZULTATI	30
4.1 OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L ₁	31
4.2 OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L ₂	33

4.3	OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L3	35
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	37
5.1	RAZPRAVA	37
5.2	SKLEPI	39
6	POVZETEK	41
7	VIRI	43
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Gostiteljske drevesne vrste odraslih osebkov poljskega majskega hrošča glede na preferenco hranjenja (Huiting in sod., 2006)	5
Preglednica 2: Povprečna temperatura zraka (°C), povprečna najnižja in najvišja temperatura zraka (°C) ter količina padavin (mm) za meteorološko postajo Kočevje v letu 2013 (ARSO, 2016)	24
Preglednica 3: Načrt poskusa po blokkih in s termini vzorčenja	25
Preglednica 4: Obravnavanja v poskusu s prikazom kombinacij biotičnih sredstev	28
Preglednica 5: Rezultati analize ANOVA za število ogrcev v tleh na m ² glede na čas vzorčenja, obravnavanje in njuno interakcijo	30
Preglednica 6: Ocene razlik povprečja korena števila ogrcev po mesecih vzorčenja, pripadajoče standardne napake razlik in p-vrednosti pri ogrcih L ₁	32
Preglednica 7: Ocene razlik povprečja korena števila ogrcev med junijem in majem, pripadajoče p-vrednosti in razlike povprečnega števila ogrcev dobljene z inverzno transformacijo za razvojno stopnjo L ₃ za vse pripravke	36

KAZALO SLIK

Slika 1:	Ogrc junijskega hrošča (<i>Amphimallon solstitial L.</i>) (foto: S. Trdan, 2013)	Str. 6
Slika 2 :	Poškodbe travne ruše zaradi ritja divjega prašiča (<i>Sus scrofa L.</i>) (foto: S. Trdan, 2012)	22
Slika 3:	Število ogrcev razvojne stopnje L_1 v tleh (na m^2) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin	31
Slika 4:	Število ogrcev razvojne stopnje L_2 v tleh (na m^2) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin	33
Slika 5:	Število ogrcev razvojne stopnje L_3 v tleh (na m^2) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin	35

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A: Število ogrcev različnih razvojnih stopenj v tleh na m² pred začetkom poskusa, marec 2013
- PRILOGA B: Povprečja in standardne napake za število ogrcev v tleh na m² v vseh razvojnih stopnjah glede na čas vzorčenja in obravnavanje
- PRILOGA C: Slikovni prikaz izvedbe poskusa
- Priloga C 1: Naravni travnik v Gotenici, na katerem je potekal poskus z zakoličenimi mejami posameznih blokov (foto: S. Trdan, 2013)
- Priloga C 2: Vsejavanje ječmenovega zrnja z biotičnimi pripravki (foto: J. Rupnik, 2013)
- Priloga C 3: Vsejavanje steriliziranega ječmenovega zrnja z biotičnimi pripravki v tla (foto: J. Rupnik, 2013)
- Priloga C 4: Nanos entomopatogenih ogorčic (foto: S. Trdan, 2013)
- Priloga C 5: Štetje ogrcev v talnem izkopu (foto: J. Rupnik, 2013)
- Priloga C 6: Ogrci v talnem izkopu (foto: S. Trdan, 2013)
- Priloga C 7: Ogrci junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* L.) in julijskega hrošča (*Anomala dubia* Scopoli.) ter odrasel osebek poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) (foto: S. Trdan, 2013)
- Priloga C 8: Jajčeca majskega hrošča (*Melolontha* spp.) in bube junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* L.) (foto: S. Trdan, 2013)

OKRAJŠAVE

IL	infektivna ličinka
IZ	interval zaupanja
max	maksimalno
min	minimalno
povpr.	povprečje
T	Temperatura

1 UVOD

1.1 PREDSTAVITEV IZHODIŠČA

Talni škodljivci so v Srednji Evropi pomembna skupina rastlinam škodljivih organizmov. Ličinke hroščev iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae) - poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* [L.], gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani* [F.]), junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* [L.]) in vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola* [L.]) – imenujemo ogrci in povzročajo v Srednji Evropi precejšnjo škodo (Keller in Zimmermann, 2005). Ogrci se prehranjujejo s koreninami travne ruše. Ob prerazmnožitvah predstavljajo gospodarsko pomembne škodljivce na travinju. Neposredna škoda se kaže v zmanjšanju sposobnosti trav za sprejem vode in hranil ter zmanjšani stabilnosti travnega pokrova (Laznik in sod., 2013). Brez povezave med koreninami trave in tlemi se travna ruša lahko dvigne. V obdobju nenehnega deževja so tako nagnjena zemljišča ogrožena zaradi erozije (Benker in Leuprecht, 2005).

Na pašnikih so poškodbe travne ruše vidne v ogolitvah in lahko povzročajo zdrsne poškodbe pašnih živali. Ob zmanjšanju koreninskega spleta travna ruša rumeni, propada, njen videz je okrnjen, zmanjšana je pohodnost. Ob večji prerazmnožitvi ogrcev so prizadete večje sklenjene površine, ki jih je potrebno obnoviti. Posredno škodo na travinju povzročajo tudi sesalci (npr. divji prašič *Sus scrofa* [L.]) ali ptiči, ki v travni ruši iščejo ogrce za lastno prehrano ter tako povzročajo raztrganine in naluknjanost travnega pokrova (Laznik in sod., 2013).

Zatiranje ogrcev je dokazano zelo težavno. Uspešno se lahko zatirajo le v obdobju od maja do junija, ko prilezejo do območja korenin in se z njimi prehranjujejo (Huiting in sod., 2006). Za zatiranje talnih škodljivcev na njivah je v Sloveniji trenutno registriran samo en insekticidni pripravek (aktivna snov teflutrin), ki ga na travinju ne smemo uporabiti (Laznik in sod., 2013). Večji kot so ogrci (L_2 in L_3), manjša je navadno učinkovitost njihovega zatiranja. To velja za mehansko, biotično ali kemično zatiranje (Poženel, 2007). Kombinacija različnih biotičnih sredstev velja za učinkovitejšo od uporabe samo enega biotičnega načina zatiranja ogrcev (Koppenhöfer in Kaya, 1997).

V Sloveniji je na območju Idrijskega med letoma 2002 in 2006 prišlo do prerazmnožitve populacije poljskega majskega hrošča. Na celotnem zatravljenem območju je bilo v letu 2005 povprečno 226 ogrcev L_2/m^2 , kar je povzročilo uničenje travne ruše na 62 % vseh travnikov (Poženel, 2007). V travniških tleh je kritično število ogrcev 20 osebkov na m^2 (Horber, 1954, cit. po Laznik in Trdan., 2015). Ravno občutljivost kraškega površja in tudi podzemlja na območju Črnega vrha nad Idrijo, ki preprečuje kemično zatiranje ogrcev, vedno več strokovnjakov vidi možnost zatiranja v biotičnem varstvu. Planota je namreč širše vodovarstveno območje s prepustnimi tlemi nad vodnimi viri mesta Idrija (Poženel, 2007).

1.2 NAMEN RAZISKAVE

Namen naloge je bil ugotoviti, kateri biotični pripravek (aktivne snovi *Beauveria brongniartii*, *B. bassiana*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*) je najučinkovitejši pri zatiranju ogrcev v tleh na preučevanem območju. S kombinacijo biotičnega pripravka na osnovi entomopatogene ogorčice *H. bacteriophora* in drugih biotičnih pripravkov smo želeli preveriti ali imajo takšne kombinacije vpliv na večjo smrtnost izpostavljenih ogrcev.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Z uporabo biotičnih pripravkov in njihovimi kombinacijami z entomopatogenimi ogorčicami smo želeli zmanjšati število ogrcev na travniku pod prag gospodarske škode (ogrci 1. stopnje [L_1]: 30-40 ogrcev/m², ogrci 2. stopnje [L_2]: 20-30 ogrcev/m², ogrci 3. stopnje [L_3]: 10-20 ogrcev/m² (Horber, 1954, cit. po Laznik in Trdan., 2015; Huiting in sod., 2006)).

2 PREGLED OBJAV

2.1 POLJSKI MAJSKI HROŠČ (*Melolontha melolontha* [L.])

Poljski majski hrošč je v Sloveniji endemičen škodljivec in navadno ne povzroča velike gospodarske škode (Celar in Kos, 2011). Prvi pisni podatek o večji gospodarski škodi je iz leta 1993 na območju Logatca. Razlog prerazmnožitve je bil v zatavljenju njivskih zemljišč, saj tako ni bil moten razvojni krog vsaj dveh rodov škodljivca. Populacija poljskega majskega hrošča ima v Sloveniji triletni razvojni krog z različnim zaporedjem pojavljanja na različnih območjih (Poženel, 2007).

2.1.1 Morfologija in bionomija

Odrasel hrošč (imago) meri v dolžino 25-30 mm, ima temno glavo, črn vratni ščit, prekrit s kratkimi dlačicami in ima rdečerjava krila s 4 vzdolžnimi progami. Po trebuhu so hrošči temni in imajo podaljšan ter sploščen zadek. Pahljačaste kijaste tipalke so pri samcih bolj razvite kot pri samicah (Huiting in sod., 2006). Samci imajo kij sestavljen iz sedmih večjih lističev, samice pa iz šestih manjših. Na bočnih straneh zadka so bele trikotne pege, noge in tipalke so rdečerjave barve. Pigodij (zadek) je dolg in se proti vrhu enakomerno oži (Vrabl, 1992).

Odrasli osebki se pojavijo v drugi polovici aprila in v začetku maja (Keller in sod., 1999). Prvi hrošči, ki zlezejo iz tal, so samci. Letati začnejo zvečer, ko se zmrači. Najprej se usmerijo proti bližnjim gozdovom ali posameznim drevesom, kjer se prehranjujejo. Po 10-15 dneh samice spolno dozori, se pari in letijo nazaj do njiv in travnikov, kjer se zarijejo v tla in odložijo jajčeca v skupine po 10 do 30. Jajčeca odložijo v globoka, rahla, s humusom bogata in sončna tla (stara preslegasta deteljišča, lucernišča ali travnike, redke ozimine, zapleveljene ledine in podobno), na globino 15-25 cm. Redko odložijo jajčeca v mlade nasade koruze, pese ali krompirja. Odložena jajčeca je težko najti, ker jamico velikokrat zasuje prhka prst. Jajčeca so ovalne oblike in merijo 2 x 3 mm. Z vpijanem vode se večajo. Po 4-6 tednih se izležejo ličinke. Za optimalen razvoj jajčec morajo imeti tla ustrezno temperaturo (18 °C) ter vlago (več kot 20 % vlage), ne smejo pa biti preveč mokra. Ko izležejo jajčeca, veliko samic pogine. Nekatere pa v enem letu tudi trikrat ležejo jajčeca. Odrasli hrošči so nočni letalci in zato se v zgodnjih toplih poletnih večerih velikokrat zaletijo v osvetljena okna. Hranijo se na listih in cvetovih mnogih listopadnih drevesnih vrst, grmičevja ter na ostalih rastlinah. Redko pa povzročijo kakšno resno škodo (Huiting in sod., 2006).

Po 6 tednih se iz jajčec izležejo ličinke (ogrci), ki so belkaste barve in zaobljene oblike. Imajo velike glave z močnimi čeljustmi ter dobro razvite, dlakave, rumene noge. Takoj po izleganju se do jeseni hranijo z drobnimi koreninicami, vendar ne povzročajo zaznavne škode. Dnevno se horizontalno premaknejo za 30 cm. Ob pojavu prvega mraza pa se zarijejo globoko v tla, kjer prezimijo. Do prve jeseni merijo v dolžino 10-20 mm, do druge jeseni 30-35 mm. Ob popolni razvitosti merijo spomladi tretjega leta 40-46 mm. V

nekaterih predelih vzhodne Evrope imajo tudi štiriletni razvoj. Pri ogrcih poznamo tri larvalne stopnje: L_1 , L_2 in L_3 . Pri 15 °C se iz jajčeca izleže ličinka po 49 dneh, pri 20 °C po 32 dneh in pri 25 °C po 19 dneh. V tleh pa se ponavadi izležejo po 42 dneh. Ob premokrih ali prevročih dneh se pojavi večja smrtnost jajčec. Najbolj ustrezen pokazatelj razvojnega stadija vrste *Melolontha melolontha* je širina glave ($L_1=2,7$ mm; $L_2=4,5$ mm in $L_3=6,9$ mm). Na kratkih razdaljah se ogrci orientirajo s pomočjo čutil za vonj in okus. Korenine rastlin sproščajo CO_2 , ki jim pomaga pri orientaciji za ustrezno hrano. Na ta način se izognejo neustreznim rastlinam. V celotni življenjski dobi in sicer od jajčeca preko ličinke do bube, se lahko poljski majski hrošči horizontalno premaknejo od 1,5 do 5,5 m. Škoda, ki jo naredijo ogrci v L_1 stopnji, ni opazna, razen v primeru gostote ogrcev več kot 1000 na m^2 . Ogrci prve larvalne stopnje (L_1) se izležejo iz jajčec med prvo dekada avgusta in drugo dekada septembra. Prvič se levijo (L_2) konec septembra. Ogrci se prerijejo v globlje plasti in prezimijo v stopnji L_2 na globini 30-100 cm, odvisno do kod seže mráz. V stopnji L_2 se začnejo vzpenjati proti površju ter pričnejo s hranjenjem, ko temperatura tal, na globini tal 30 cm, doseže okrog 7 °C. Navadno je to v sredini aprila. Stopnja L_3 nastopi v juniju (Huiting in sod., 2006), ko naredijo največ ekonomske škode, saj v tej stopnji pridobijo največ lastne teže (Keller in sod., 1999).

Živijo v tleh in se hranijo s podzemnimi deli številnih poljščin in drugih rastlinskih vrst. Ogrc je takrat dolg do 65 mm. Njegovo telo je umazano bele barve. Ima čvrsto rjavo glavo, 3 pare oprsnih nog, telo pa je značilno upognjeno, na koncu odebeljeno in potemnelo (Vrabl, 1992). Od aprila in do konca maja ali začetka junija se njihova masa poveča iz 0,15 na 0,8 g. Do jeseni pa tehtajo že 3,8 g. Prezimijo v stopnji L_3 . Naslednjo pomlad se zopet začnejo prehranjevati, zabubijo pa se proti koncu junija (Huiting in sod., 2006).

Stadij bube nastopi junija, ko so ličinke na globini 15-100 cm v majhni celici. Globina je odvisna od tipa tal in podnebja, najpogosteje pa so na globini med 30 in 40 cm. Stadij bube traja od 25 dni pri 25 °C do 100 dni pri 12 °C. Odrasli osebki se pojavijo od avgusta do septembra, vendar ostanejo v tleh in tam prezimijo. Na prosto prilezejo naslednjo pomlad (Huiting in sod., 2006).

Ogrce poljskega majskega hrošča prepoznamo s pomočjo vizualnega pregleda dlačic na zadnjem segmentu zadka. Glavni liniji dlačic sta v obliki črke I. Ob njih pa so na vrhu simetrično razporejene posamezne daljše dlačice na vsaki strani. Ob spodnjem delu glavne linije dlačic se nahaja večje število krajših dlačic, ki so razporejene polkrožno (Laznik in Trdan, 2013).

2.1.2 Gostiteljske rastline

Odrasli osebki se prehranjujejo z listi dreves in grmov na gozdnem robu (preglednica 1). Redko povzročijo resno škodo, občasno pa lahko naredijo škodo v nasadih sliv in češenj, saj se hranijo na cvetovih. Imajo preferenco prehranjevanja na drevesnih vrstah (Huiting in sod., 2006).

Ličinke so vsejede. Napadajo korenine trav, različnih žit, rdeče pese, krompirja, solate, malin, jagod, trav (Poaceae), sadnih in gozdnih dreves. Na travnikih imajo še posebno rade regrat in trpotec. V primerjavi s travami (Poaceae) pa imajo raje metuljnice (Fabaceae). Občasno so škodljivci tudi na tratah za rekreacijske in športne namene (golf). Poškodbe na travinju so opazne kot lise, ki v sušnih razmerah hitro porjavijo. Ličinke najdemo tik pod površjem, kjer ležijo v obliki vejice. Pri rastlinah z glavno korenino, kakršna je na primer solata, lahko pride do nenadnega venenja, okrnjene rasti ali prehitrega odpadanja listov. Rastline, ki rastejo v vrstah, so navadno napadene zaporedoma, saj se ogrci premikajo od ene rastline do druge. Poškodovano tkivo je ugodno mesto za razvoj bakterijskih in glivičnih bolezni. Korenine sadnih in gozdnih dreves so olupljene. Največja škoda nastane v letu pred zabubljenjem (Huiting in sod., 2006).

Preglednica 1: Gostiteljske drevesne vrste odraslih osebkov poljskega majskega hrošča glede na preferenco hranjenja (Huiting in sod., 2006)

Zelo preferenčna drevesa	Redko hranjenje	Nič hranjenja
<i>Quercus</i> – hrast	<i>Castanea</i> – kostanj	<i>Tilia</i> – lipa
<i>Acer</i> – javor	<i>Aesculus</i> – divji kostanj	<i>Robinia</i> – akacija
<i>Carpinus</i> – gaber	<i>Salix</i> – vrba	<i>Fraxinus</i> – jesen
<i>Fagus</i> – bukev	<i>Populus</i> – topol	<i>Ulmus</i> – brest
<i>Prunus</i> – sliva	<i>Betula</i> – breza	iglavci, razen <i>Larix</i> (macesen)
	<i>Corylus</i> – lešnik	

2.1.3 Spremljanje ogrcev z namenom prognoze njihovega pojava

Na ogroženih območjih se spremlja populacija ogrcev z izkopavanjem 25 talnih izkopov z velikostjo 50 x 50 x 40 cm na enem hektarju. Spomladi in jeseni pa se ogrci pojavljajo vse do globine enega metra (Huiting in sod., 2006).

Začetek leta odraslih osebkov je ob vsoti povprečnih dnevnih temperatur prek 355 °C in od 1. aprila dalje. Pojavljanje hroščev lahko ugotovimo tudi s tresenjem manjših dreves, na katerih se hranijo hrošči ali pa s tresenjem določenih vej višjih dreves. Tresenje opravimo zgodaj zjutraj, saj so takrat hrošči še mrzli in manj aktivni. Glede na število padlih hroščev lahko ocenimo stopnjo razširjenosti škodljivca. Hrošče privlači tudi svetloba svetilk. Štetje ali ocena števila hroščev, ki se zaletijo v svetilke, nam tudi pokaže približno sliko populacije hroščev (Huiting in sod., 2006).

