

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Polona PUST

**PREUČEVANJE SKLADNOSTI
ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) IN
INSEKTICIDOV V LABORATORIJSKIH
RAZMERAH**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študijski program - 2. stopnja

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Polona PUST

**PREUČEVANJE SKLADNOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC
(Rhabditida) IN INSEKTICIDOV V LABORATORIJSKIH
RAZMERAH**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študijski program - 2. stopnja

**RESEARCH ON COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC
NEMATODES (Rhabditida) AND INSECTICIDES UNDER
LABORATORY CONDITIONS**

M. Sc. Thesis

Master Study Programmes

Ljubljana, 2014

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

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja magistrskega dela imenovala izr. prof. dr. Stanislava Trdana.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc BATIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo

Član: prof. dr. Stanislav TRDAN

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo

Član: doc. dr. Gregor UREK

Kmetijski inštitut Slovenije, Odd. za varstvo rastlin

Datum zagovora:

Magistrsko delo je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega magistrskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Polona PUST

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

| | |
|----|---|
| ŠD | Du2 |
| DK | UDK 632.651:632.937.1:632.951.024(043.2) |
| KG | entomopatogene ogorčice/insekticidi/združljivost/smrtnost/laboratorijske razmere |
| AV | PUST, Polona |
| SA | TRDAN, Stanislav (mentor) |
| KZ | SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101 |
| ZA | Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo |
| LI | 2014 |
| IN | PREUČEVANJE SKLADNOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) IN INSEKTICIDOV V LABORATORIJSKIH RAZMERAH |
| TD | Magistrsko delo (Magistrski študijski program - 2. stopnja) |
| OP | X, 42 str., 2 pregl., 28 sl., 53 vir. |
| IJ | sl |
| JI | sl/en |
| AI | Da bi razširili znanje o skladnosti različnih vrst entomopatogenih ogorčic (EO) s fitofarmacevtskimi sredstvi (FFS), je bila izvedena raziskava, kjer smo v laboratorijskih razmerah preučevali združljivost infektivnih ličink (IL) EO (<i>Steinernema</i> spp. in <i>Heterorhabditis</i> spp.) z osmimi pripravki z insekticidnim delovanjem. Učinek neposredne izpostavljenosti IL insekticidom smo preizkušali po 6-ih in 24-ih urah v petrijevkah pri temperaturah 15, 20 in 25 °C. Rezultati naše raziskave so pokazali, da sta vrsti <i>Steinernema carpocapsae</i> in <i>S. kraussei</i> občutljivi na vse preučevane insekticide. Vrsta <i>S. feltiae</i> je občutljiva na aktivno snov (a. s.) azadirahtin, toksin bakterije <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> in imidakloprid, medtem, ko je vrsta <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> občutljiva le na aktivni snovi abamektin in lufenuron. Odstotek preživelih IL je bil po šestih urah pri 15 °C (82 %) in pri 20 °C (80 %) signifikantno največji, pri 25 °C (76 %) pa je bil signifikantno najmanjši. Po 24 urah pri 15 in 20 °C nismo ugotovili statistično značilnih razlik, medtem, ko je bilo pri 25 °C preživelih IL največ (59 %). Na podlagi rezultatov naše raziskave lahko sklepamo, da združljivost ni le vrstno specifična, temveč tudi rasno specifična lastnost posameznih vrst EO. Vrsti <i>S. feltiae</i> in <i>H. bacteriophora</i> sta združljivi z aktivnima snovema azadirahtin in pirimikarb in bi lahko v prihodnje v praksi predstavljalci učinkovit alternativni način varstva rastlin pred izbranimi vrstami škodljivih žuželk. |