2.1.4 Naravni sovražniki

Tipična parazitska muha za ličinke rodu *Melolontha* je dolgonoga *Dexia rustica* [Fabricius] (Diptera; Tachinidae), ki prav tako napada vrste iz rodov *Phyllopertha* in *Amphimallon*. Muha *Dexia rustica* odloži jajčeca na tla in iz njih se izvalijo ličinke, ki začnejo v tleh iskati ogrce. Tudi 30-35 cm globoko v tleh lahko ličinke parazitirajo 10 % ogrcev. V posameznem gostitelju je navadno 1-6 ličink muhe, ki tam prezimijo in spomladi ubijejo gostitelja. V maju se nato zabubijo, odrasle muhe pa se pojavijo v juliju

ali avgustu. V Evropi jih ponavadi najdemo na pašnikih, njivah in gozdnih robovih (Huiting in sod., 2006).

Populacijo odraslih osebkov iz rodu *Melolontha*, ki živijo nad tlemi, lahko zdesetkajo plenilski hrošči iz družine krešičev (Carabidae) in mravlje (Formicidae). Hrošči iz družine pokalic ali strun (Elateridae) pa pod talnim površjem zdesetkajo populacijo ogrcev. Ptice, kot so škorci, vrane in sivi galebi, so lahko prav tako učinkoviti plenilci ogrcev, še posebno po oranju (Huiting in sod., 2006).

2.2 JUNIJSKI HROŠČ (*Amphimallon solstitiale* [L.])

Odrasli osebki junijskega hrošča so rumenorjave barve in so dolgi 14-18 mm. Let odraslih osebkov je v toplih junijskih in julijskih večerih (Huiting in sod., 2006), ko samice odlagajo jajčeca v tla. Konec avgusta se iz jajčec izležejo prvostopenjske ličinke (L₁), ki se konec septembra prvič levijo (L₂) in takšne prezimijo v tleh. Naslednje leto se v drugi dekadi julija še zadnjič levijo (L₃) (slika 1) in v tej razvojni stopnji drugič prezimijo. Tretje leto se ogrci med majem in junijem zabubijo v tleh. V juniju oz. juliju pa se preobrazijo v odrasle osebkove, ki začnejo izletavati. V naših razmerah zaključijo svoj razvoj v dveh letih, hrošči pa se pojavijo vsako tretje leto (Laznik in Trdan, 2013).



Slika 1: Ogrc junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* [L.]) (foto: S. Trdan, 2013)

Ličinke so bele barve in v raztegnjenem položaju lahko merijo tudi do 30 mm. Prehranjujejo se s koreninami zelnatih rastlin, vključno s koreninami okrasnih rastlin in dreves v drevesnicah. V drugem letu razvoja, poleti, lahko povzročijo znatno škodo, vendar je njihovo število navadno majhno (Huiting in sod., 2006). Ogrce junijskega hrošča prepoznamo s pregledom dlačic, ki se nahajajo na zadnjem segmentu zadka. Glavni liniji dlačic sta v obliki črk J in L. Ob tej liniji so simetrično razporejene številne krajše in daljše dlačice (Laznik in Trdan, 2013).

2.3 GOZDNI MAJSKI HROŠČ (*Melolontha hippocastani* [L.])

Gozdni majski hrošč je v morfologiji in bionomiji zelo podoben poljskemu majskemu hrošču, vendar pa je bolj prilagojen na sušne podnebne razmere ter peščena tla. Gozdni majski hrošč odlaga svoja jajčeca v gozdu in na odprtih mestih v gozdu. V primerjavi s poljskim majskim hroščem so imagi manjši in imajo rjav ščit oprsja in ne črn (Huiting in sod., 2006). Image obeh vrst med seboj ločimo tudi po obliki pigidija. Le ta je pri gozdnemu majskemu hrošču v obliki bunke, medtem ko je pri poljskemu majskemu hrošču cevast. Ogrci obeh vrst so si zelo podobni. Lahko pa jih ločimo glede na velikost premera glave; pri L_1 znaša ta od 2,1 do 3,0 mm, pri L_2 od 3,7 do 4,8 mm, pri L_3 pa od 5,7 do 7,1 mm. Premer glave je pri poljskemu majskemu hrošču nekoliko večji (Laznik in Trdan, 2013).

2.4 JULIJSKI HROŠČ (*Anomala dubia* [Scopoli])

V Sloveniji ima julijski hrošč dveletni razvojni krog. Odrasli osebki letajo od druge polovice junija in prvo polovico avgusta. Takrat samice izlegajo jajčeca v tla. Prvostopenjske ličinke (L_1) se izležejo v prvi polovici septembra in tudi prezimijo v tleh. Naslednje leto se v drugi polovici maja prvič levijo (L_2). V L_2 razvojni stopnji ostanejo v tleh še 2-3 tedne, ko se zopet levijo (L_3). Prezimijo v razvojni stopnji L_3 . V tretjem letu razvoja se med majem in junijem zabubijo v tleh ter se v juniju in juliju preobrazijo v odrasle osebke. Glede na širino glave, lahko določimo njihovo razvojno stopnjo ($L_1 = 1,3-1,5$ mm; $L_2 = 3,1-3,3$ mm; $L_3 = 4,5-4,7$ mm). Glede na mesto nahajanja dlačic, določimo njihovo vrsto. Julijski hrošč ima dve glavni liniji dlačic, ki se medsebojno prekrivata in sta v obliki črke I. Okrog imajo razvrščene večje število krajših dlačic, ki so v obliki trikotnika (Laznik in Trdan, 2013).

2.5 NAČINI ZATIRANJA OGRCEV

V preteklosti so v Evropi odrasle osebke poljskega majskega hrošča, ki so se prehranjevali na drevesih, zatirali z insekticidi. Kemično zatiranje škodljivcev v tleh pa je težje zaradi njihovega premikanja v navzgor in navzdol. Vendar ima ta način zatiranja tudi neželene vplive na okolje. Prav tako ogromne populacije poginulih hroščev niso nobeno zagotovilo za uspešnost zatiranja škodljivca, saj imamo še vedno žive ličinke v tleh (Huiting in sod., 2006).

V letih med 1950 in 1970 je z razvojem dolgo obstojnih kloriranih ogljikovodikov (DDT, klordan, dieldrin) prišlo tudi do revolucije pri zatiranju ogrcev, ki živijo v tleh. Uporabljali so jih lahko preventivno in so imeli dolgoročni učinek. Po redni uporabi je prišlo do razvoja odpornosti pri ogrcih, negativnih vplivov na neciljne organizme in velikega okoljskega onesnaženja. Zato so pozneje prepovedali njihovo uporabo v večini držav (Jackson in Klein, 2006).

Znana je tudi metoda zatiranja s prekrivanjem tal, kjer tako odraslim osebkom preprečimo odlaganje jajčec. Ta način zatiranja se je izkazal kot predrag in tudi nepraktičen. Ogrce lahko zatiramo tudi z ustreznimi agrotehničnimi ukrepi. Z obdelavo tal z vrtavkastimi branami in oranjem lahko uničimo veliko ogrcev, nekaj pa jih izpostavimo pticam na talnem površju, ki jih tako z lahkoto pojedjo. Z oranjem lahko tako zmanjšamo populacijo ogrcev za 40-80 %, vendar je to odvisno od pogostosti oranja in stopnje razvoja ličink. Ta način je uspešen samo v primeru izvedbe med poletjem, saj so pozimi ogrci pregloboko v tleh (Huiting in sod., 2006).

Večji kot so ogrci (L_2 in L_3), manjša je učinkovitost mehanskega, kemičnega ali biotičnega zatiranja (Poženel, 2007). Metode, kot so apnjenje tal, uporaba težkih valjerjev, vnos uree v tla in prezračevanje tal so se izkazale za neučinkovite. Številčnost odloženih jajčec lahko zmanjšamo, če prenehamo z namakanjem v času njihovega odlaganja. Populacijo odraslih hroščev iz rodu *Melolontha* je mogoče uspešno zmanjšati tudi z uporabo feromonskih in svetlobnih vabnih ter vonjalnih kairomonov (Huiting in sod., 2006).

Biotično varstvo rastlin je način obvladovanja škodljivih organizmov v kmetijstvu in gozdarstvu, ki uporablja žive naravne sovražnike, antagoniste ali kompetitorje ali njihove produkte in druge organizme, ki se morejo sami razmnoževati (Zakon ..., 2007). Navadno se obravnava kot alternativa kemičnemu varstvu rastlin. V preteklosti so se ga posluževali pretežno v primerih naselitve novih škodljivcev v zanje novem življenjskem prostoru, kjer škodljivci še niso imeli naravnih sovražnikov. Biotično zatiranje pa omogoča tudi povečanje števila naravnih sovražnikov s pomočjo prilagoditve njihovega življenjskega prostora ali pa z vnosom masovno proizvedenih naravnih sovražnikov (Jackson in Klein, 2006). Naravno zastopani entomopatogeni so pomemben dejavnik uravnavanja številčnosti žuželčjih populacij. Veliko vrst deluje kot biotični agensi za škodljivce vrtnin in okrasnih rastlin v zavarovanih prostorih, za škodljivce poljščin, sadnega drevja in vinske trte, na pašnikih, travni ruši in trati, v skladiščih kmetijskih pridelkov, v gozdarstvu ter pri zmanjševanju številčnosti škodljivcev kot prenašalcev povzročiteljev bolezni v veterini in medicini. Znane so številne prednosti uporabe biotičnih agensov, med drugim varnost za ljudi in neciljne organizme, zmanjšanje ostankov fitofarmacevtskih sredstev v hrani, ohranitev naravnih sovražnikov in povečanje biodiverzitete v ekosistemi. Za povečanje njihove uporabe pa je potrebno izboljšati virulenco patogenov in hitrost njihovega delovanja (ubijanja), njihovo učinkovitost v neugodnih okoljskih razmerah (hladno vreme, suhe razmere, ...), potrebno je izboljšati formulacije, ki bi omogočale lažji vnos organizmov, obstojnost organizmov v okolju, pripravo zagotoviti daljšo življenjsko dobo in večjo vpeljavo v ostale sisteme integriranega varstva rastlin pred škodljivci, večji pomen njihovim prednostim in sprejetje med pridelovalci in ostalimi ljudmi. V prihodnosti se predvidevajo sinergistične kombinacije med biotičnim varstvom in ostalimi tehnologijami zatiranja škodljivih organizmov. Entomopatogeni organizmi, ki jih uporabljamo v biotičnem varstvu rastlin so bakterije, virusi, glive, praživali in ogorčice (Lacey, 2001). Glede varnosti biotičnih pripravkov za ljudi, živali in rastline so v preteklosti naredili več raziskav. Steinhaus (1957) je sklenil, da ti pripravki načeloma nimajo negativnega vpliva na okolje. Kljub temu je pomembno upoštevati varnostne

predpise. V Evropski uniji so tovrstni predpisi zapisani v Direktivi 91/414/EEC. Država lahko registrira biotični pripravek in ga vpiše v Aneks I k omenjeni Direktivi šele po obširnih testiranjih (Zimmermann, 2007).

2.5.1 Entomopatogene glive

Kitajski sviloprejci so v letu 700 pred našim štetjem prvi zabeležili glivično okužbo na obolelih gosenicah sviloprejk (*Bombyx mori* [L.]). Moderna patologija žuželk pa se je začela leta 1835 z italijanskim entomologom Agostinom Bassijem. Ta je glivo *Botrytis* (= *Beauveria*) *bassiana* [Balsamo-Crivelli] Vuillemin prepoznal kot vzrok bolezni na gosenicah sviloprejk v Franciji in Italiji. Dokazal je možnost širjenja bolezni na zdrave gosenice sviloprejk in tudi na ostale vrste žuželk. Ruski pionir mikrobiologije Elie Metchnikoff je leta 1878 postal prvi znanstvenik, ki je sistematično preučeval entomopatogene glive za namen biotičnega varstva rastlin. Predvideval je, da je za smrt žitnega hrošča *Anisoplia austriaca* [Herbst], uničujočega škodljivca žit, kriva gliva *Entomophthora anisopliae*. Sorokin jo je uvrstil v red *Metarhizium* in danes je znana pod imenom *Metarhizium anisopliae* [Metsch.] Sorokin. Okoli 25 vrst gliv je danes ovrednotenih kot biotičnih agensov za zatiranje različnih vrst žuželk, kot so koloradski hrošč, pesna stenica, ščitkarji, resarji, listne uši, slinarice, kobilice, trtni jajčasti rilčkarji in še mnoge druge (Liu, 2012).

Glive so mikrosposko majhni organizmi. Lahko so enocelične ali mnogocelične, sestavljene iz prepletenih hif, ki tvorijo micelij. Celično steno sestavljata hitin in glikan. Glive navadno okužijo žuželke v mlajših stadijih (nimfe ali ličinke). Seveda pa lahko okužijo tudi odrasle osebe. Entomopatogene glive so med entomopatogeni edinstvene v načinu okužbe gostiteljev, saj vstopijo vanje prek povrhnjice. Takšen način jim omogoča, da okužijo žuželke ne glede na njihov način prehranjevanja (Liu, 2012).

Pot do okužbe poteka po naslednjih korakih: 1) pritrditev spor na kutikulo, 2) kalitev spor, 3) prodiranje skozi kutikulo, 4) premaganje gostiteljevega odziva in obrambnih mehanizmov imunskega sistema, 5) širjenje v gostitelju z oblikovanjem hif/blastospor, 6) iz poginulega gostiteljevega kadavra se saprofitsko širijo in proizvajajo nove konidije. Uspešna patogeneza je odvisna od več pogojev. Pritrditev spor na kutikulo je odvisna od hidrofobnosti konidijev, kot tudi od površja kutikule. Uspešna kalitev in okužba je odvisna od dovzetnosti gostitelja in njegovega razvojnega stadija, določenih okoljskih razmer (optimalna temperatura in vlažnost) (Zimmermann, 2007). V primeru nizke vlažnosti in neugodnih temperatur ne pride do kalitve (Liu, 2012).

Na antimikrobno aktivnost in kalitev spor vplivajo lipidi na kutikuli (kratko verižne maščobne kisline, voski), aldehidi, ketoni in alkoholi. Kutikula je lahko obdana s snovmi (aminokisline, peptidi), ki so pomembne za prepoznavanje glive, pritrditev in kalitev spor (Zimmermann, 2007). Spore lahko preдреjo kutikulo s pomočjo klične cevke ali pa z apresorijem in prodornim klinom. Encimi (proteaze, aminopeptidi, lipaze, esterase in hitinaze) so prisotni na klični cevki in so odgovorni za razgradnjo epidermisa. Pri žuželkah

z močno kutikulo glive prodrejo skozi ustno odprtino, dihala in pore čutil. Gostitelj zaradi prekinitev dovoda hranil in izločanja mikotoksinov pogine v nekaj dneh ali tednih (Liu, 2012).

Glede na vrsto gostitelja, njegove razvojne stopnje, temperature in virulence glive, je odvisna inkubacijska doba. Pri ušeh je nekje 3-4 dni, pri ogrcih pa 2-4 tedne. Gliva začne s saprofitizmom in z razvojem konidijev se širi na zunanjo površino kadavra. V primeru zelo suhih razmer lahko vztraja v stadiju hife znotraj kadavra (Zimmermann, 2007). Glive imajo sposobnost spreminjanja vedenja gostitelja in si tako povečajo možnost razširitve spor. Za uši, mravlje, kobilice in muhe je značilno, da se pred poginom odmaknejo na dvignjena območja, pod njimi se razvijajo rizoidi, ki kadaver pritrdijo na površje. Nekateri gostitelji poginejo v položaju, kjer imajo na široko razprta krila ali elitre in tako izpostavljajo sporulacijska mesta ter povečujejo možnost širitve spor in okužbe naslednjega gostitelja (Liu, 2012).

Poznamo biotične in abiotične dejavnike, ki imajo vpliv na uspešnost okužbe gostitelja. Med abiotične štejemo temperaturo, relativno vlažnost, sončno sevanje in vplive agrokemikalij. Biotični dejavniki pa zajemajo populacijo gostiteljev in druge biotične agense, ki imajo vpliv na spreminjanje življenjskega kroga, razširjenost, prenašanje ter obstojnost entomopatogenih gliv (Liu, 2012).

Temperatura ima velik vpliv na razvoj entomopatogene glive in bolezni. Optimalne temperature so med 20 in 30 °C. Več stopenj okužb in bolezni se zgodi tudi v temperaturnem intervalu med 5 in 35 °C. Ob temperaturah zunaj teh okvirjev pride do inhibicije kalitve spor in vegetativne rasti. Visoke temperature so pogubne za preživetje gliv, medtem ko nizke lahko obvarujejo spore (Liu, 2012).

Vlažnost je tesno povezana s preživetjem in razvojem glive. Dehidracija je pogost vzrok smrtnosti spor. Po drugi strani pa visoka vlaga zmanjša življenjsko dobo konidijev. Nekatere entomopatogene glive lahko kalijo ob nizki vlažnosti (45-70 %), večina vrst pa zahteva za kalitev visoko relativno vlažnost (> 90 %) za vsaj kratek čas. Ob poginu gostitelja se začnejo glive prehranjevati kot saprofiti. Sporulacija je odvisna od relativne vlažnosti in vpliva časa, temperature in svetlobnega režima. Večina gliv sporulira v zgodnjih jutranjih urah, ko je visoka vlažnost, prav tako pa je ugodna tudi temperatura ter svetlobne razmere (Liu, 2012).

Spore, konidiji in hife so občutljive na sončno sevanje. Še posebno so občutljive na srednjevalovno ultravijolično sevanje, UV-B z valovno dolžino 280-320 nm (Liu, 2012) in UV-A z valovno dolžino 330-400 nm (Zimmermann, 2007). Izpostavljenost sevanju lahko naredi škodo na DNK (blokada sinteze DNK, višja verjetnost za mutacije) in vpliva na izdelavo visoko reaktivnih ter škodljivih radikalov (peroksid). Rezultat je močno zmanjšana stabilnost glive, precej zmanjšano pa je tudi njeno insekticidno delovanje. Pri večini entomopatogenih gliv je za njihovo popolno inaktivacijo dovolj nekajurna direktna izpostavljenost sončnemu sevanju. Za zmanjšanje vpliva sevanja so dodajali v formulacije

sončne blokade in UV-B absorbirajoče kemikalije. Ključnega pomena pa je seveda selekcija tistih vrst gliv, ki so tolerantne na sončno sevanje in te so potem dlje uporabne kot biotični agensi (Liu, 2012).