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDC 632.651:632.937.1:632.951.024(043.2)
CX /entomopathogenic nematodes/insecticides/ compatibility/ mortality/laboratory conditions/
AU PUST, Polona
AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2014
TI RESEARCH ON COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Rhabditida) AND INSECTICIDES UNDER LABORATORY CONDITIONS
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO X, 42 p., 2 tab., 28 fig., 53 ref.
LA sl
Al sl/en
AB To increase our knowledge on the susceptibility of entomopathogenic nematode (EPN) species to agrochemicals, the compatibility of the infective juveniles (IJs) of the EPN (*Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp.) with 8 chemical and bio-insecticides was investigated under laboratory conditions. The effect of direct IJ's exposure to insecticides for 6 and 24 hours was tested in a Petri dishes at 15, 20 and 25 °C. The present study showed that *Steinernema carpocapsae* and *S. kraussei* are sensitive to all tested insecticides. *S. feltiae* is compatible with active ingredient azadirachtin, toxin of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and imidacloprid, while *Heterorhabditis bacteriophora* is sensitive only to active ingredient abamectin and lufenuron. The percentage of IJs that survived was after six hours at 15 °C (82 %) and 20 °C (80 %) significantly the highest, while at 25 °C (76 %) it was significantly the lowest. After 24 hours there were no statistically significant differences observed between 15 °C (55 %) in 20 °C (55 %), while at 25 °C significantly the largest percentage of infective juveniles (59 %) survived. Based on our research, we conclude that compatibility is not only a species-specific but also a strain-specific characteristic. *S. feltiae* and *H. bacteriophora* are compatible with active ingredients azadirachtin and pirimicarb and could offer a cost-effective alternative to pest control against different vegetable pests.

KAZALO VSEBINE

| | |
|---|------|
| Ključna dokumentacijska informacija | III |
| Key words documentation | IV |
| Kazalo vsebine | V |
| Kazalo preglednic | VII |
| Kazalo slik | VIII |
| Okrajšave in simboli | X |
| | |
| 1 UVOD | 1 |
| 1.1 POVOD ZA DELO | 1 |
| 1.2 CILJ RAZISKAVE | 1 |
| 1.3 DELOVNA HIPOTEZA | 2 |
| 2 PREGLED OBJAV | 3 |
| 2.1 UPORABNOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC | 3 |
| 2.2 STEINERNEMA FELTIAE (Filipjev) | 3 |
| 2.3 STEINERNEMA CARPOCAPSAE (Weiser) | 4 |
| 2.4 STEINERNEMA KRAUSSEI (Steiner) | 4 |
| 2.5 HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA Poinar | 4 |
| 2.6 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC | 5 |
| 2.6.1 Biotični in abiotični dejavniki | 5 |
| 2.7 NAČIN DELOVANJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC | 6 |
| 2.8 ZDRUŽLJIVOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC IN FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV | 7 |
| 2.9 ZNAČILNOSTI INSEKTICIDNIH PRIPRAVKOV, UPORABLJENIH V NAŠI RAZISKAVI | 7 |
| 2.9.1 Delfin WG | 7 |
| 2.9.2 Vertimec 1,8 % FC | 8 |
| 2.9.3 Neemazal – T/S | 9 |
| 2.9.4 Pirimor 50 WG | 10 |
| 2.9.5 Karate Zeon 5 CS | 11 |
| 2.9.6 Confidor 200 SL | 13 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 2.9.7 Chess 50 WG | 14 |
| 2.9.8 Match 050 EC | 15 |
| 3 MATERIAL IN METODE DELA | 16 |
| 3.1 INSEKTICIDI | 16 |
| 3.2 ENTOMOPATOGENE OGORČICE | 16 |
| 3.3 PREIZKUS ZDРUŽLJIVOSTI | 17 |
| 3.4 STATISTIČNA ANALIZA | 17 |
| 4 REZULTATI | 20 |
| 4.1 SPLOŠNA ANALIZA | 20 |
| 4.2 STEINERNEMA FELTIAE | 21 |
| 4.3 STEINERNEMA CARPOCAPSAE | 24 |
| 4.4 STEINERNEMA KRAUSSEI | 28 |
| 4.5 HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA | 30 |
| 5 RAZPRAVA IN SKLEPI | 35 |
| 6 POVZETEK | 37 |
| 7 VIRI | 39 |
| ZAHVALA | |

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Imena, aktivne snovi, hektarski odmerki uporabljenih insekticidnih pripravkov ter odmerki, uporabljeni v našem poskusu 16

Preglednica 2: Združljivost izbranih insekticidov s preučevanimi vrstami entomopatogenih ogorčic v poskusu: *Steinernema feltiae* (Filipjev) rasa SfB30 in rasa SfBU, *S. carpocapsae* (Weiser) rasa ScC101 in rasa ScBU, *S. kraussei* (Steiner) rasa SkBU in *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar rasa HbD54 20

KAZALO SLIK

| | | |
|-----------|---|----|
| Slika 1: | Razvojni krog EO (Koppenhöfer in Kaya, 2002) | 6 |
| Slika 2: | Delfin WG (Soprochiba, 2013) | 8 |
| Slika 3: | Vertimec 1,8 % EC (Unichem, 2013) | 9 |
| Slika 4: | Neemazal - T/S (AgriEmporio, 2013) | 10 |
| Slika 5: | Pirimor 50 WG (Evrofarm SA, 2013) | 11 |
| Slika 6: | Karate Zeon 5 CS (Syngenta, 2013) | 12 |
| Slika 7: | Confidor SL 200 (Semilandia, 2013) | 13 |
| Slika 8: | Chees 50 WG (Unichem, 2013) | 14 |
| Slika 9: | Match 050 EC (Armag, 2013) | 15 |
| Slika 10: | Osem komercialnih insekticidnih pripravkov, registriranih v Sloveniji (foto: Ž. Laznik, 2013) | 17 |
| Slika 11: | Plastične petrijevke z odpipetiranimi suspenzijami pred postavitvijo v gojitveno komoro, kjer so bile zagotovljene vnaprej določene razmere (foto: Ž. Laznik, 2013) | 18 |
| Slika 12: | Nanašanje suspenzije preučevanih insekticidov in entomopatogenih ogorčic na steklene petrijevke pred ugotavljanjem njihove vitalnosti (foto: Ž. Laznik, 2013) | 18 |
| Slika 13: | Štetje preživelih EO (foto: Ž. Laznik, 2013) | 19 |
| Slika 14: | Ugotavljanje vitalnosti ogorčic po inkubaciji (foto: Ž. Laznik, 2013) | 19 |
| Slika 15: | Korigirana smrtnost (%) rase SfB30, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve | 21 |
| Slika 16: | Korigirana smrtnost (%) rase SfB30, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitve | 22 |
| Slika 17: | Korigirana smrtnost (%) rase SfBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve | 23 |
| Slika 18: | Korigirana smrtnost (%) rase SfBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitve | 24 |
| Slika 19: | Korigirana smrtnost (%) rase ScC101, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve | 25 |
| Slika 20: | Korigirana smrtnost (%) rase ScC101, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitve | 26 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Slika 21: | Korigirana smrtnost (%) rase ScBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev | 27 |
| Slika 22: | Korigirana smrtnost (%) rase ScBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev | 28 |
| Slika 23: | Korigirana smrtnost (%) rase SkBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev | 29 |
| Slika 24: | Korigirana smrtnost (%) rase SkBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev | 30 |
| Slika 25: | Korigirana smrtnost (%) rase HbD54, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev | 31 |
| Slika 26: | Korigirana smrtnost (%) rase HbD54 tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev | 32 |
| Slika 27: | Korigirana smrtnost (%) ras EO, tretiranih insekticidi pri različnih temperaturah, 6 ur po izpostavitev | 33 |
| Slika 28: | Korigirana smrtnost (%) ras EO, tretiranih z insekticidi pri različnih temperaturah, 24 ur po izpostavitev | 34 |

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

| | |
|-------|-----------------------------|
| EO | entomopatogene ogorčice |
| FFS | fitofarmacevtska sredstva |
| IL | infektivne ličinke |
| IVR | integrirano varstvo rastlin |
| t. j. | to je |
| oz. | ozioroma |
| a. s. | aktivna snov |
| sod. | sodelavci |