Insekticidi, fungicidi, herbicidi in rastni regulatorji lahko delujejo inhibitorno na entomopatogene glive. Kljub temu pa je veliko agrokemikalij kompatibilnih z glivami in imajo subletalni učinek, ki naredijo žuželke dovzetnejše za bolezen prek fiziološkega stresa in sprememb v vedenju (Liu, 2012).

Dovzetnost za okužbo gostiteljev je odvisna od njihovega fiziološkega in morfološkega stanja in razvojnega stadija. Žuželke, ki so pod stresom, so bolj podvržene okužbam. Stres povzroča pomanjkanje življenjskega prostora, podhranjenost, lakota, neugodne kemične in okoljske razmere. Ob nezadostni prehrani ali lakoti so posledično tudi posamezni osebkovi šibkejši, manjši ter tako dovzetnejši za okužbo. Kemični ter okoljski stresni dejavniki žuželkam poslabšajo kondicijo ter obrambne mehanizme imunskega sistema (Liu, 2012).

Med druge biotične agense uvrščamo plenilce, parazitoide in entomopatogene, ki delujejo sinergistično ali antagonistično z entomopatogenimi glivami (Liu, 2012).

2.5.1.1 *Beauveria brongniartii* [Saccardo] Petch.

Po Index Fungorum (2016a) glivo uvrščamo v naslednje taksonomske enote: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales, Cordycipitaceae. Njeno polno ime je: *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch.

Poznamo več njenih sinonimov:

- = *Botrytis brongniartii* Sacc.,
- = *Botrytis brongniartii* Sacc. subsp. *brongniartii*
- = *Botrytis tenella* Sacc.,
- = *Botrytis bassiana* subsp. *tenella* (Sacc.) Sacc.,
- = *Isaria tenella* (Sacc.) Giard.,
- = *Botrytis melolonthae* Sacc.,
- = *Beauveria tenella* (Sacc.) Siemaszko,
- = *Beauveria melolonthae* (Sacc.) Cif.,
- = *Isaria kogane* Haseg. & Koyama.

Kolonije glive *Beauveria brongniartii* so sprva bele, pozneje rumenkaste, rožnate ali rdečkaste barve. Konidiogene celice so v bazalnem delu ovalne ali bučkaste oblike in z dolgimi nitkami. Hialini konidiji so eliptični, merijo (2-) 2,5 – 4,5 (-6) µm in se nahajajo zelo blizu skupaj, lahko pa so razporejeni v skupine ali posamezno. Nastajajo v praškastih grozdih in se zato z lahkoto prenašajo po zraku. Sporulacija in rast poteka med 2 in 33 °C, optimalna temperatura za oba procesa pa je med 22 in 23 °C. Rast glive je bila sicer opazna tudi pri temperaturi skladiščenja 2 °C. Za glivo *B. brongniartii* je značilno, da v fazi

razširjanja v gostitelju proizvaja toksin oosporein, ki spremeni barvo kadavra v rdečo (Zimmermann, 2007).

V pregledu literature je zapisano, da so glivo *B. brongniartii* uporabljali za zatiranje majskega hrošča (*Melolontha* spp.) in polonice *Epilachna vigintioctomaculata* [Motsch.] Gliva je razširjena po celem svetu. Zastopana je v žuželkah in v različnih življenjskih okoljih. Nahaja se v močvirjih, alpskih habitatih, gozdnih tleh v Hong Kongu, rdeči prsti (terra rosa) v Grčiji, vresiščih *Calluna*, alpskih travnatih pašnikih v Italiji ter v peščenih sipinah britanskih otokov. V Evropi največkrat okužuje poljskega majskega hrošča in gozdnega majskega hrošča. Ostali gostitelji pa so tudi iz redov Heteroptera (družina Pentatomidae), Lepidoptera (*Hepialus lupulinus* L., Pyralidae), Coleoptera (Coccinellidae, Chrysomelidae, *Plateumaris braccata* [Scopoli], *Galerucella tenella* L., Curculionidae, *Strophosomus* sus., Cerambycidae, Ipidae, Lucanidae, Nitidulidae), Hymenoptera (Formicidae, *Vespula* spp.), Homoptera (Cicadidae), posnemovalci (Phasmatodea), kobilice (Orthoptera) in pajki (Zimmermann, 2007).

V letih 1970 so osnovali raziskovalni program s poudarkom na delovanju glive *B. brongniartii* v biotičnem varstvu rastlin pred poljskim majskim hroščem. Večino raziskav o obstojnosti glive *B. brongniartii* v okolju so naredili v Švici. Na poskusno parcelo so v obdobju od maja do avgusta na žitnih zrnih vnesli glivo v tla. Ogrci so pojedli zrno in se okužili. Tako je bila povečana zastopanost glive v tleh, v primerjavi s kontrolno, netretirano parcelo. V tleh, kjer so izvedli tretiranje z glivo v oktobru in novembru, ni bilo povečanja populacije glive. Ugotovili so, da so imela tla z višjo vsebnostjo gline ter temperaturo med 20-25 °C, pozitivne učinke na gostoto in zastopanost glive *B. brongniartii*. Medtem pa je imela temperatura nad 27 °C, v omenjenih zvezah negativen vpliv. Sposobnost preživetja glive so spremljali še nadaljnjih 16 mesecev. V tleh, kjer poljski majski hrošč ni bil zastopan ter v tleh z višjo stopnjo organske snovi, je bil opazen izrazit upad količine glive *B. brongniartii*. Tudi 14 let po vnosu glive v tla pa je bila ta še zmeraj zastopana na vseh poskusnih mestih (Zimmermann, 2007).

2.5.1.2 *Beauveria bassiana* [Bals.-Criv.] Vuill.

Po Index Fungorum (2016b) jo uvrščamo v naslednje taksonomske enote: Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales, Cordycipitaceae. Njeno polno ime je: *Beauveria brongniartii* [Bals.-Criv.] Vuill.

Poznamo več njenih sinonimov:

- = *Beauveria doryphorae* R. A. Poiss. & Patay,
- = *Beauveria densa* (Link) F. Picard,
- = *Beauveria effusa* (Beauverie) Vuill.,
- = *Beauveria globulifera* (Speg.) F. Picard,
- = *Beauveria shiotae* (Kuru) Langeron,
- = *Beauveria stephanoderis* (Bally) Petch.,
- = *Beauveria sulfurescens* (J. F. H. Beyma) J. J. Taylor,

- = *Botrytis bassiana* Bals.-Criv.,
- = *Botrytis bassiana* var. *lunzenis* Svilv.,
- = *Botrytis effusa* Beauverie,
- = *Botrytis stephanoderis* Bally,
- = *Botrytis stephanoderis* f. *Macroconidiana* Av. – Sacca,
- = *Botrytis stephanoderis* Bally f. *stephanoderis*,
- = *Isaria densa* (Link.) Giard.,
- = *Isaria shiotae* Kuru,
- = *Penicillium bassianum* (Bals. –Criv.) Biourge,
- = *Penicillium densum* (Link) Biourge,
- = *Spicaria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.,
- = *Spicaria densa* (Link) Vuill.,
- = *Sporotrichum densum* Link,
- = *Sporotrichum epigaeum* var. *terrestre* Dasz.,
- = *Sporotrichum globuliferum* Speg.,
- = *Sporotrichum epigaeum* var. *terrestre* Dasz.,
- = *Sporotrichum sulfurescens* J.F.H. Beyma,
- = *Tritirachium shiotae* (Kuru) Langeron.

Kolonije glive *Beauveria bassiana* prepoznamo po beli barvi, ki se pozneje spremeni v rumenkasto ali občasno rdečkasto. Konidiogene celice so v bazalnem delu ovalne ali bučkaste oblike s strženom dolgim do 20 µm in tvorijo vzorec »cik-cak«. Hialini konidiji so okrogli do elipsasti in navadno veliki 2-3 x 2-2,5 µm. Konidiji so razporejeni v grozdice kot snežne ali bombažne kroglice. V splošnem se kalitev konidijev začne po 10 urah po pritrditvi na gostitelja in je zaključena po 20 urah pri temperaturah med 20 in 25 °C. Optimalna temperatura za kalitev je med 23 in 28 °C, najnižja 5-10 °C in najvišja 30-38 °C, odvisno od izolata glive. V afriških izolatih je kalitev konidijev zmanjšana med 15 in 30 °C, medtem ko je bila optimalna temperatura za različne izolate med 20 in 30 °C ali med 25 in 30 °C. Nasprotno pa izolati iz subantarktičnega območja kalijo pri 5 °C. Pri izpostavljenosti 50 °C za 10 min spore propadejo zaradi toplote. Za uspešno kalitev je potrebna relativna vlaga (RH) med 92 in 100- %. Prav tako pa je bila uspešna patogeneza pri 60-70 % RH. Sončno sevanje je najpomembnejši okoljski dejavnik v preživetju glive. Z glivo *B. bassiana* so naredili laboratorijski poskus. Konidije so izpostavili simulirani sončni svetlobi. Po 16 min izpostavljenosti UV-C je bilo neaktivih 99 % vseh konidijev, pri UV-A in UV-B pa se je enako zgodilo po 31 min. Po dvournem osvetljevanju je bilo živih samo še polovica konidijev (Zimmermann, 2007).

Beauvericin je najpomembnejša toksična spojina, ki so jo najprej odkrili pri glivi *Beauveria bassiana*. Ima insekticidne, antibiotične in citotoksične lastnosti. Gliva proizvaja še druge strupene metabolite, kot so bassianin, bassionolid, beauverolid, bassiakridin, tenelin in oksalno kislino (Zimmermann, 2007).

V starejši literaturi se navaja njeno uporabo za biotično zatiranje koruzne vešče (*Ostrinia (Pyrausta) nubilalis* [Hübner]) in jabolčnega zavijača (*Carpocapsa pomonella* L.). *Beauveria bassiana* je najbolj razširjena gliva iz rodu *Beauveria*. Najdemo jo širom sveta, v zmerno toplih in tropskih območjih, v okuženih škodljivcih. Zastopana je tako na alpskih tleh, vresiščih, šotiščih, tleh s savanskim rastlinstvom, gozdovih in obdelanih zemljiščih, sipinah, puščavskih tleh in tekoči vodi. Prav tako so jo našli v rizoplani rastlin iz šotnega barja, rizosferi detelje, odpadlemu lubju, gnezdih in peresih ptic. Njeni gostitelji so stenice (*Picromerus bidens* L., *Anthocoris nemorum* L.), enakokranci (*Eulecanium* spp.), metulji (*Hepialus* spp., *Hypocrita jacobaea* L., *Cydia nigricans* [Fabricius]), hrošči (*Lathrobium brunnipes* [Fabricius], *Calvia quattuordecimguttata* L., *Phytodecta olivacea* [Forster], *Otiorhynchus sulcatus* [Fabricius], *Sitona lineatus* L., *S. sulcifrons* L., *S. macularius* L., *S. hispidulus* L., *Anthonomus pomorum* L.), kožekrilci (Ichneumonidae, *Lasius fuliginosus* [Latreille], *Vespula* spp., *Bombus pratorum* L.), dvokranci (*Leria serrata* L.) in pajki. Po podatkih Li-ja (1988) je znanih 707 različnih vrst gostiteljev glive *Beauveria bassiana* (Zimmermann, 2007).

Glivo *Beauveria bassiana* so v nekdanji Sovjetski zvezi v letih 1960 uporabljali kot biotični pripravek Boverin za zatiranje koloradskega hrošča. S kombinacijo s kemičnim insekticidom DDT so uspešno zatirali populacijo tega škodljivca (Liu, 2012).

S svojim obširnim spektrom delovanja je gliva v biotičnem zatiranju škodljivcev prisotna že več kot 100 let. Razumljivo je, da se ob tem poraja vprašanje o njenem možnem negativnem vplivu na neciljne organizme in vretenčarje, vključno s sesalci in človekom. Vsi pripravki morajo prestaty registracijske zahteve in do sedaj še ni bilo ugotovljenih škodljivih vplivov uporabe omenjene glive. Vse nove izolate te glive pa je potrebno testirati in se tako izogniti možnim negativnim posledicam aplikacije (Zimmermann, 2007).

2.5.2 Entomopatogene ogorčice

Entomopatogene ogorčice so že od 17. stoletja znane kot paraziti žuželk. Leta 1929 so se z raziskovalcema Glaserjem in Foxom začela prva resna obravnavanja njihovih prednosti. V New Jerseyu sta na igrišču za golf našla ogorčico, ki je okužila ogrce japonskega hrošča (*Popillia japonica* [Newman]). Zaradi splošne razširjenosti in cenovno dostopnih fitofarmacevtskih sredstev se biotično varstvo rastlin ni začelo razvijati vse do okoli leta 1960, ko je okoljevarstvena agencija v ZDA prepovedala uporabo nekaterih fitofarmacevtskih sredstev (Smart, 1995). Tako je okoli leta 1970 zaznan opazen skok v zanimanju za znanstveno raziskovanje ter komercialno uporabo entomopatogenih ogorčic. Najprej so jih zaradi visoke cene uporabljali le na najbolj donosnih vrstah gojenih rastlin (Kaya in sod., 2006).

Entomopatogene ogorčice predstavljajo alternativo kemičnim insekticidom, še posebno v primeru talnih škodljivcev. V biotičnem varstvu prevladuje uporaba ogorčic iz rodov *Heterorhabditis* (Strongyloides: Heterorhabditidae) in *Steinernema* (Strongyloides:

Steinernematidae) (Grewal, 2012). Do decembra 2012 je bilo znanih že 63 vrst iz rodu *Steinernema*, 12 vrst iz rodu *Heterorhabditis* in ena vrsta iz rodu *Neosteinernema* (San-Blas, 2013). Zaradi enostavne masovne proizvodnje pripravkov obstaja veliko takšnih, ki se prodajajo kot biotični insekticidi. Enostavna uporaba (zalivalka, škropilnice), kompatibilnost z mnogimi kemikalijami in možnost kombiniranja z namakalnimi sistemi jim zagotavlja visoko priljubljenost v integriranem varstvu rastlin. Ogorčice se v Evropi največ uporabljajo proti škodljivcem iz rodov *Diaprepes*, *Otiorhynchus* in *Bradysia*, v Evropi in Severni Ameriki pa proti škodljivcem iz rodu *Lycoriella* ter proti ogrcem v travni ruši. Nadomestile so uporabo razširjenega insekticida (aktivna snov aldrin), ki so ga uporabljali za zatiranje trtnega jajčastega rilčkarja v rastlinjakih in vrtnarijah po Evropi. Pred začetkom preventivne uporabe insekticidov (aktivni snovi imidakloprid in halofenozid) proti vrstam iz rodu *Sphenophorus* na igriščih za golf na Japonskem, trtnemu jajčastemu rilčkarju ter vrsti *Chrysoteuchia topiaria* [Zeller] v Severni Ameriki, so bile entomopatogene ogorčice edini kurativni način varstva rastlin pred škodljivci. V Kanadi jih uporabljajo tudi na javnih zemljiščih pri zatiranju ogrcev v travni ruši (Grewal, 2012).

Entomopatogene ogorčice se pojavljajo povsod po svetu, razen na Antartiki. Našli so jih v različnih habitatih in tipih tal. Njihove populacije so na in med različnimi lokacijami neenakomerno razširjene (Stuart in sod., 2006) .

Glede na gospodarske, zdravstvene in okoljske prednosti so bile entomopatogene ogorčice prepoznane kot uspešni biotični agensi za zamenjavo tradicionalnih kemičnih metod. Pozornost so pridobile s svojo učinkovitostjo, neškodljivostjo za sesalce in enostavno masovno proizvodnjo. Za izboljšavo integriranega varstva rastlin se je potrebno poglobiti v življenjsko dobo in obstojnost ogorčic ter v okoljske in biološke teme, vezane na njihovo uporabo (San-Blas, 2013).

Entomopatogene ogorčice so paraziti, ki živijo v mutualizmu z entomopatogenimi bakterijami: bakterije iz rodu *Photorhabdus* skupaj z ogorčicami iz rodu *Heterorhabditis* in bakterije iz rodu *Xenorhabdus* skupaj z ogorčicami iz rodu *Steinernema*. Parazitski odnos jim omogoča izkoriščanje širokega spektra žuželk kot gostitelje. Njihov naravni habitat so tla, kjer so težje razmere za preživetje in lokalizacijo gostitelja. Ogorčice v juvenilni fazi razvoja okužijo ustrezne gostitelje (Liu, 2012). Juvenilni stadij ogorčicam omogoča preživetje v tleh v neugodnih razmerah (Ruisheng in Grewal, 2007).

V organizem prodrejo prek gostiteljevih telesnih odprtih ali kutikule. Ko dosežejo hemolimfo, sprostijo simbiotske bakterije, ki se hitro razmnožijo. Organizem ubijejo v 2-3 dneh. Kadavri so mehki, ne oddajajo smrdljivega vonja in niso vpadljive barve. Organizmi, ki so poginili zaradi delovanja ogorčice *Steinernema carpocapsae* so rumene barve, tisti pa, ki poginejo zaradi vrste *Heterorhabditis bacteriophora* so rdečkasto rjave barve. Po smrti gostitelja se ogorčice hranijo z bakterijami in trupom gostitelja. Entomopatogene bakterije izločajo sekundarne metabolite, ki preprečijo invazijo drugih talnih mikroorganizmov v kadaver. Tako se ogorčice tudi razmnožujejo in se razvijajo v enem do treh rodovih. Ko izčrpajo vsa hranila, se razvije naslednji rod infektivnih ličink ali

juvenilnih ogorčic, ki zapustijo kadaver in si poiščejo novega gostitelja, kjer nadaljujejo z razvojem.

Infektivne ličinke imajo pomembno vlogo v simbiotskem odnosu ogorčice- bakterije; ohranjajo in vzdržujejo entomopatogene bakterije, preživijo v neustreznih okoljskih razmerah, ki bi bile pogubne v drugi razvojni obliki, se razširjajo, poiščejo, izberejo in okužijo gostitelja ter prodrejo v hemolimfo žuželk. Preživijo tudi zaradi kooperativnega delovanja (hranjenje energije med iskanjem hrane). Dokler ogorčice ne najdejo vira hrane, imajo zmanjšan metabolizem. Simbiotske bakterije zmanjšajo delovanje metabolizma s celičnim zakisanjem in zmanjšanjem mobilnosti. Takšno kooperativno delovanje jima močno poveča možnosti preživetja do najdbe ustreznega gostitelja (Grewal, 2012). Ogorčice v neugodnih razmerah preidejo v delno anhidrobiozo (Koppenhöfer in Fuzy, 2007).