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Entomopatogene ogorčice (v nadaljevanju EO) sistematično uvrščamo v družini Steinernematidae in Heterorhabditidae, za predstavnike katerih je značilno, da gostitelja (žuželke) ubijejo z bakterijami, ki se nahajajo v prebavilih ogorčic. EO iz družine Steinernematidae živijo v sožitju z bakterijami iz rodu *Xenorhabdus*, medtem ko ogorčice iz družine Heterorhabditidae živijo v sožitju z bakterijami iz rodu *Photorhabdus*. EO veljajo za učinkovite biotične agense pri zatiranju gospodarsko pomembnih škodljivih žuželk. Ker jih uporabljam na zemljiščih, ki so lahko predhodno tretirana s fitofarmacevtskimi sredstvi (FFS) in rudninskimi gnojili, je priporočljivo vedeti, katere snovi negativno delujejo na njihovo vitalnost. Ob ugotovitvi združljivosti EO z izbranimi FFS bi s tem prihranili tako na času kot denarju in s tem združili zatiranje različnih vrst škodljivcev v sistemu integriranega varstva rastlin (IVR) (Laznik in Trdan, 2013).

Izvedene so bile že nekatere raziskave o vplivu FFS na EO. Dela na preučevanju združljivosti EO s FFS kažejo, da lahko tudi kratka izpostavljenost nekaterim aktivnim snovem zmanjša sposobnost preživetja EO. Združljivost IL s FFS je odvisna od več dejavnikov, kot so vrsta, rasa EO ter koncentracija izbranega FFS (Laznik in Trdan, 2013).

EO se uporablja za zatiranje različnih vrst škodljivih žuželk. Ob upoštevanju omejujočih dejavnikov (velika vlaga, optimalna temperatura, šibko UV sevanje), so lahko omenjeni biotični agensi učinkoviti tako kot kemični insekticidi. EO lahko kombiniramo z drugimi FFS za različne namene. Ogorčice in FFS se lahko uporabljajo sočasno ali v kratkem časovnem intervalu med njimi z namenom zatiranja različnih vrst škodljivcev. Ogorčice je mogoče mešati tudi v mešalni posodi s FFS (v rezervoarju opreme za nanašanje), kar povečuje možnost za interakcije. Prav tako je mogoče EO kombinirati z drugimi sredstvi za varstvo rastlin, z namenom, da dosežemo večjo učinkovitost zatiranja ene vrste škodljivca ali še boljše, da dosežemo sinergijski učinek, ki lahko poveča smrtnost izbrane vrste škodljivca. Kombinacija EO in insekticidov v mešanicah bi lahko ponudila stroškovno učinkovito alternativo, uporabno v sistemih IVR pred škodljivimi žuželkami (Laznik in Trdan, 2013).

Pred uporabo EO in FFS v IVR je potrebno ugotoviti združljivost ogorčic z novimi in pogosto uporabljenimi insekticidi.

1.2 CILJ RAZISKAVE

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, kako neposredno izpostavljanje IL EO *Steinernema feltiae* (Filipjev) rasa SfB30 in rasa SfBU, *S. carpocapsae* (Weiser) rasa ScC101 in rasa ScBU, *S. kraussei* (Steiner) rasa SkBU in *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar rasa HbD54 različnim insekticidom deluje na njihovo sposobnost preživetja pri različnih temperaturah v laboratorijskih razmerah.

Da bi pridobili nove informacije o občutljivosti vrst in ras EO na insekticide, je bil cilj raziskave izbrati nekaj komercialnih insekticidnih pripravkov, ki se trenutno uporabljajo v Sloveniji ter oceniti njihov vpliv na preživetje IL avtohtonih slovenskih ras EO *S. feltiae*, *S. carpocapsae* in *H. bacteriophora* ter komercialnih ras Becker Underwood, Littlehampton, Velika Britanija (*S. feltiae*, *S. carpocapsae* in *S. kraussei*) pri različnih temperaturah v laboratorijskih razmerah. Z raziskavo smo želeli ugotoviti združljivost EO in FFS.