Kljub zelo širokemu spektru gostiteljev je dokazano, da je njihova uporaba varna za ljudi, živali in neciljne nevretenčarje. Različni raziskovalci poročajo o varni uporabi za sesalce, čebele in nevretenčarje v tleh, pa tudi za hišne ljubljence. Prav tako nimajo negativnega vpliva na talne mikroorganizme, dihanje tal in vsebnost dušika v tleh (Grewal, 2012).

Entomopatogene ogorčice so najbolj uporabne v okolju, kjer so zavarovane pred ekstremnimi razmerami (temperatura, UV sevanje). Večinoma se uporabljajo kurativno, preventivno v primerih varstva semena, sadik in dreves (Grewal, 2012). Ne glede na kakovost in ustreznost izbrane vrste ogorčice, je odločilnega pomena za njeno učinkovitost način aplikacije (Shapiro-Ilan in sod., 2006).

Aplikacija se lahko izvede s priročnimi škropilnicami in namakalnimi sistemi. Ogorčice ne prenašajo temperature zraka nad 30 °C. Ker so težje od vode, se hitro usedejo na dno. Za zakasnitev posedanja je v škropilnici potreben raztopljen kisik z gostoto 1,05 g/cm³. Za večjo stopnjo preživetja ogorčic je pomembna opremljenost škropilnice. Ugotovili so, da se pri hidravličnemu mešanju ustvarjajo višje temperature, ki zmanjšujejo stopnjo preživetja ogorčic. Zato priporočajo mehanično mešanje in velikost šob nad 500 µm. Za aplikacijo v tla strokovnjaki priporočajo 2,5 bilijona ogorčic na hektar. Za njihovo optimalno aktivnost v tleh je potrebna vlaga in temperatura tal nad 10 °C. Zelo so občutljive tudi na sončno svetlobo in poginejo po nekajminutni polni izpostavljenosti soncu. Za izogib soncu jih je potrebno aplicirati zgodaj zjutraj ali zvečer. V primeru suhih tal je ta dobro predhodno namočiti. Za izpiranje ogorčic z listov priporočajo namakanje tudi po aplikaciji. Za gibanje potrebujejo tanek sloj vode (Grewal, 2012).

Gibanje je optimalno pri debelini sloja vode, ki je polovico tanjši kot je debelina ogorčic (Koppenhöfer in Fuzy, 2007). V poplavljenih tleh pa je njihovo gibanje onemogočeno. Na uspešnost delovanja vpliva tudi tip tal. V težjih, glinastih, tleh je njihova stopnja preživetja nižja, kot v peščeno ilovnatih tleh. Optimalna temperatura tal za aplikacijo je med 10 in 30 °C (Grewal, 2012).

Entomopatogene ogorčice tolerirajo kratkotrajno izpostavljenost kemičnim in biotičnim insekticidom, herbicidom, fungicidom, gnojilom ter rastnim regulatorjem. Zato veljajo za uspešno sredstvo v integriranem varstvu rastlin. Večina agrokemikalij je kompatibilna z ogorčicami, lahko se mešajo skupaj in se tako prihrani na stroških aplikacije. V primeru neskladja med različnimi sredstvi se priporočajo časovni razmaki med aplikacijami. Nekje 1-2 tedna po aplikaciji kemičnih insekticidov in nematicidov je priporočljiv nanos ogorčic. Nekatera sredstva vsebujejo škodljive snovi za ogorčice (Grewal, 2012).

Sinergizem med neonikotinoidnimi insekticidi (imidakloprid) in entomopatogenimi ogorčicami v delovanju proti ogrcem je zelo dobro preučen. Imidakloprid oslabi obrambni mehanizem ogrcev in poveča možnosti ogorčicam za prodor v notranjost gostitelja. Prav tako ni znanih negativnih vplivov imidakloprida na razmnoževanje ogorčic v tretiranih ogrcih. Kombinacija insekticida tiakloprida in ogorčice *S. carpocapsae* se je izkazala za uspešnejšo v boju proti tobakovemu ščitkarju (*Bemisia tabaci* [Genn.]). Pri škodljivcu je bila ugotovljena višja stopnja smrtnosti, kot v primeru nanosa samo kemičnega sredstva.

Večina raziskav podpira tudi skupno uporabo parazitoidov in entomopatogenih ogorčic, vendar je kljub temu potrebna previdnost pri kombinacijah. Negativni vplivi so slabši razvoj in nižja preživetvena stopnja parazitoidov, kjer so gostitelji okuženi z ogorčicami. Za parazitoida *Bracon hylobii* (Ratz.) so ugotovili, da se izogiba izleganju jajčec na ličinke velikega borovega rilčkarja (*Hylobius abietis* L.), če je bil ta 1-7 dni prej tretiran z ogorčico *Heterorhabditis downesi*. V primeru direktne aplikacije ogorčic na parazitoide, ki so se hranili na ličinkah velikega borovega rilčkarja, so ogorčice parazitirale parazitoide in zmanjšale nastajanje zapredka (Grewal, 2012).

2.5.2.1 *Heterorhabditis bacteriophora* [G. O. Poinar]

Po Taxonomicon (2016a) entomopatogeno ogorčico s polnim imenom *Heterorhabditis bacteriophora* G. O. Poinar, 1975 uvrščamo v naslednje taksonomske enote: Nematoda, Secernentea, Rhabditida, Heterorhabditidae, *Heterorhabditis*.

V travni ruši ogorčico *H. bacteriophora* uporabljajo v preplavnem načinu biotičnega zatiranja škodljivcev. Z namenom hitrega zmanjšanja populacije ogrcev jo na izbrano območje vnesejo v visokih koncentracijah, $2,5 \times 10^9$ ogorčic na hektar (Wilson in sod., 2003).

Ogrci imajo v ZDA in Kanadi status pomembnih škodljivcev božičnih dreves. Tako so preizkušali delovanje ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* in *Heterorhabditis marelatus* [Liu in Berry] proti japonskemu hrošču (*Popillia japonica* [Newman]). Obe vrsti sta se izkazali za neučinkoviti do srednje učinkoviti pri zatiranju škodljivca. V primeru japonske tise, ki je bila posajena v loncih, so preizkušali učinkovitost ogorčic *Heterorhabditis heliothidis* [Khan] in *Steinernema glaseri* [Steiner] proti ogrcem vrst japonskega hrošča in *Rhizotrogus majalis* [Razoumowsky]. Učinkovitost ogorčice *Heterorhabditis heliothidis* je bila 60-90 %, *Steinernema glaseri* pa je vplivala na 0-58 % učinkovitost. Obe vrsti ogorčic

sta proti vrsti *Rhizotrogus majalis* pokazali 0-86 % učinkovitost. Na uspešnost oziroma neuspešnost delovanja ogorčic ima velik vpliv čas aplikacije ter nezmožnost ogorčic za preživetje in obstanek v danih razmerah (Georgis in sod., 2006).

2.5.3 Entomopatogene bakterije

Entomopatogene bakterije so enocelični prokarionti. V dolžino merijo od manj kot 1 μm do več μm . Bakterije, ki imajo neprožno celično steno, so okrogle, paličaste in spiralne oblike. Tiste brez celične stene pa so pleomorfne oblike. Znanih je več kot 100 različnih vrst bakterij, ki delujejo patogeno na členonožce. Med njimi je bilo doslej vrstam *Bacillus thuringiensis*, *B. sphaericus*, *B. cerus* in *B. popilliae* posvečene največ pozornosti kot mikrobiotičnim agensom (Kalha in sod., 2014).

Glede na predvidevanja se bo letna proizvodnja biotičnih sredstev za varstvo rastlin na svetu povečala za 10-15 %, kemičnih sredstev za varstvo rastlin pa 1-2 %. V celotni proizvodnji insekticidov naj bi entomopatogene bakterije, večinoma *Bacillus thuringiensis*, zavzemale 90 %. (Mozgovaya in sod., 2002).

2.5.3.1 *Bacillus thuringiensis* [Berliner 1915]

Po uveljavljeni sistematiki Taxonomicon (2016b) bakterijo *Bacillus thuringiensis* uvrščamo v naslednje sistematske kategorije: Bacteria, Firmicutes, Bacilli, Bacillales, Bacillaceae in *Bacillus*. Njeno polno ime je *Bacillus thuringiensis* [Berliner 1915].

Bakterijo *Bacillus thuringiensis* je v začetku 20. stol. med raziskovanjem bakterijske bolezni gosenic sviloprejk odkril profesor Ishiwata na Japonskem. Ime *thuringiensis* je dobila po pokrajini v Nemčiji, kjer jo je našel raziskovalec Berliner. Takrat se še niso zavedali njenega potenciala in ni bilo veliko zanimanja za njeno raziskovanje. Preboj v komercializacijo Bt insekticida je povzročil Steinhaus (Federici, 2005).

Bakterija *Bacillus thuringiensis* (Bt) je razširjena v tleh in je letalni patogen velikega števila vrst žuželk. V obdobju sporulacije proizvaja kristal protoksin, ki ima insekticidno delovanje in se uporablja v zatiranju metuljev, dvokrilcev in hroščev. Toksični kristal se ob zaužitju raztopi v črevesju žuželke. Tam ga gostiteljska proteaza cepi v aktivni toksin, δ -endotoksin, ki se veže na epitelne receptorje v prebavilih in oblikuje manjše pore v membrani. Tako pride do paralize črevesja in žuželka pogine zaradi stradanja. V biotičnem varstvu je bakterija *B. thuringiensis* najpogosteje uporabljen entomopatogeni organizem. Poznamo prek 40 različnih pripravkov, ki so narejeni na njeni osnovi. To predstavlja 1 % svetovnega trga z insekticidi (Kalha in sod., 2014) ter več kot 50 % tržni delež z biotičnimi agensi (Lacey in sod., 2015). Bakterija je naravno zastopana. Za namen zatiranja škodljivcev se tako lahko vnaša v ekosisteme. Komercialne pripravke lahko apliciramo na liste, tla, vodno okolje in v prostorih za skladiščenje hrane (Kalha in sod., 2014).

Na rastline jih nanašamo s konvencionalnimi škropilnimi napravami. Pri aplikaciji škropiva je pomembno, da z njim prekrijemo čim večji del rastline. Za začetek delovanja *Bt* jo mora tarčni organizem zaužiti. Za razvoj ustreznih formulacij morajo proizvajalci upoštevati abiotične (UV sevanje, temperatura, pH, dež) in biotične (koncentracija spor, entomotoksičnost, rastlinsko maso) dejavnike (Kalha in sod., 2014).

Njihov obstanek in nadaljnji razvoj je zelo odvisen od razmer v okolju. Na odprtem *Bt* zelo hitro propadejo zaradi negativnega vpliva sončnega sevanja in dežja. Njihovo delovanje in obstanek je zelo povečan v zavarovanih prostorih (rastlinjaki). Različni okoljski dejavniki, kot so fiziologija rastlin, dež, pH, UV sevanje in temperatura, imajo znaten vpliv na njihov razvoj ali propad. UV svetloba je najpomembnejši dejavnik za inaktivacijo *Bt*, saj zmanjša njihovo učinkovitost v okolju. Dež spere biotični insekticid in tako onemogoči njegovo učinkovanje. Optimalen pH tal je med 3 in 11. Za daljšo življenjsko dobo in obstojnost v okolju je idealna temperatura v okolju med 10 in 30 °C. Neustrezne temperature zmanjšajo patogenovo prehranjevanje in degradacijo aktivnega toksina. Hlapne snovi (aldehidi, ketoni, karboksilne kisline in njihovi derivati), ki se nahajajo na listih, imajo antibiotične učinke na *Bt* spore in včasih so tudi razlog za njihovo inaktivacijo. Obstojnost in stabilnost formulacij *Bt* na njivi lahko povečamo z enkapsulacijo bioinsekticidnih materialov v matriki za zavarovanje in sprotno sproščanje toksinov, z uporabo formulacij na osnovi koruznega škroba, z uporabo sort *Pseudomonas fluorescens* [Flügge], ki s pomočjo genetskega inženiringa proizvajajo *Bt* endotoksin, s selekcijo sort *Bt*, ki so aktivne v širokem spektru temperatur in uporabne v enkapsuliranih formulacijah (Kalha in sod., 2014).

Naravno zastopano bakterijo *Bt* je potrebno pred formulacijo v učinkovit bioinsekticid genetsko izboljšati. Takšna oblika je bolj toksična, ima širši spekter ciljnih škodljivcev in vpliva na poznejši razvoj odpornosti škodljivcev nanjo (Kalha in sod., 2014).

Biotični insekticidi imajo ključni pomen v integriranem varstvu rastlin s razbremenitvijo hrane, krme in rastlin za pridelavo vlaken s prekomerno rabo insekticidov. Njihova glavna prednost je uporaba mikrobov kot insekticidov, kar je okoljsko sprejemljivejše. Prav tako se takšna formulacija hitro razgradi in ne pušča nobenih škodljivih ostankov. Uporaba *Bt* je varna za koristne členonožce, oprasovalce, saj ti nimajo specifičnih receptorjev za sprejem toksinov in zato ti nanje ne delujejo. Učinkovitost biotičnih insekticidov je primerljiva s sintetičnimi, dolgoročno gledano pa so prvi učinkovitejši. Gledano s strani proizvodnje je produkcija biotičnih insekticidov težja, saj so za gojenje potrebni specifični substrati in tudi živi gostitelji. Produkti so dražji za kupce. Prednost v visoki specifičnosti delovanja pa je tudi njihova slabost, ker je tako potrebno ob pojavu novega škodljivca uporabiti drugo sredstvo. Vrsta *Bt* ima dolgo obstojnost v okolju. Kljub temu do sedaj še niso zaznali genetskih kombinacij z drugimi sorodnimi in nesorodnimi bakterijami (Kalha in sod., 2014).

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki* [Berliner] je najbolj razširjena entomopatogena bakterija, ki se uporablja za zatiranje škodljivcev na gojenih rastlinah in v gozdu (Lacey in sod., 2015).

2.5 TRAVINJE

Travinje je najpomembnejši element kulturne krajine., saj se pojavlja v najrazličnejših oblikah in času. Je bistveni člen mozaičnosti izgleda pokrajine. Nanj so navezane tudi ostale kategorije, kot so njive, vrtovi in trajni nasadi (sadovnjaki, vinogradi, oljčniki) (Vidrih, 2007). Travinje ali travnati svet so kmetijska zemljišča, ki jih porašča nizka rastlinska odeja, imenovana travna ruša, sestavljena iz različnih vrst trav, metuljnic (detelj) in zeli. Namenjene so predvsem za prehrano domačih živali, bodisi neposredno (paša) bodisi posredno (pridelovanje mrve in siliranje) ali kombinirano (pašno-kosni sistem), nekaj pa je tudi tako imenovane rekreacijske trate (igrišča, športni tereni, vrtovi) in trate za varstvo okolja, ki ščitijo pred erozijo (Korošec, 1997). V Sloveniji je travinje nastalo zaradi človekovega delovanja. Kakovost zemljišč in podnebje na našem ozemlju omogočata rast lesnatih vrst rastlin. Nujnost pridelave hrane je bil odločilni razlog za nastanek in vzdrževanje travinja v Sloveniji. Zavedati se je potrebno, da je kar 75 % zemljišč pri nas na območjih omejenih možnosti za kmetijsko pridelavo (Vidrih, 2007).

V svetovnem merilu travniki zavzemajo okrog 64 % skupne kmetijske zemlje (Korošec, 1997). V Sloveniji imamo glede na skupno površino države le okoli 24 % kmetijskih zemljišč in rečemo da smo dežela gozda. Trajno travinje zavzema 59 % delež kmetijskih zemljišč, kar daje velik pomen v nadaljnjem smoternem razvoju območij in za boljšo kakovost bivanja ljudi. Po podatkih Popisa kmetijskih gospodarstev iz leta 2000 je razvidno, da 86 % kmetijskih gospodarstev prideluje krmo na travinju, pridelani gnoj porabijo za gnojenje njiv in to izčrpava travinje, saj del hranil ne vračajo tja od koder so jih vzeli. Z oranjem njiv na drugi strani pa pride do prehitre mineralizacije organske snovi. Okrog dve tretjini pašnikov se nahaja na območju slovenskega krasi in hribovitega sveta, kjer so tla izčrpana in imajo zaradi pomanjkanja fosforja ali kisle reakcije zgornje plasti tal majhno pridelovalno sposobnost. Zaradi pomena pridelave hrane, biodiverzitete, vezave ogljika v travniška tla, sonaravnega recikliranja odpadnih snov in nujnosti po vpeljavi trajnostnega načina kmetovanja na pašnikih v hribovitem svetu in krasi, travinje zopet pridobiva na pomenu. V preteklih letih smo sledili načinu rabe in upravljanja travinja kot ga imajo v zahodni Evropi. Pri tem se je pozabilo na našo raznolikost oblik travinja na kratkih geografskih razdaljah ter tudi v velikosti parcel ter razparceliranosti (Vidrih, 2007).

V Sloveniji imamo zaradi zelo različnih naravnih rastnih dejavnikov (podnebnih, talnih, hidroloških, orografskih in tehnologije rabe) več različnih tipov trajnega travinja. Glede na izkoriščanje in za potrebe prakse poznamo štiri tipe travinja in sicer močvirsko, nižinsko-dolinsko, hribovsko-višinsko in planinsko-alpsko, kjer ima vsak svoje prednosti in slabosti. Botaniki pa so na podlagi razvoja ekološkega omrežja Natura 2000 vpeljali delitev na suha in polsuha travišča na karbonatni podlagi in kislih tleh ter na intenzivno gojene, zmerno vlažne ali celo mokrotne travnike ter pašnike (Vidrih, 2007).

Travinje glede na izvor delimo na antropogeno in klimatogeno travinje. Na antropogeni izvor je vplival človek, ki je s krčenjem, sekanjem in požiganjem gozda širil košne in pašne površine. Klimatogeni travniki pa so nastali in se ohranjajo zaradi naravnih danosti nekega območja. Gozd se zaradi nizkih letnih temperatur ni razvil nad gozdno mejo (planinsko travinje in tundre), zaradi visokih poletnih temperatur in dolgotrajne suše so nastala območja savan in zaradi nizkih zimskih temperatur, stepe ter prerije (Korošec, 1997).

Glede na nastanek delimo travinje na naravno in sejano. Naravno je nastalo z obraščanjem rastišč s floro samoniklih rastlin. Sejano travinje nastane s setvijo zelenega sortimenta gojenih vrst trav, detelj in travno-deteljnih mešanic na izbrano pripravljeno zemljišče. Sejani travniki so glede na sestavo travno-deteljne mešanice lahko 2- do 3-letni ali večletni (nad 4 leta) (Korošec, 1997).

Glede na ekološke rastne razmere delimo travinje na absolutno in relativno. Absolutno travinje je tam, kjer glede na rastne razmere ni mogoča drugačna kmetijska raba zemljišča. Z relativnim izrazom pa označujemo zatravljeno zemljišče, ki ga lahko brez velikih problemov spremenimo nazaj v njivo (Korošec, 1997).

Glede na način intenzivnosti rabe poznamo pašnike, travnike in kombinirano pašno-košno travinje. Pašniki so kmetijska zemljišča, ki so trajno porasla s travno rušo in jih pasemo. Je najstarejša oblika rabe travinja. Botanično pašnik zastopajo vrste, ki so prilagojene na gaženje, obtrgavanje in imajo visoko sposobnost regeneracije. Pašna raba pospešuje rast nizkih vrst trav in bele detelje ter tako zgosti travno rušo. Travnik je kmetijsko zemljišče, kjer raste travna ruša, ki jo redno kosimo in gnojimo. Ob košnji odstranimo vse liste, zato pride do zastoja v rasti in izgube rezervne vlage v tleh. Redna košnja spodbuja rast večletnih rastlinskih vrst in preprečuje širjenje grmičevja in drevja. Prazen prostor med šopi visokih trav naselijo zeli, kar ima negativen vpliv na hranilno vrednost krme. Kombinirane pašno-košne travnike živina popase 3- do 4-krat in jo tudi 1- do 2-krat pokosimo za silažo ali seno. Prednosti tega sistema so, da živina dobi prvovrstno, s hranili bogato krmo in na istih zemljiščih dobimo kakovostno mrvo z veliko vsebnostjo beljakovin in malo vlaknine. Mrva je kakovostnejša tudi zato, ker jo sestavlja večje število kakovostnih in hranilno bogatih rastlinskih vrst (Korošec, 1997).

2.5.1 Škoda na travinju

Na travinju poleg ogrcev delajo gospodarsko škodo še divji prašiči (*Sus scrofa* L.), ki z ritjem iščejo ličinke ogrcev v travni ruši in jo tako tudi poškodujejo (slika 2). Ponekod travno rušo samo privzdignejo, marsikje pa je potrebno večje razritine popraviti in ponovno oblikovati travno rušo s setvijo izbranih travno deteljnih mešanic. Prav tako je na zemljiščih, ki jih prerijejo divji prašiči otežena košnja, pridelek trave pa je manjši.



Slika 2: Poškodbe travne ruše zaradi ritja divjega prašiča (*Sus scrofa* L.) v Novih lazih na Kočevskem (foto: S. Trdan, 2012)

Divji prašič spada med velike sesalce in spada med najuspešnejše sinantropne vrste prostoživečih živali v Evropi. Tudi po prostorski razširjenosti spada med najbolj razširjene. S svojo visoko zmožnostjo prilagoditve, vzdržljivosti, odpornosti na različne življenjske razmere in visoko reprodukcijo so se v zadnjih dvajsetih letih njegove populacije v Evropi zelo povečale in se tudi razširile na nove predele celine (Jelenko in sod., 2011). V Sloveniji je na drugem mestu po pomembnosti in številčnosti lovne vrste divjadi. Na prvem mestu je srnjad. Zastopan je v vseh rastlinskih pasovih in nadmorskih višinah po Sloveniji. Vrsta s svojo naraščajočo številčnostjo predstavlja velik okoljski problem, škodo v kmetijskem prostoru in postavlja lovce v nezavidljiv položaj v dialogu z lastniki kmetijskih zemljišč o trajnem gospodarjenju s populacijo divjega prašiča. V Sloveniji se je z opuščanjem kmetijstva, spremembami v načinu kmetovanja, njemu prijaznim načinom upravljanja s populacijo, posledično izboljšale habitatne razmere in se je v zadnjih štirih desetletjih njegova številčnost drastično povečala. Odstrel, kot dober kazalnik številčnosti vrste, se je povzpел iz 472 uplenjenih živali leta 1970 na 9.657 živali v letu 2008. Z naraščanjem števila živali tako narašča tudi škoda. Med leti 1998 in 2000 je bilo 60 % (153.000 EUR) celotne škode zaradi divjadi pripisana delovanju divjega prašiča. V letu 2008 je bilo 460.112 EUR oz. 85 % celotne škode po divjadi. Kar 56 % škode je bilo na travinju zaradi divjega prašiča. Te številke ga uvrščajo med najbolj problematično in upravljalno deficitno vrsto (Jonozovič in sod., 2011).

Raziskave prehrane divjih prašičev kažejo manjšanje pestrosti vrst rastlin iz gozdnih, travniških in močvirskih rastišč od zahodne Evrope proti vzhodu. Raziskovalci so pregledali njihove želodce. To razmerje je povezano z naravnimi značilnostmi okolja. Na severu so po rastlinski pestrosti revnejši iglasti gozdovi. Poleg rastlinske hrane potrebujejo tudi hrano živalskega izvora, ki je sicer drugotnega pomena. Na območju, kjer se je povečevalo število škodljivih žuželk, so glede na skupno količino hrane našli kar 88,3 % hrane živalskega izvora (97,4 % žuželk). O podobnih ugotovitvah so poročali tudi ostali raziskovalci iz srednje Azije, kjer so se divji prašiči hranili z veliko količino kobilic. Kljub temu je splošno sprejeto, da je prevladujoča hrana divjega prašiča rastlinskega izvora, v posameznih obdobjih pa prevladuje živalska hrana. Na Nizozemskem so v želodcih divjega prašiča našli žito, orlovo praprot, žir, borove iglice, hrastovo in brezovo listje, borovničevo listje, drevesne in zeliščne korenine, lubje, drevesne poganjke, sesalce, žuželke, deževnike. V Bialoveški pušči so delali raziskave prehrane divjih prašičev. Na podlagi analize želodcev so ugotovili, da podzemna rastlinska hrana med letom zaseda 56 %, zelena rastlinska hrana 24 %, gozdni sadeži in plodovi (pretežno želod) 7,6 % ter živalska (beljakovinska) hrana 12,4 %. Domači kostanj in želod sta najbolj priljubljeni hrani, ki ji divji prašič daje prednost v vsakem letnem času. Vir živalske hrane so mali sesalci (miši, srnji mladič, poginula divjad), žuželke, nebogljeni ptiči in jajca v gnezdih ptic, ki valijo na tleh, razni plazilci (kuščarji, kače, polži in deževniki). Z ritjem iščejo podzemne dele rastlin, kot so korenine, gomolji, čebulice in tudi ogrce. Z analizo želodca divjega prašiča, ki se je pasel približno 3 ure, so našli 900 ogrcev majskega hrošča. V drugem primeru pa so našli kar 1186 ogrcev majskega hrošča. To ne pomeni, da so divji prašiči na ta način odločilni pri preprečevanju škod zaradi škodljivcev. Pozitivna stran ritja po gozdnih tleh je v mešanju površinskih plasti tal, kar pospešuje nastajanje humusa, povečuje zračnost in vlažnost gozdnih tal. Nenamerno vplivajo tudi na pomlajevanje gozda. Z ritjem ne najdejo vsega želoda, nekaj jih posledično tudi prekrijejo z zemljo in jim omogočijo možnost za kalitev (Krže, 1982).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 OPIS OBMOČJA IZVEDBE POSKUSA

Poskus učinkovitosti različnih biotičnih sredstev, katerih aktivne snovi so biotični agensi, smo izvedli v Gotenici leta 2013, med aprilom in novembrom. Območje spada v dinarski svet Slovenije, ima zmerno celinsko podnebje (preglednica 2) in je del zakraselega sveta Dinarskega gorstva. Gotenica leži na 659 m nadmorske višine v jugovzhodni Sloveniji, v občini Kočevje. Natančne koordinate lokacije poskusnega območja so 45 °36'42.53"N in 14 °36'42.53"E. Lokacija poskusa je bil trajni travnik, kjer lastnik travno rušo izkorišča za pridobivanje tako silaže kot mrve za govedo.

Preglednica 2: Povprečna temperatura zraka (°C), povprečna najnižja in najvišja temperatura zraka (°C) ter količina padavin (mm) za meteorološko postajo Kočevje v letu 2013 (ARSO, 2016)

Mesec	Povpr. T (°C)	Povpr. max. T (°C)	Povpr. min. T (°C)	Količina padavin (mm)
Januar	-0,2	3,5	-4,2	153,8
Februar	-0,8	2,6	-3,9	208,9
Marec	1,5	7,1	-2,3	178,0
April	9,6	16,4	4,0	94,3
Maj	13,0	19,0	8,0	170,6
Junij	16,9	24,9	10,8	74,4
Julij	19,7	28,5	12,9	49,3
Avgust	18,9	28,1	12,3	103,2
September	13,7	21,0	8,3	159,3
Oktober	11,3	16,9	6,8	76,7
November	5,7	9,1	2,9	282,3
December	1,9	7,0	-2,5	54,0

3.2 OPIS IZVEDBE POSKUSA

Na naši izbrani lokaciji smo v pilotnem proučevanju v marcu 2013 želeli preveriti število ogrcev v tleh. V ta namen smo skopali 4 jame velikosti 0,25 m² in globine 25 cm. V povprečju smo v marcu 2013 na 1 m² našli v tleh 28,5 ± 3,6 ogrcev razvojne stopnje L₁, 23,5 ± 4,4 ogrcev razvojen stopnje L₂ in 14 ± 3,7 ogrcev razvojne stopnje L₃. Glede na znane podatke o kritičnem številu ogrcev v tleh: 30-40 ogrcev L₁/m², 20-30 ogrcev L₂/m² in 10-20 ogrcev L₃/m² (Horber, 1954, cit. po Laznik in Trdan, 2015; Huiting in sod., 2006), je bila uporaba biotičnih agensov gospodarsko upravičena, saj je bilo njihovo število povečano (Priloga A).

V istem letu, 2013, smo zasnovali poskus v 5 blokih, znotraj vsakega bloka smo imeli 10 različnih obravnavanj (preglednica 3). Poskusna enota je bila parcela velikosti 35 m² (5 x 7 m).

Preglednica 3: Načrt poskusa po blokkih in s termini vzorčenja

Blok	Obravnavanje								
I.									
18.4.	Delfin WG	Delfin WG + Nemasys G	Novodor FC	Novodor FC + Nemasys G	Naturalis	Naturalis + Nemasys G	Melocont Pilzgerste	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Nemasys G
26.6.									
19.9.									
19.10.									
II.									
23.5.	Delfin WG	Delfin WG + Nemasys G	Novodor FC	Novodor FC + Nemasys G	Naturalis	Naturalis + Nemasys G	Melocont Pilzgerste	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Nemasys G
31.7.									
III.									
18.4.	Delfin WG	Delfin WG + Nemasys G	Novodor FC	Novodor FC + Nemasys G	Naturalis	Naturalis + Nemasys G	Melocont Pilzgerste	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Nemasys G
31.7.									
IV.									
26.6.	Delfin WG	Delfin WG + Nemasys G	Novodor FC	Novodor FC + Nemasys G	Naturalis	Naturalis + Nemasys G	Melocont Pilzgerste	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Nemasys G
22.8.									
19.10.									
V.									
23.5.	Delfin WG	Delfin WG + Nemasys G	Novodor FC	Novodor FC + Nemasys G	Naturalis	Naturalis + Nemasys G	Melocont Pilzgerste	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Nemasys G
22.8.									
19.9.									
26.11.									

Uporabili smo biotične pripravke na podlagi entomopatogenih gliv *Beauveria brongniartii* (Melocont Pilzgerste) in *Beauveria bassiana* (Naturalis), entomopatogene ogorčice

Heterorhabditis bacteriophora (Nemasys G) in entomopatogene bakterije *Bacillus thuringiensis* (Delfin WG in Novodor FC). V vsakem bloku smo imeli kontrolno obravnavanje brez uporabe pripravkov. Zaradi narave izvedbe poskusa (uporaba traktorja s sejalnico) nismo imeli randomizacije znotraj blokov.

Enkrat mesečno smo med aprilom in novembrom naredili talne izkope (50 x 50 cm, 25 cm globoko), ogrcem smo vizualno določili vrsto in jih prešteli po razvojnih stopnjah (L₁, L₂, L₃, imago in buba). Prvo štetje smo opravili 18. 4. (I. in III. blok), drugo, 23. 5. (II. in V. blok), tretje, 26. 6. (IV. in I. blok), četrto, 31. 7. (II. in III. blok), peto, 22. 8. (IV. in V. blok), šesto, 19. 9. (I. in V. blok), sedmo, 19. 10. (I. in IV. blok) in osmo, 26. 11. (V. blok). V navedenih terminih smo šteli ogrce v vseh obravnavanjih v različnem številu blokov (najmanj 1 blok in največ 2 bloka), kar pomeni, da imamo v različnih terminih različno število ponovitev.

Glede na znane podatke o razvojnem krogu junijskega hrošča v Sloveniji smo se odločili za dvakratno aplikacijo biotičnih pripravkov v rastni dobi. Prvi vnos smo izvedli spomladi, 18. aprila, ko so bili ogrci v razvojni stopnji L₃. Drugo, poletno, aplikacijo smo izvedli 22. avgusta, ko so bili ogrci v razvojnih stopnjah L₁ in L₃. V času nanosa je bilo oblačno vreme. Entomopatogene ogorčice vrste *Heterorhabditis bacteriophora* smo spomladi in poleti nanесли na določene parcele 14 dni po aplikaciji ostalih biotičnih pripravkov. Takšen časovni zamik se je, glede na podatke iz preteklih raziskav zatiranja ogrcev, izkazal za najbolj učinkovitega (Koppenhöffer in Kaya, 1997). V času nanosa sredstev je bilo oblačno in deževno vreme, sonca ni bilo.

Biotične pripravke smo v travno rušo vnesli na različne načine (preglednica 4): Melocont Pilzgerste na steriliziranem zrnju ječmena (sterilizacijo je opravil proizvajalec pripravka), Novodor FC na steriliziranem zrnju ječmena, tretiranem z bioinsekticidom –*B. thuringiensis* var. *tenebrionis*), Naturalis na steriliziranem zrnju ječmena, tretiranem z bioinsekticidom *B. bassiana*) in Delfin WG na steriliziranem zrnju ječmena, tretiranem z bioinsekticidom – *B. thuringiensis* var. *kurstaki*). Pripravke Novodor FC, Naturalis in Delfin WG smo nanесли na ječmenovo zrnje, ki smo ga 24 ur pri 60 °C sterilizirali v električnem suhem sterilizatorju (proizvajalec: Tvornica medicinskih instrumenata, aparata i šprica, Zagreb) v Laboratoriju za entomologijo Odd. za agronomijo. Za vsejavanje v tla smo uporabili parcelno sejalnico Hunters, ki je namenjena za direktno setev (Hunter Rotary Strip Seeder, Velika Britanija). Sejalnica z načinom predhodnega frezanja omogoči boljše razmere za razvoj in delovanje biotičnih agensov. Vodno suspenzijo entomopatogenih ogorčic (pripravek Nemasys G) smo nanесли na travno rušo z ročno škropilnico SOLO SO 463 z manometrom in najvišjim tlakom 3 bare.

3.3 UPORABLJENI MATERIALI

3.3.1 Melocont Pilzgerste

Melocont Pilzgerste je mikoinsekticid na podlagi entomopatogene glive *Beauveria brongniartii*. V Italiji je registriran za uporabo na travnikih, pašnikih, zelenicah, okrasnih rastlinah, drevesnicah, gozdnih vrtovih, njivah, sadovnjakih in vinogradih. Priporočen odmerek je 30-50 kg/ha. V enem letu ga lahko uporabimo največ trikrat in to v razmaku 60 dni. V tla se zadela z zrnjem, na globino 3-10 cm. Učinek delovanja pripravka je na vseh tipih tal enak. Zmanjšanje učinkovanja je možno ob močnem deževju in daljšem sušnem obdobju, še posebno na peščenih tleh (Agrifutur, 2016). Pripravek v Sloveniji ni registriran za uporabo v varstvu rastlin.

3.3.2 Naturalis

Naturalis je biotični insekticid za zatiranje škodljivcev na vrtninah, krompirju, sadnem drevju, jagodičju in lešnikih. Kot aktivno snov vsebuje entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana*. Ima kontaktni način delovanja. Pripravek nanesemo na rastline foliarno (za zatiranje ščitkarjev, pravih listnih uši, navadne pršice, čipkarke, škržatov in sadnih muh) ali kot talni nanos (zatiranje strun in lešnikarja) (FURS, 2016). Na hektar uporabimo 1-3 litre pripravka, odvisno od vrste gojene rastline (Seznam ..., 2016). Pripravek je v Sloveniji registriran za uporabo v varstvu rastlin.

3.3.3 Delfin WG

Delfin WG je biotični insekticid na podlagi bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Uporablja se za zatiranje gosenic metuljev (Lepidoptera), kot so grozdni sukači, zavijači na sadnem drevju, belini, sovke ter proti ostalim ličinkam, ki delajo škodo na okrasnih rastlinah ter drevju v drevesnicah (Kos, 1999). Uporablja se v obliki vodotopnih zrn v koncentraciji 0,075-0,15 % (Seznam ..., 2016). Pripravek je v Sloveniji registriran za uporabo v varstvu rastlin.

3.3.4 Novodor FC

Novodor FC je biotični insekticid, ki deluje na podlagi v naravi zastopane bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*. Je zelo učinkovit pri zatiranju nekaterih vrst hroščev (Coleoptera). Priporoča se za zatiranje koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) (Valent Biosciences, 2016). Pripravek v Sloveniji ni registriran za uporabo v varstvu rastlin.

3.3.5 Nemasys G

Pripravek Nemasys G vsebuje entomopatogene ogorčice vrste *Heterorhabditis bacteriophora*. Registriran je za zatiranje ogrcev. Uporablja se od avgusta do oktobra, ko so mladi ogrci še aktivni in je temperatura tal nad 12 °C (Becker Underwood, 2016).