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevali smo, da so različne vrste in rase EO različno združljive s preučevanimi insekticidi, katerih skupni nanos na ciljne rastline v naravi bi lahko prinesla številne prednosti, predvsem v IVR.

2 PREGLED OBJAV

2.1 UPORABNOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

EO so v tleh živeči organizmi, ki jih sistematično uvrščamo v družini Steinernematidae in Heterorhabditidae. Za omenjene agense je značilno, da z bakterijami iz rodu *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* živijo v t.i. simbiontsko-mutualističnem odnosu. Zaradi možnosti njihove uporabe pri zatiranju gospodarsko škodljivih žuželčjih vrst jih uvrščamo med koristne organizme, ki se uporablajo v biotičnem varstvu rastlin (Kaya in Gaugler, 1993; Helyer in sod., 1995). Parazitirana žuželka zaradi zastrupitve ali odpovedi nekaterih organov pogine v 24 do 72 urah po infekciji (Smart, 1995; Forst in Clarke, 2002).

Začetki uporabe EO v biotičnem varstvu rastlin segajo v leto 1923, ko sta Glaser in Fox odkrila ogorčico, ki je parazitirala japonskega hrošča (*Popillia japonica* Newman) (Glaser in Farell, 1935). Okoli leta 1930 je Glaser odkril metodo gojenja EO v živih ličinkah voščene vešče (*Galleria melonella*). S t.i. metodo »*in vitro*« so leta 1939 izvedli poljski poskus v katerem so EO uporabili za zatiranje ogrcev japonskega hrošča (Gaugler in Kaya, 1990).

Uporabna vrednost EO je bila do nedavnega vezana predvsem na zatiranje talnih škodljivih žuželčjih vrst (ogrci hroščev iz družine Scarabaeidae, gosenice iz družine Noctuidae, ličinke rilčkarjev iz družine Curculionidae, itd.) (Ishibashi in Choi, 1991). Raziskovalci so v obdobju zadnjih 30. let uspešno implementirali tudi uporabo EO za zatiranje nadzemskih škodljivcev (Hazir in sod., 2004; Head in sod., 2000). Uspeh zatiranja je bil pogojen z upoštevanjem najpomembnejših omejujočih dejavnikov kot so premajhna vlaga (Lello in sod., 1996), izpostavljenost temperaturnim ekstremom (Grewal in sod., 1994) ter ultravijoličnemu sevanju (Gaugler in sod., 1992; Smits, 1996). Kljub nekaterim pozitivnim rezultatom, ki so jih znanstveniki uspeli doseči v laboratorijskih razmerah, se je učinkovitost delovanja EO na prostem izkazala velikokrat kot manj uspešna, predvsem zaradi omejujočih dejavnikov, ki jih na prostem ne moremo izključiti oz. uravnavati (Berry in Lewis, 1993).

2.2 STEINERNEMA FELTIAE (Filipjev)

Vrsta *S. feltiae* velja za eno izmed najpogosteje najdenih vrst EO. Njeno zastopanost so v Evropi potrdili v 24 državah, prvič pa je bila vrsta potrjena leta 1943 na Danskem (Hominick, 2002). Zastopanost omenjene vrste so v letu 2008 potrdili tudi v Sloveniji (Laznik in sod., 2009). Našli so jo na obdelovalni površini blizu Cerknice na Notranjskem. Tudi nekateri drugi raziskovalci so poročali o najdbah vrst *S. feltiae*, *S. intermedium* in *S. affine* na obdelovalnih zemljiščih (Sturhan, 1996). Morfološko vrsto uvrščamo v t.i. »skupino *feltiae*«. Za omenjeno skupino ogorčic je značilno, da so njihove IL dolge med 700 in 1000 µm. V črevesnih veziklih vrsta *S. feltiae* nosi simbiontsko bakterijo *Xenorhabdus bovienii* (Akhurst) (Poinar, 1988). Zaradi učinkovitega delovanja, se vrsta uporablja za zatiranje številnih redov škodljivih žuželk (Ebbsa in sod., 2004).