Preglednica 4: Obravnavanja v poskusu s prikazom kombinacij biotičnih sredstev

Biotični agens	Formulacija	Aktivna snov	Komercialno ime	Vir pripravka	Količina
Entomopatogena gliva	Zrnje	<i>Beauveria brongniartii</i> izolat IMBST 95.031	Melocont Pilzgerste	Proizvajalec: Agrifutur, Brescia	60 kg ha ⁻¹
Entomopatogena gliva	Zrnje	<i>Beauveria bassiana</i> izolat ATCC 74040	Naturalis	Proizvajalec: INTRACHEM Bio Italia; Distributer: Karsia, Dutovlje, d.o.o.	60 kg ha ⁻¹ (0,2 %)
Entomopatogena gliva + EPN	Zrnje + vodna suspenzija	<i>Beauveria brongniartii</i> izolat IMBST 95.031 + <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Melocont Pilzgerste + Nemasys G	Proizvajalec: Agrifutur, Brescia in Becker & Underwood, Velika Britanija; distributer: Metrob d.o.o., Slovenija	60 kg ha ⁻¹ + 5x10 ⁹ IL ha ⁻¹
Entomopatogena gliva + EPN	Zrnje + vodna suspenzija	<i>Beauveria bassiana</i> izolat ATCC 74040 + <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Naturalis + Nemasys G	Proizvajalec: INTRACHEM Bio Italija; distributer: Karsia, Dutovlje, Slovenija; + Proizvajalec: Becker & Underwood, Velika Britanija; distributer: Metrob d.o.o., Slovenija	60 kg ha ⁻¹ (0,2 %) + 5x10 ⁹ IL ha ⁻¹
Bakterija	Zrnje	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Delfin WG	Proizvajalec: Agrisense, Velika Britanija; distributer: Karsia, Dutovlje, d.o.o., Slovenija	60 kg ha ⁻¹ (0,025 %)
Bakterija	Zrnje	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i>	Novodor FC	Proizvajalec: Valent Biosciences, ZDA	60 kg ha ⁻¹ (0,16 %)
Bakterija + EPN	Zrnje + vodna suspenzija	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> + <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Delfin WG + Nemasys G	Proizvajalec: Agrisense, Velika Britanija; Distributer: Karsia, Dutovlje, d.o.o. + Proizvajalec: Becker & Underwood, Velika Britanija; Distributer: Metrob d.o.o., Slovenija	60 kg ha ⁻¹ (0,025 %) + 5x10 ⁹ IL ha ⁻¹

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 4

Biotični agens	Formulacija	Aktivna snov	Komercialno ime	Vir pripravka	Količina
Bakterija + EPN	Zrnje + vodna suspenzija	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tenebrionis</i> + <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Novodor FC + Nemasys G	Proizvajalec: Valent Biosciences, ZDA + Proizvajalec: Becker & Underwood, Velika Britanija; Distributer: Metrob d.o.o., Slovenija	60 kg ha ⁻¹ (0,16 %) + 5x10 ⁹ IL ha ⁻¹
EPN	Vodna suspenzija	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Nemasys G	Proizvajalec: Becker & Underwood, Velika Britanija; Distributer: Metrob d.o.o., Slovenija	5 x 10 ⁹ IL ha ⁻¹

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

V statistični analizi smo ugotavljali razlike v povprečnem številu ogrcev med različnimi obravnavanji ob več terminih za posamezno razvojno stopnjo (L₁, L₂ in L₃). V vseh blokih so bila obravnavanja prirejena sistematično v enakem vrstnem redu. Ker za število ogrcev ne moremo predpostaviti normalne porazdelitve, smo pred izvedbo statistične analize povprečno število ogrcev transformirali s korensko transformacijo. Dejavnika čas in sredstvo nista ortogonalna, zato smo rezultate analizirali v okviru mešanih linearnih modelov. Za vsako razvojno stopnjo posebej smo z mešanim modelom vrednotili vpliv različnih biotičnih sredstev, časa in njunega medsebojnega vpliva na povprečno število ogrcev. Statistično značilne razlike med povprečji za različne dneve vzorčenja pri različnih obravnavanjih ($p \leq 0,05$) smo analizirali z uporabo kontrastov oziroma načrtovanih primerjav. Podatke analiz smo statistično obdelali v programskem okolju R z grafičnim vmesnikom R Commander (R Core Team, 2016).

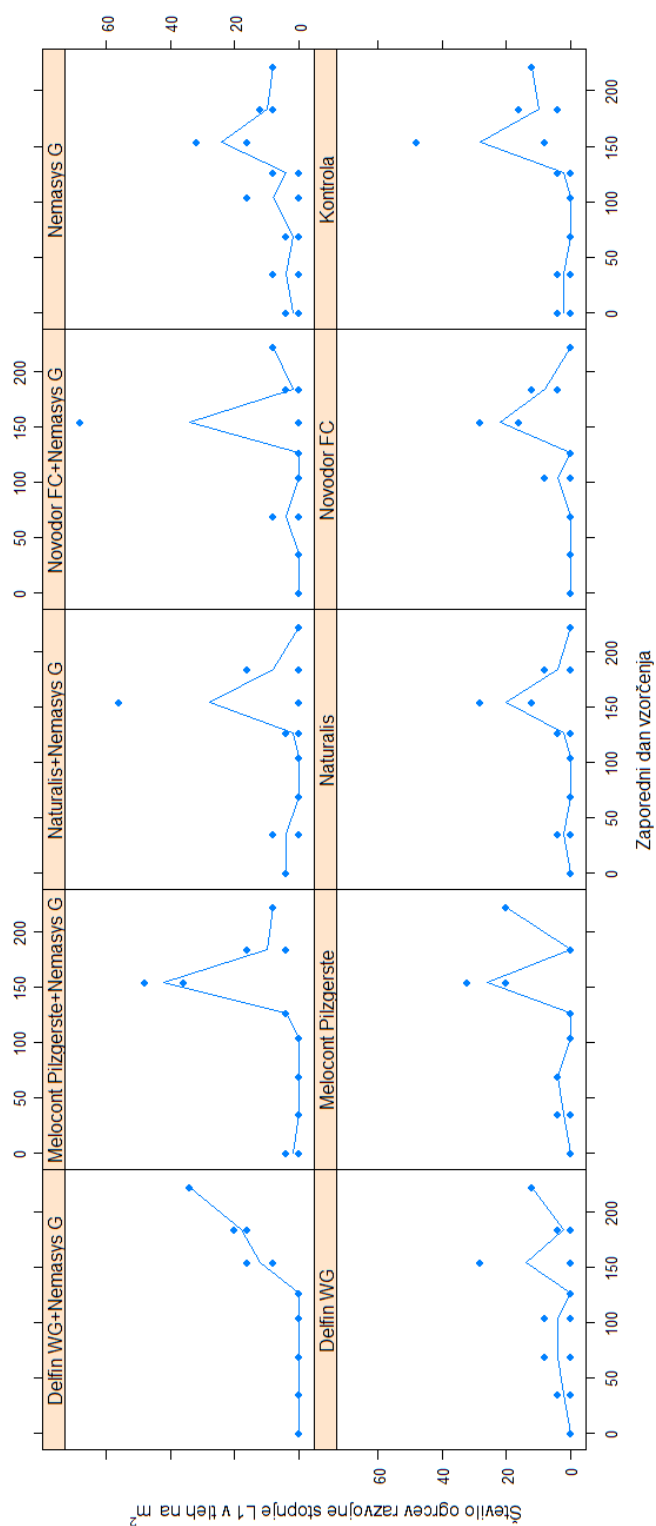
4 REZULTATI

Tabela analize variance za mešane modele je v preglednici 5. Pokazalo se je, da se je povprečno število ogrcev L_1 statistično značilno spreminjalo v času, za povprečno število ogrcev L_2 nismo dobili statistično značilnih rezultatov, za povprečno število ogrcev L_3 pa je statistično značilna interakcija med časom in pripravi, kar pomeni, da se je pri različnih pripravkih število ogrcev s časom spreminjalo različno.

Preglednica 5: Rezultati analize ANOVA za število ogrcev v tleh na m^2 glede na čas vzorčenja, obravnavanje in njuno interakcijo

Razvojne stopnje	L_1			L_2			L_3		
Statistični pojmi	F	df	p	F	df	p	F	df	p
Čas vzorčenja	16,24	7	<0,0001	1,45	7	0,1994	54,24	7	<0,001
Pripravek (obravnavanje)	0,81	9	0,605	0,60	9	0,7918	0,63	9	0,7613
Čas vzorčenja:pripravek	0,76	63	0,866	0,68	63	0,9338	1,56	63	0,0383

4.1 OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L₁



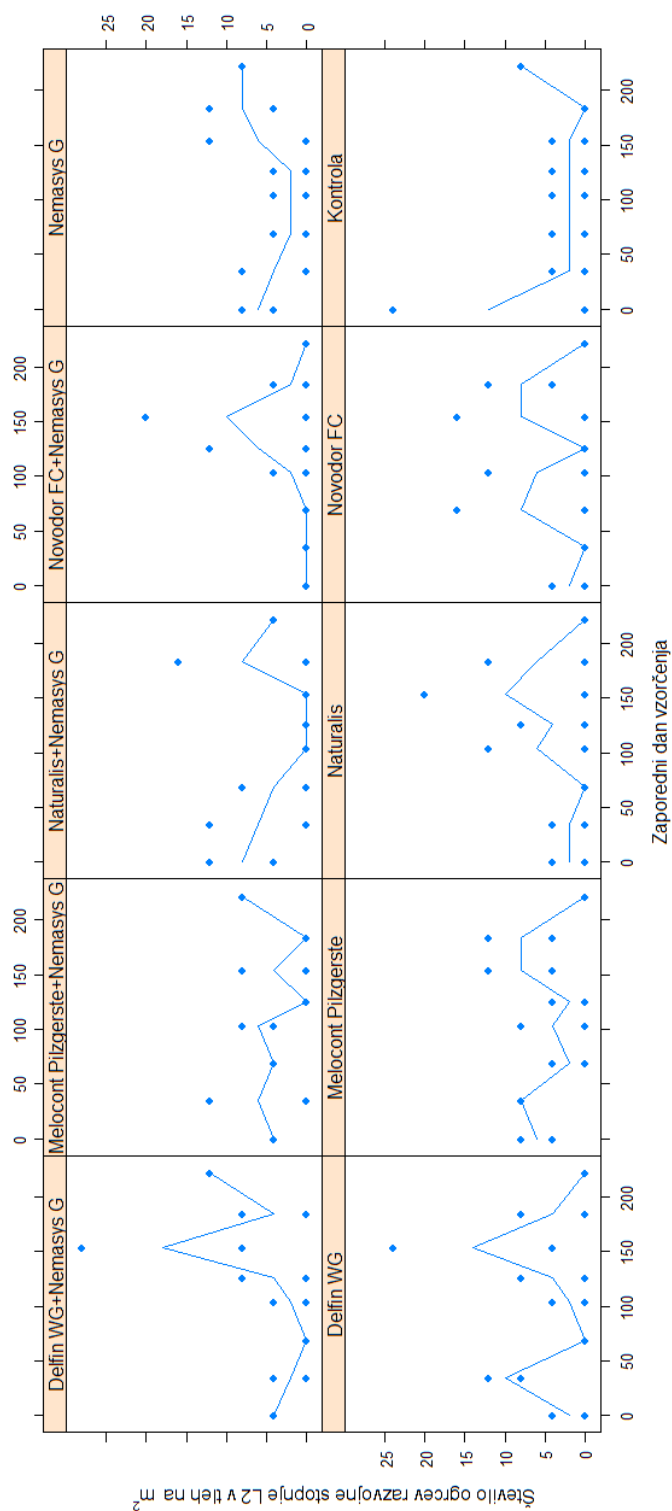
Slika 3: Število ogrcev razvojne stopnje L₁ v tleh (na m²) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin

V letu 2013 je bilo največje število ogrcev v razvojni stopnji L_1 v septembru ($25 \pm 1,99$ ličink / m^2) (priloga B). V ostalih mesecih je bilo v povprečju njihovo število pod $2,97 \pm 0,48$ ličink na kvadratni meter (priloga B). V vseh obravnavanih mesecih smo našli ogrce. Različne vrste ogrcev imajo različne razvojne kroge. V aprilu in maju smo vse ogrce morfološko določili kot julijskega hrošča. Statistično značilnih razlik v povprečnem številu ogrcev med različnimi obravnavanji ni (preglednica 5). Statistično značilne razlike smo potrdili samo med meseci vzorčenja. V septembru se je namreč glede na avgust povečala populacija ogrcev L_1 junijskega hrošča v povprečju za $14,3$ ogrcev/ m^2 (95 % interval zaupanja za to razliko je $6,5$ ogrcev/ m^2 – 25 ogrcev / m^2). Ta je med junijem in julijem na območju Gotenice odlagal jajčeca. Septembra so se namreč iz jajčec začeli izlegati ogrci L_1 junijskega hrošča in julijskega hrošča. Zato je tudi opazno povečanje populacije. Statistično značilne razlike smo ugotovili tudi med septembrom in oktobrom, ko je povprečna velikost populacije padla za $5,1$ ogrcev / m^2 (interval zaupanja za to razliko je $1,1$ ogrcev / m^2 – $12,2$ ogrcev / m^2) (preglednica 6).

Preglednica 6: Rezultati načrtovanih primerjav, p-vrednosti in ocene razlik povprečja števila ogrcev L_1 med zaporednimi meseci (inverzna transformacija z modelom ocenjenih vrednosti) s pripadajočimi intervali zaupanja

Mesec vzorčenja	p-vrednost	Ocena razlike povprečij števila ogrcev	Spodnja meja 95 % IZ	Zgornja meja 95 % IZ
Maj-april	0,999	0		
Junij-maj	1,000	0		
Julij-junij	1,000	0		
Avgust-julij	1,000	0		
September-avgust	< 10 ⁻⁴	14,3	6,5	25,0
Oktober-september	< 10 ⁻⁴	-5,1	-12,2	-1,1
November-oktober	0,974	0		

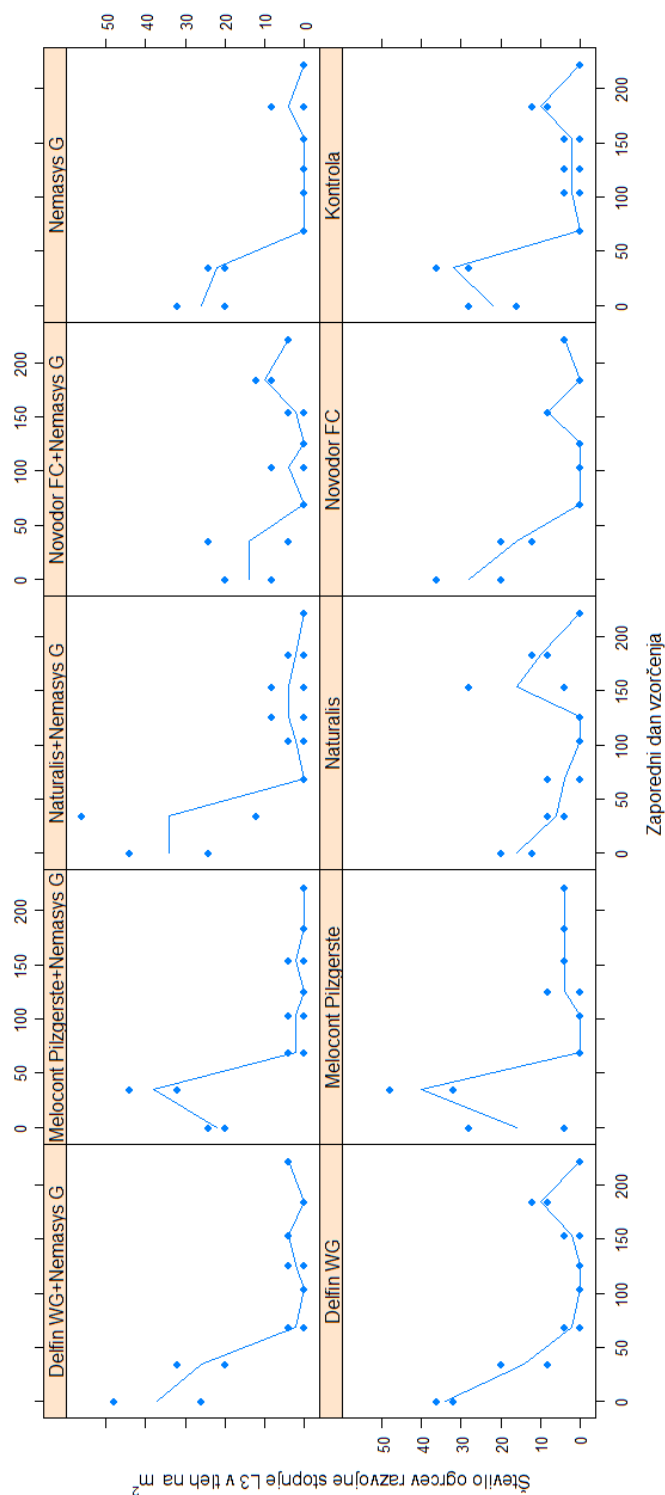
4.2 OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L₂



Slika 4: Število ogrcev razvojne stopnje L₂ v tleh (na m²) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin

V septembru je bilo povprečno število ogrcev največje, in sicer $8 \pm 2,05 / \text{m}^2$ (slika 4), vendar to povprečje ni statistično značilno odstopalo od ostalih. Večina ogrcev je pripadalo junijskemu hrošču in nekaj osebkov poljskemu majskemu hrošču. Povečano število ogrcev v septembru je zaradi prve levitve ogrcev junijskega hrošča konec septembra, ko ti preidejo v razvojno stopnjo L_2 . V ostalih mesecih je bilo v povprečju $3,57 \pm 0,41$ ogrcev na m^2 (priloga B). V razvojni stopnji L_2 ni bilo statistično značilnih razlik med meseci vzorčenja in posameznimi obravnavanji.

4.3 OGRCI - RAZVOJNA STOPNJA L₃



Slika 5: Število ogrcev razvojne stopnje L₃ v tleh (na m²) glede na čas vzorčenja in obravnavanje (0 dni = april, 100 dni = julij, 150 dni = september, 220 dni = november), črta povezuje povprečja za posamezni termin

Največje število ogrcev v razvojni stopnji L_3 je bilo v aprilu ($24,9 \pm 2,49$ ogrcev/m²) in maju ($24,2 \pm 3,25$ ogrcev/m²) (priloga B). V teh dveh mesecih je bilo preseženo kritično število ogrcev na m² ($10-20$ ogrcev/m²). V ostalih mesecih je bilo v povprečju $6,78 \pm 1,00$ ogrcev/m² (priloga B). Pri ogrcih razvojne stopnje L_3 je bila prevladujoča vrsta junijski hrošč, našli pa smo tudi osebkje poljskega majskega hrošča, julijskega hrošča in vrtnega hrošča. Med terminom vzorčenja in obravnavanji je bila statistično značilna razlika v številu ogrcev na m² med majem in junijem (preglednica 7). Število je skoraj pri vseh obravnavanjih znatno padlo. Statistično značilne razlike lahko potrdimo za pripravke Melocont Pilzgerste, Melocont Pilzgerste v kombinaciji z Nemasys G ter pri pripravku Naturalis skupaj z Nemasys G. Pri pripravku Melocont Pilzgerste se je v juniju glede na maj povprečna velikost populacije zmanjšala za $40,0$ ogrcev/m² (95% interval zaupanja za to razliko je $6,5$ ogrcev/m² – $100,7$ ogrcev/m²). Pri uporabi pripravkov Melocont Pilzgerste in Nemasys G se je povprečna velikost populacije zmanjšala za $26,5$ ogrcev/m² (95% interval zaupanja za to razliko je $1,9$ ogrcev/m² – $79,5$ ogrcev/m²). Pri uporabi pripravka Naturalis in Nemasys G se je povprečna velikost populacije zmanjšala za $30,0$ ogrcev/m² (95% interval zaupanja za to razliko je $3,0$ ogrcev/m² – $84,9$ ogrcev/m²). Prav tako je statistično značilna razlika pri kontrolnem poskusu. V juniju je povprečna velikost populacije glede na maj padla za 22 ogrcev/m² (95% interval zaupanja za to razliko je $0,9$ ogrcev/m² – $71,0$ ogrcev/m²). Glede na njihov razvojni krog se je v teh mesecih povečalo število bub junijskega in julijskega hrošča. Zato ne moremo trditi, da se je populacija statistično značilno zmanjšala zaradi delovanja biotičnih pripravkov ali pomladne aplikacije pripravkov. Iz vidika varstva rastlin je za nas pomembna primerjava med meseci april-maj in avgust-september, saj smo takrat vnesli pripravke v tla. V teh mesecih ni statistično značilnih razlik med terminom vzorčenja in obravnavanji. Tako ne moremo potrditi večje učinkovitosti pomladnega ali poletnega vnosa biotičnih pripravkov. V aprilu, maju in juliju smo zasledili tudi nekaj imagov gozdnega majskega hrošča.

Preglednica 7: Ocene razlik povprečja števila ogrcev med junijem in majem, pripadajoče p -vrednosti in intervali zaupanja za razvojni stopnjo L_3 za vse pripravke

Pripravek	p -vrednost	Ocena razlike povprečij števila ogrcev	Spodnja meja 95 % IZ	Zgornja meja 95 % IZ
Delfin WG	0,667	-7,0		
Delfin WG + Nemasys G	0,017	-16,5	-61,0	-0,1
Melocont Pilzgerste	< 0,001	-40,0	-100,7	-6,5
Melocont Pilzgerste + Nemasys G	< 0,001	-26,5	-79,5	-1,9
Naturalis	1,000	1		
Naturalis + Nemasys G	< 0,001	-30,0	-84,9	-3,0
Novodor FC	0,024	-15,7	-59,5	-0,1
Novodor FC + Nemasys G	0,120	-11,9		
Nemasys G	0,002	-31,9	-88,2	-3,6
Kontrola	< 0,001	-22,0	-71,0	-0,9

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Zatiranje ogrcev, ličink iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae), je težavno. V Sloveniji imamo velik delež travinja in ob prereznožitvi ogrcev lahko nastane velika gospodarska škoda. Zaradi prepovedi uporabe fitofarmacevtskih sredstev na travinju, vedno večji ozaveščenosti ljudi o negativnem vplivu fitofarmacevtskih sredstev na okolje, razvoju odpornosti škodljivih organizmov na fitofarmacevtska sredstva, strokovnjaki ocenjujejo (Koppenhöfer in Kaya, 1997), da imajo biotični pripravki prihodnost.

Z našim raziskovalnim delom smo želeli ugotoviti, kateri biotični pripravek in njihova kombinacija je najučinkovitejša za zatiranje ogrcev na naravnem travinju. Po zaključku poskusa ne moremo izpostaviti nobenega od uporabljenih pripravkov in njihove kombinacije, kot posebno učinkovitega za zatiranje ogrcev.

Z uporabljenimi biotičnimi pripravki smo želeli zmanjšati število ogrcev pod prag gospodarske škode. Pred začetkom poskusa je bilo v razvojnih stopnjah L_2 in L_3 preseženo kritično število ogrcev na m^2 , samo v razvojni stopnji L_1 je bilo povprečno število ogrcev na m^2 ravno pod kritičnim številom (30-40 ogrcev/ m^2). Število ogrcev v razvojnih stopnjah L_1 in L_2 smo zmanjšali pod kritično število. Pri razvojni stopnji L_3 , v kateri je ogrce težje zatreti, je bilo v aprilu in maju preseženo kritično število ogrcev na m^2 .

Villani in Wright (1988) navajata za zatiranje ogrcev pahljačnika *Rhizotrogus majalis* v razvojni stopnji L_3 94 % učinkovitost uporabe entomopatogene ogorčice *Heterorhabditis heliothidis* v laboratorijskih razmerah in več kot 60 % učinkovitost na prostem. Tako kot v našem poskusu, tudi po svetu uporabljajo biotične pripravke z aktivno snovjo *B. brongniartii* za zatiranje poljskega majskega hrošča (Zimmermann, 2007). V Avstriji so za namen zmanjšanja številčnosti poljskega majskega hrošča uporabili pripravek Melocont Pilzgerste. Za 50 % smrtnost ogrcev poljskega majskega hrošča so uporabili 56 kg pripravka/ha (Laengle in sod., 2005). V našem poskusu smo uporabili 60 kg ha^{-1} omenjenega pripravka. Ne moremo potrditi učinkovitost ali neučinkovitost pripravka Melocont Pilzgerste, saj je bila večinska populacija ogrcev vrste junijskega hrošča.

Leta 2005 so na Idrijskem izvedli podoben poskus za biotično zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča z glivo *Beauveria brongniartii*. Na območju 92 ha travnikov se je zaradi delovanja glive število ogrcev zmanjšalo za 38,7 %. Na tretiranih območjih je bilo skupno zmanjšanje števila ogrcev za 88,2 %. Zaradi pomanjkanja vlage v tleh 3 tedne po tretiranju je bila učinkovitost delovanja glive slabša. Tako ni imela ustreznih razmer za hitrejšo rast in delovanje. Na kontrolni površini se je zmanjšalo število ogrcev za 49,5 %, kar je bila posledica naravnih vzrokov (vremenske razmere, plenilci, delovanje avtohtone glive *B. brongniartii*), zelo verjetno pa je bilo zmanjšanje tudi posledica kanibalizma. Travniki so bili v enem obdobju zaradi velike količine padavin nekaj časa poplavljeni; ogrci so tako prilezli na površje in bili izpostavljeni ultravijoličnim žarkom, lahek plen pticam ter drugim živalim. Leto in pol po vnosu entomopatogene glive *B. brongniartii* je bilo v tleh

še zmeraj prisotne dovolj glive za nadaljnje zmanjševanje števila ogrcev poljskega majskega hrošča (Poženel, 2007).

Tudi na Madžarskem so preizkušali učinkovitost ogorčic proti poljskemu majskeemu hrošču, ki predstavlja pomembnega škodljivca novo posajenih jablan. V sosednji državi je v integrirani pridelavi sadja namreč prepovedana uporaba talnih insekticidov. Ogorčica *H. bacteriophora* HU86 je vplivala na zadovoljive rezultate in v prihodnosti bodo izvedene dodatne raziskave z namenom učinkovitejšega biotičnega zatiranja ogrcev vrste *M. melolontha* (Kaya in sod., 2006).

Entomopatogene ogorčice pa uporabljajo za zatiranje ogrcev vrtnega hrošča, poljskega majskega hrošča in junijskega hrošča v tratih na igriščih za golf. V eni od raziskav je bilo ugotovljeno, da ima ogorčica *Steinernema glaseri* potencial za zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča v razvojni stopnji L₂ pri koncentraciji 1500 ogorčic na ogrca (Peters, 2000). Za zatiranje ogrcev ima velik potencial tudi vrsta *Steinernema scarabaei*, ki se je izkazala z visoko učinkovitostjo in dolgo obstojnostjo v tleh (Lacey in sod., 2015). V raziskavah se je entomopatogena ogorčica *Steinernema scarabaei* izkazala za bolj patogeno od vrste *Heterorhabditis bacteriophora*. Obe vrsti so preizkušali v učinkovitosti proti ogrcem pahljačnikov *Popillia japonica* (Newman), *Anomala orientalis* (Waterhouse), *Rhizotrogus majalis* in *Maladera castanea* (Arrow). Ogorčica *S. scarabaei* je bila bolj virulentna za pahljačnika *P. japonica* in *R. majalis*. Vzrok za razlike v učinkovitosti med njima so strokovnjaki pripisali različni hitrosti rasti simbiotskih bakterij in tudi dejstvu, da je bila bakterija *Xenorhabdus koppenhoeferi*, ki je simbiont ogorčice *S. scarabaei*, izolirana iz japonskega hrošča. Tako je možno, da ogorčica *Steinernema scarabaei* tudi lažje prodre v notranjost gostitelja kot ogorčica *H. bacteriophora* (An in Grewal, 2007). V našem poskusu smo uporabili entomopatogeno ogorčico *Heterorhabditis bacteriophora*, ki je po tej raziskavi manj patogena in nam daje možnost nadaljnjih raziskav o ustreznejši izbiri vrste ogorčice za zatiranje poljskega majskega, junijskega, julijskega in gozdnega hrošča.

Učinkovitost entomopatogenih ogorčic je zelo odvisna tudi od interakcij med vrstami ogorčic in ogrcev. Ena vrsta ogorčic je bolj učinkovita proti določenim vrstam ogrcem, druga pa proti drugim. Zaenkrat ne poznamo nobene vrste ogorčic, ki bi ji lahko pripisali najboljšo učinkovitost za zatiranje vseh vrst ogrcev. V raziskavi so potrdili, da je za zatiranje hroščev iz poddružine Melolonthinae (*Amphimallon* spp., *Melolontha* spp.) in Rutelinae najbolj učinkovita vrsta *Steinernema scarabaei*. Vrsta *Heterorhabditis bacteriophora* pa je najbolj učinkovita pri zatiranju hroščev iz poddružine Dynastinae (*Cyclocephala* spp.) (Koppenhöfer in sod., 2006).

Iz literature so znani rezultati o kombinaciji entomopatogenih ogorčic z drugimi vrstami ogorčic, gliv, bakterij in virusov, ki povečajo smrtnost škodljivcev. Enkratni nanos glive *Beauveria bassiana* in ogorčice *Steinernema carpocapsae* na drevesno deblo za delovanje proti gosenici Indarbela dea (Swinhoe) se je izkazal kot 100 % učinkovit. Za enak rezultat bi morali samo ogorčice nanesti dvakrat (Grewal, 2012). V našem poskusu ne moremo

potrditi, da je kombinacija biotičnih pripravkov učinkovitejša kot uporaba posameznih pripravkov.

Znano je tudi, da entomopatogene ogorčice niso izpolnile visokih pričakovanj izpred začetkov njihove komercializacije. V 25 letih, odkar so na trgu, so dosegle le 10 % pričakovane zastopanosti na trgu. Razlogi so v življenjski dobi, ceni pripravkov in učinkovitosti. Za povečanje njihove učinkovitosti bi jih bilo potrebno izboljšati. To se lahko naredi z odkritjem novih vrst in genetsko izboljšavo že znanih vrst (Lacey in sod., 2015).

Zatiranje L₃ razvojne stopnje ogrcev je težko, kar smo ugotovili tudi v našem poskusu in tudi v drugih raziskavah. Kombinirana uporaba entomopatogenih ogorčic in *Bacillus thuringiensis* var. *japonensis* (Bty) naj bi presegla te omejitve. Bakterija *B. thuringiensis* var. *kurstaki* se uporablja za zatiranje žuželk iz reda metuljev (Lepidoptera) v sadovnjakih in pridelavi zelenjave. Pri zatiranju koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in ostalih hroščev iz družine lepencev (Chrysomelidae) ta bakterija ni zadovoljivo učinkovita. Pri zatiranju koloradskega hrošča ima velik pomen toksin Cry 3Aa, ki ga proizvaja bakterija *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*. Še posebno je učinkovit pri uporabi v zgodnjih stadijih razvoja hrošča. Zelo učinkovit je v transgenih rastlinah, vendar se takšen način obrambe rastlin pred škodljivci v Evropi le počasi širi zaradi dvomov o negativnih vplivih transgenih rastlin (Lacey in sod. 2015). Tudi Koppenöffer in Kaya (1997) poročata ob boljši učinkovitosti bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *japonensis* (Bty) pri zatiranju ogrcev v zgodnejših razvojnih stopnjah. V tleh ostanejo bakterije zelo aktivne še več mesecev po aplikaciji. Po pregledu literature bakterijo *B. thuringiensis* var. *kurstaki* in *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* še niso uporabili za testiranje njihove učinkovitosti pri zatiranju ogrcev iz družine Scarabaeidae.

V našem poskusu smo imeli največ opravka z ogrci junijskega in julijskega hrošča, na katerih se doslej še niso izvajali znanih poskusov z biotičnimi pripravki. Entomopatogena gliva *Beauveria bassiana* se na primer uporablja za biotično zatiranje koruzne vešče in jabolčnega zavijača (Zimmermann, 2007), uporabljeni bakteriji za zatiranje žuželk iz reda metuljev in entomopatogena ogorčica *H. bacteriophora* za zatiranje hroščev iz poddružine Dynastinae. Glede na to, da narava poskusa ne omogoča analize zastopanosti ogrcev v tleh pred poskusom, ne moremo zagotovo govoriti uspešnosti ali neuspešnosti posameznih biotičnih pripravkov in njihove kombinacije.

5.2 SKLEPI

Sklenemo lahko, da v našem poskusu ne moremo potrditi ali je kateri biotični pripravek in njihova kombinacija učinkovitejša v zatiranju ogrcev. Prav tako ne moremo potrditi, da kombinacije biotičnih pripravkov vplivajo na večjo smrtnost izpostavljenih ogrcev.

Ob analizi dobljenih podatkov nismo dobili oprijemljivih rezultatov o večji učinkovitosti pomladnega ali poletnega vnosa biotičnih pripravkov.

Kot so ugotovili že v nekaterih predhodnih raziskavah, je potrebno za uspešno zatiranje ogrcev najprej določiti zastopanost vrst ogrcev na območju in na podlagi rezultatov determinacije izbrati biotični pripravek, ki deluje na problematično vrsto ogrcev na izbranem območju.

6 POVZETEK

Škodljivci letno uničijo takšno količino hrane, ki bi lahko nahranila milijardo ljudi (Lacey in sod., 2015). Glede na trenutni trend povečevanja števila ljudi na Zemlji bo potrebno v prihajajočih letih povečati količino pridelane hrane, ki bo tako še bolj izpostavljena škodljivcem. Zato je pomembno raziskovanje drugačnih načinov zatiranja škodljivcev, ki nimajo negativnega vpliva na okolje. Ogrci, ličinke iz družine pahljačnikov (Scarabaeidae), so globalni škodljivci. Uničujejo rušo travinja, ki je namenjeno za pridelavo krme za živino ter degradirajo tla, ki so tako bolj izpostavljena negativnim vremenskim razmeram, ki pospešujejo erozijo.

Poskus smo zasnovali na območju Gotenice, kjer smo predhodno ugotovili številčnost ogrcev v tleh. V razvojnih stopnjah L_2 in L_3 je bilo preseženo kritično število ogrcev na m^2 , v razvojni stopnji L_1 pa so bili ogrci ravno pod pragom gospodarske škode. Na preučevanem območju smo v večini našli ogrce junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* [L.]) in julijskega hrošča (*Anomala dubia* [Scopoli]). Ugotovili smo tudi nekaj ogrcev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* [L.]), gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani* [F.]) in vrtnega hrošča (*Phyllopertha horticola* [L.]). Želeli smo preučiti, kateri biotični pripravek in kombinacija z entomopatogenimi ogorčicami je najbolj učinkovit pri zatiranju ogrcev, obenem pa smo želeli znižati število ogrcev na m^2 pod prag gospodarske škode.

V poskusu smo uporabili biotične pripravke na podlagi entomopatogenih gliv *Beauveria brongniartii* in *B. bassiana*, entomopatogenih bakterij *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* ter entomopatogene ogorčice *Heterorhabditis bacteriophora*. Pripravke smo vnesli v tla v mesecu aprilu in v avgustu.

Po koncu poskusa smo ugotovili, da med biotičnimi pripravki in njihovimi kombinacijami z entomopatogenimi ogorčicami ni statistično značilnih razlik v insekticidnem delovanju na ogrce. Prav tako nismo ugotovili razlik v učinkovitosti pripravkov med pomladnim in poletnim nanosom.

Med vzroke za slabšo učinkovitost uporabljenih biotičnih pripravkov lahko štejemo tudi to, da je v našem poskusu junijski hrošč večinsko zastopana vrsta ogrcev in noben uporabljen pripravek ni bil izoliran iz nje. Entomopatogena gliva *B. brongniartii* se ponekod uspešno uporablja za zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča, entomopatogena gliva *B. bassiana* za zatiranje gosenic koruzne vešče (Zimmermann, 2007), entomopatogena bakterija *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* za zatiranje škodljivih gosenic, entomopatogena bakterija *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* za zatiranje koloradskega hrošča (Lacey in sod., 2015) in entomopatogena ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* za zatiranje škodljivcev iz poddružine nosorožcev (Dynastinae) (Koppenhöfer in Fuzy, 2007).

V našem poskusu smo večinsko potrdili pojavljanje ogrcev junijskega hrošča in zato bi bilo v praksi, v primeru večjega pojava ogrcev, smiselno uporabiti entomopatogeno

ogorčico *Steinernema scarabaei* kot pa *Heterorhabditis bacteriophora*. Seveda pa bi bilo potrebno za pridobitev dovoljenja za njeno uporabo ogorčico *Steinernema scarabaei* najprej najti v tleh v Sloveniji.

7 VIRI

Agrifutur, Melocont Pilzgerste

https://www.uibk.ac.at/bipesco/consultation/pdf_consultation/melocont_neu_anwendung_sinfo.pdf (7. 8. 2016)

An R., Grewal P. S. 2007. Differences in the virulence of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema scarabaei* to the three white grubs species: The relative contribution of the nematodes and their symbiotic bacteria. *Biological Control*, 43: 310-316

ARSO, Agencija Republike Slovenije za okolje

<http://meteo.arso.gov.si/met/sl/app/webmet/#webmet==8Sdwx2bhR2cv0WZ0V2bvEGcw9ydLJWblR3LwVnaz9SYtVmYh9iclFGbt9SaulGdugXbsx3cs9mdl5WahxXYyNGapZXZ8tHZv1WYp5mOnMHbvZXZulWYnwCchJXYtVGdlJnOn0UQQdSf> (7. 8. 2016)

Becker Underwood. Nemasys G.

<http://www.nemasysinfo.com/about-nematodes/how-nematode-products-are-made/> (7. 8. 2016)

Benker U., Leuprecht B. 2005. Field experience in the control of Common cockchafer in the Bavarian region Spessart. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes: Melolontha*. IOBC/WPRS Bulletin, 28, 2: 21-24

Celar A., Kos K. 2011. Primerjava rojenja poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) pred in po uporabi mikoinsekticida Melocont- Pilzgerste. V: Zbornik predavanj in referatov 10. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Podčetrtek, 1.-2. marec 2011. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 213-217

Federici B. A. 2005. Insecticidal bacteria: An overwhelming success for invertebrate pathology. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89: 30-38

FURS. Naturalis.

http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/Dokumenti%5CDoc_1_NATURALIS.pdf (7. 8. 2016)

Georgis R., Koppenhöfer A. M., Lacey L. A., Belair G., Duncan L. W., Grewal P. S., Samish M., Tan L., Torr P., Tol van R. W. H. M. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*, 38: 103-123

Grewal P. S. 2012. Entomopathogenic nematodes as tool in integrated pest management. V: *Integrated pest management: Principles and practice*. Abrol D.P., Shankar U. (ur). Cambridge, Wallingford (Oxfordshire), CABI: 162-220

Huiting H. F., Moraal L. G., Griepink F.C., Ester A. 2006. Biology, control and luring of the cockchafer, *Melolontha melolontha*. Applied Plant Research Unit AGV PPO no. 32 500475 00 – I
<http://edepot.wur.nl/121073> (10. 7. 2014)

Index Fungorum. 2016a. *Beauveria bassiana*.
<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=199430> (23. 10. 2016)

Index Fungorum. 2016b. *Beauveria brongniartii*.
<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=309469> (23. 10. 2016)

Jackson T. A., Klein M.G. 2006. Scarabs as pests: A continuing problem. Coleoptera Society Monograph, 5: 102-119

Jelenko I., Kopušar N., Poličnik H., Jerina K., Stergar M., Jurc M., Meterc G., Cajner M., Pokorny B. 2011. Divji prašič in škode v agrarni krajini: primer reševanja problematike v Sloveniji. V: Zbornik prispevkov 2. slovensko – hrvaškega posveta z mednarodno udeležbo o upravljanju z divjadjo: divji prašič, Velenje. 17-18. september 2010. Poličnik H., Pokorny B. (ur.). ERICo d.o.o., Velenje, Tiskarna Bizjak: 48-57

Jonozovič M., Marenče M., Černe R. 2011. Upravljanje z divjim prašičem v Sloveniji v letih 1996 – 2009. V: Zbornik prispevkov 2. slovensko – hrvaškega posveta z mednarodno udeležbo o upravljanju z divjadjo: divji prašič, Velenje. 17-18. september 2010. Poličnik H., Pokorny B. (ur.). ERICo d.o.o., Velenje, Tiskarna Bizjak: 58-66

Kalha C. S., Singh P. P., Kang S. S., Hunjan M. S., Gupta V., Sharma R. 2014. Entomopathogenic Viruses and Bacteria for Insect-Pest Control. V: Integrated pest management: Current Concepts and Ecological Perspective. Abrol D. P. (ur.). ZDA. Elsevier: 225-244

Kaya H. K., Aguilera M. M., Alumai A., Choo H. Y., Torre de la M., Fodor A., Ganguly S., Hazir S., Lakatos T., Pye A., Wilson M., Yamanaka S., Yang H., Ehlers R.-U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. Biological Control, 38: 134-155

Keller S., Schweizer C., Shah P. 1999. Differential susceptibility of two *Melolontha* populations to infections by the fungus *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Science and Technology, 9: 441-446

Keller S., Zimmermann G. 2005. Scarabs and other soil pests in Europe: Situation, perspectives and control strategies. Insect Pathogen and Insect Nematodes: *Melolontha*. IOBC/WPRS Bulletin, 28, 2: 9-12

- Koppenhöfer A. M., Fuzy E. M. 2007. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica* and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology*, 35: 128-139
- Koppenhöfer A. M., Kaya H. K. 1997. Additive and synergistic interaction between entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* for scarab grub control. *Biological Control*, 8: 131-137
- Koppenhöfer A. M., Grewal P. S., Fuzy E. M. 2006. Virulence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Steinernema scarabaei* against five white grub species (Coleoptera: Scarabaeidae) of economic importance in turfgrass in North America. *Biological Control*, 38: 397-404
- Korošec J. 1997. Travinje in trate: gospodarjenje in raba. Ljubljana, Kmečki glas: 230 str.
- Kos A. 1999. Delfin WG – Novi biotični insekticid na podlagi bakterije *Bacillus thuringiensis*. V: Zbornik predavanj s 4. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 3.-4. marec. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 167
- Krže B. 1982. Divji prašič : biologija in gospodarjenje. Ljubljana, Lovska zveza Slovenije: 183 str.
- Lacey L. A., Frutos R., Kaya H.K., Vail P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? *Biological Control*, 21: 230-248
- Lacey L. A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D. I., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M. S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132: 1-41
- Laengle T., Pernfuss B., Seger C., Strasser H. 2005. Field efficacy evaluation of *Beauveria brongniartii* against *Melolontha melolontha* in potato cultures. *Sydowia*, 57: 54-93
- Laznik Ž., Trdan S. 2013. Morfološke karakteristike ogrcev s travinja, potrebne za hitro detetminacijo. V: Zbornik predavanj in referatov 11. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Bled, 5.-6. marec 2013. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 320-326
- Laznik Ž., Vidrih M., Trdan S. 2013. Preučevanje učinkovitosti različnih biotičnih agensov za zatiranje ogrcev (Scarabaeidae) na travinju – izkušnje s Kočevskega. V: Zbornik predavanj in referatov 11. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, Bled, 5.-6. marec 2013. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 151-159
- Laznik Ž., Trdan S. 2015. Failure of entomopathogens to control white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil and Plant Science*, 65, 2: 95-108

- Liu H. 2012. Microbial control of crop pests using entomopathogenic fungi. V: Integrated pest management: principles and practice. Abrol D.P., Shankar U. (ur.). Cambridge, Wallingford (Oxfordshire), CABI: 237-280
- Mozgovaya I. N., Byzov B. A., Ryabchenko N. F., Romanenko N. D., Zvyagintsev D. G. 2002. Nematicidal effects of the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* in soil. *Pedobiologia*, 46: 558-572
- Peters A. 2000. Susceptibility of *Melolontha melolontha* to *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. megidis* and *Steinernema glaseri*. Integrated Control of Soil Pest, subgroup "Melolontha". IOBC/WPRS Bulletin, 23, 8: 39-45
- Požnel A. 2007. Izkušnje pri zatiranju poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem. V: Zbornik predavanj in referatov 8. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6-7. marec 2007. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 72-77
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
<http://www.R-project.org/> (13. 11. 2016)
- Ruisheng A., Grewal P. S. 2007. Differences in the virulence of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema scarabaei* to three white grub species: The relative contribution of the nematodes and their symbiotic bacteria. *Biological Control*, 43: 310-316
- San-Blas E., 2013. Progress on entomopathogenic nematology research: A bibliometric study of the last three decades: 1980-2010. *Biological Control*, 66: 102-124
- Seznam registriranih fitofarmacevtskih sredstev. Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varno hrano.
<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (7. 8. 2016)
- Shapiro-Ilan D. I., Gouge D. H., Piggott S. J., Fife J. P. 2006. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control*, 38: 124-133
- Smart G. C. Jr. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control. Supplement to the *Journal of Nematology*, 27, 4S: 529-534
- Steinhaus E. A. 1957. Concerning the harmlessness of insect pathogens and the standardization of microbial control products. *Journal of Economic Entomology*, 50, 6: 715-720
- Stuart R. J., Barbercheck M. E., Grewal P. S., Taylor R. A. J., Hoy C. W. 2006. Population biology of entomopathogenic nematodes: Concepts, issues, and models. *Biological Control*, 38: 80-102

Taxonomicon. 2016a. *Bacillus thuringiensis*.

<http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=269&src=0> (23. 10. 2016)

Taxonomicon. 2016b. *Heterorhabditis bacteriophora*.

<http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=132206&src=0> (23. 10. 2016)

ValentBiosciences. Novodor FC.

<http://cropprotection.valentbiosciences.com/valent-biosciences-corporation-biorational-crop-protection/insecticides/products/novodor> (7. 8. 2016)

Vidrih M., 2007. Razširjenost in prihodnost travinja v Sloveniji, Oddelek za agronomijo, Biotehniška fakulteta.

http://web.bf.uni-lj.si/katedre/clanki/Travinje_Slovenije.pdf (12. 2. 2016)

Villani M. G., Wright R. J. 1988. Entomogenous nematodes as biological control agents of European chafer and Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae infesting turfgrass. *Journal of Economic Entomology*, 81, 2: 484-487

Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, Kmečki glas: 141 str.

Wilson M. J., Lewis E. E., Yoder F., Gaugler R. 2003. Application pattern and persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Biological Control*, 26: 180-188

Zakon o zdravstvenem varstvu rastlin. 2007. Ur. l. RS, št. 62/07

Zimmermann G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 5/6: 553-596

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Stanislavu Trdanu za vso pomoč, vzpodbude in potrpežljivost pri dokončanju magistrske naloge.

Najlepše se zahvaljujem somentorici izr. prof. dr. Damijani Kastelec za pomoč in razlago ob statistični analizi. Recenzentu doc. dr. Mateju Vidrihu ter prof. dr. Zlati Luthar za pregled naloge.

Beseda zahvale gre tudi doc. dr. Žigi Lazniku ter g. Jaku Rupniku za tehnično izvedbo poskusa.

Posebna zahvala gre moji družini, prijateljem in sošolcem, ki so mi tekom študija stali ob strani in me spodbujali.

PRILOGA A

Število ogrcev različnih razvojnih stopenj v tleh na m² pred začetkom poskusa, marec 2013

Razvojna stopnja	L ₁	L ₂	L ₃
Jama			
1	31,00	12,00	19,00
2	19,00	31,00	3,00
3	28,00	30,00	16,00
4	36,00	21,00	18,00
Povprečje	28,50	23,50	14,00
Standarna napaka	3,57	4,44	3,72

PRILOGA B

Povprečja in standardne napake za število ogrcev v tleh na m² v vseh razvojnih stopnjah glede na čas vzorčenja in obravnavanje

	April			Maj			Junij			Julij		
	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃
Delfin WG	0 ± 0	2 ± 2	34 ± 2	2 ± 2	10 ± 2	14 ± 6	4 ± 4	0 ± 0	2 ± 2	4 ± 4	2 ± 2	0 ± 0
Delfin WG + Nemasys s G	0 ± 0	4 ± 0	37 ± 11	0 ± 0	2 ± 2	26 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	2 ± 2	0 ± 0
Melocont Pilzgerste	2 ± 0	6 ± 2	16 ± 12	0 ± 2	8 ± 0	40 ± 8	4 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 4	0 ± 0
Melocont Pilzgerste + Nemasys	2 ± 2	4 ± 0	22 ± 2	0 ± 0	6 ± 6	38 ± 6	0 ± 0	4 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	6 ± 2	2 ± 2
Naturali s	0 ± 0	2 ± 2	16 ± 4	2 ± 2	2 ± 2	6 ± 2	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 4	0 ± 0	6 ± 6	0 ± 0
Naturalis + Nemasys G	4 ± 0	8 ± 4	34 ± 10	4 ± 4	6 ± 6	34 ± 22	0 ± 0	4 ± 4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2
Novodor FC	0 ± 0	2 ± 2	28 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	16 ± 4	0 ± 0	8 ± 8	0 ± 0	4 ± 4	6 ± 6	0 ± 0
Novodor FC+ Nemasys G	0 ± 0	0 ± 0	14 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	14 ± 10	4 ± 4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2	4 ± 4
Nemasys s G	2 ± 2	6 ± 2	26 ± 6	2 ± 4	4 ± 4	22 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	0 ± 0	8 ± 8	2 ± 2	0 ± 0
Kontrola	2 ± 2	12 ± 12	22 ± 6	2 ± 2	2 ± 2	32 ± 4	0 ± 0	2 ± 2	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2	2 ± 2

Se nadaljuje

Nadaljevanje priloge B

	Avgust			September			Oktober			November		
	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃
Kontrola	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	28 ± 20	2 ± 2	2 ± 2	10 ± 6	0 ± 0	10 ± 2	12 ± 0	8 ± 0	0 ± 0
Nemasys G	4 ± 4	2 ± 2	0 ± 0	24 ± 8	6 ± 6	0 ± 0	10 ± 2	8 ± 4	4 ± 4	8 ± 0	8 ± 0	0 ± 0
Novodor FC+ Nemasys G	0 ± 0	6 ± 6	0 ± 0	34 ± 34	10 ± 10	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	10 ± 2	8 ± 0	0 ± 0	4 ± 0
Novodor FC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	22 ± 6	8 ± 8	8 ± 0	8 ± 4	8 ± 4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	4 ± 0
Naturalis + Nemasys G	2 ± 2	0 ± 0	4 ± 4	28 ± 28	0 ± 0	4 ± 4	8 ± 8	8 ± 8	2 ± 2	0 ± 0	4 ± 0	0 ± 0
Naturalis	2 ± 2	4 ± 4	0 ± 0	20 ± 8	10 ± 10	16 ± 12	4 ± 4	6 ± 6	10 ± 2	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Melocont Pilzgerste + Nemasys G	4 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	42 ± 6	4 ± 4	2 ± 2	10 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	8 ± 0	8 ± 0	0 ± 0
Melocont Pilzgerste	0 ± 0	2 ± 2	4 ± 4	26 ± 6	8 ± 4	4 ± 0	0 ± 0	8 ± 4	4 ± 0	20 ± 0	0 ± 0	4 ± 0
Delfin WG + Nemasys G	0 ± 0	4 ± 4	2 ± 2	12 ± 4	18 ± 10	4 ± 0	18 ± 2	4 ± 4	0 ± 0	34 ± 0	12 ± 0	4 ± 0
Delfin WG	0 ± 0	4 ± 4	0 ± 0	14 ± 14	14 ± 10	2 ± 2	2 ± 2	4 ± 4	10 ± 2	12 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

PRILOGA C

Slikovni prikaz izvedbe poskusa



Priloga C 1: Naravni travnik v Gotenici, na katerem je potekal poskus z zakoličenimi mejami posameznih blokov (foto: S. Trdan, 2013)



Priloga C 2: Vsejavanje steriliziranega ječmenovega zrnja z biotičnimi pripravki v tla (foto: J. Rupnik, 2013)



Priloga C 3: Vsejavanje steriliziranega ječmenovega zrnja z biotičnimi pripravki v tla (foto: J. Rupnik, 2013)



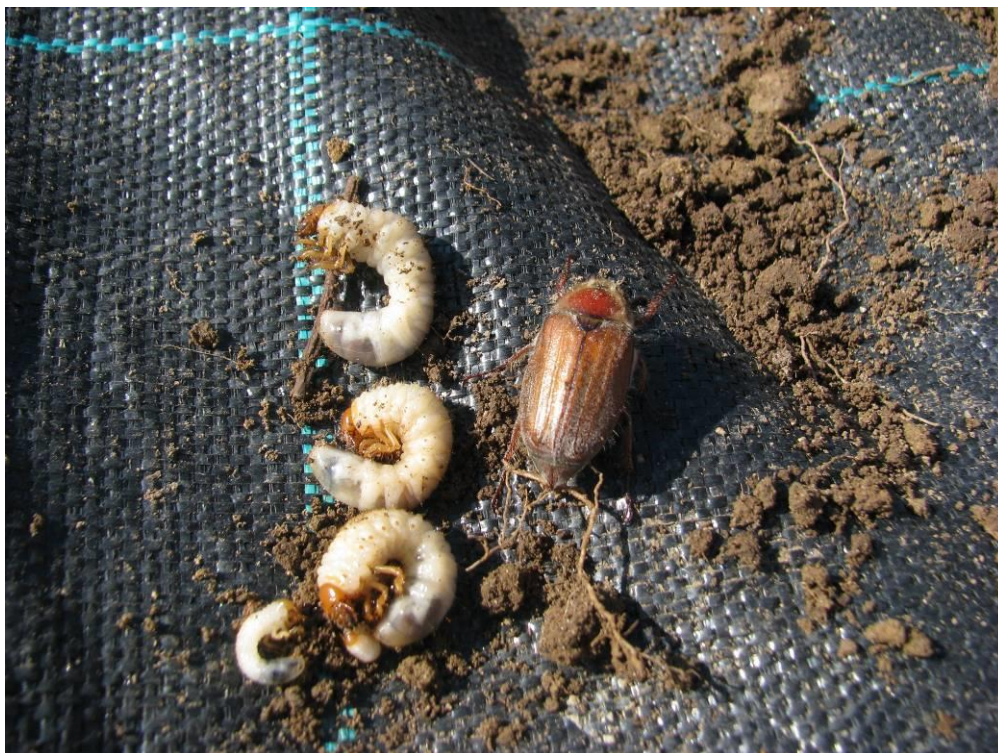
Priloga C 4: Nanos entomopatogenih ogorčic (foto: S. Trdan, 2013)



Priloga C 5: Štetje ogrcev v talnem izkopu (foto: J. Rupnik, 2013)



Priloga C 6: Ogrci v talnem izkopu (foto: S. Trdan, 2013)



Priloga C 7: Ogrci junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* L.) – večji - in julijskega hrošča (*Anomala dubia* Scopoli.) – manjši - ter odrasel osebek poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) (foto: S. Trdan, 2013)



Priloga C 8: Jajčeca majskega hrošča (*Melolontha* spp.) in bube junijskega hrošča (*Amphimallon solstitiale* L.) (foto: S. Trdan, 2013)