2.3 STEINERNEMA CARPOCAPSAE (Weiser)

Vrsta *S. carpocapsae* išče svojega gostitelja pasivno (v zasedi) (Gaugler, 2002). Je zelo učinkovita pri parazitiranju ličink in bub iz družine Noctuidae (sovke) ter gošenic iz družine Pyralidae (belini) (Peters, 1996; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Svojega gostitelja najučinkovitejše parazitira pri temperaturah od 22 do 28 °C (Gaugler, 1999). V dolžino meri odrasla ogorčica 558 µm, v širino pa 25 µm. IL je dolga med 438 ter 650 µm in široka med 20 in 30 µm (Gaugler, 2002). Gre za vrsto, ki so jo leta 1955 na Češkem odkrili v metulju vrste *Cydia pomonella* (tudi *Carpocapsa pomonella*) – od tod izvira njeno latinsko poimenovanje. V Sloveniji je bila vrsta potrjena leta 2008 (Laznik in Trdan, 2008), medtem ko so v Evropi njeni zastopanosti potrdili v 14-ih državah (Hominick, 2002). Gre za komercialno najbolj prodajano in dostopno vrsto EO.

2.4 STEINERNEMA KRAUSSEI (Steiner)

Omenjeno vrsto lahko uvrstimo v »skupino feltiae« (Nguyen, 2006). Za IL je znano, da so dolge med 700 in 1000 µm. Te ogorčice živijo v simbiozi z bakterijo *X. bovienii* (Boemare in Akhurst, 1988; Fischer-Le Saux in sod., 1999). Ta ogorčica je bila prva odkrita vrsta EO (Glaser in Fox, 1930). V istem letu je Steiner ogorčico preimenoval v *Aplectana kraussei*, vendar je leta 1927 Travassos spremenil originalno ime in uporabil ime *Steinernema* (Laznik in sod., 2008). Mnoge raziskave so pokazale, da je ogorčica učinkovita tudi pri nižjih temperaturah. Učinkovitost ogorčice pri nizkih temperaturah ima velik pomen pri varstvu rastlin, še posebno pri njihovi uporabi na prostem. Temperatura je poleg UV sevanja in vlage najpomembnejši omejitveni biotični dejavnik te vrste (Kaya, 1990).

2.5 HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA Poinar

Ogorčica *H. bacteriophora* aktivno išče svojega žuželčjega gostitelja. Je učinkovit biotični agens za zatiranje žuželk iz redov Lepidoptera (metulji) in Coleoptera (hrošči). Izmed hroščev je predvsem učinkovita pri zatiranju ličink rilčkarjev (družina Curculionidae) in pahljačnikov (družina Scarabaeidae) (Peters, 1996; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Gre za termofilno vrsto zato je stopnja parazitiranja omenjene vrste slabša tedaj, ko temperatura tal pada pod 20 °C. Vrsta je slabo stabilna, saj je njena življenska doba v pripravkih zelo kratka (Gaugler, 1999). Odrasla ogorčica meri v širino 23 µm, v dolžino pa 588 µm. IL meri v širino od 18 do 31 µm, v dolžino pa med 512 in 671 µm (Gaugler, 2002). Vrsta je bila prvič opisana leta 1975 (Poinar, 1976). Njeni zastopanosti so do sedaj ugotovili v 12-ih evropskih državah (Hominick, 2002), leta 2009 pa so jo Laznik s sod. potrdili tudi v Sloveniji (Laznik in sod., 2009).

2.6 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

2.6.1 Biotični in abiotični dejavniki

Na preživetje EO vplivajo tako notranji (vedenjski, fiziološki, genetski) kot tudi zunanji dejavniki (abiotični in biotični). Najpomembnejša biotična dejavnika sta zastopanost gostitelja (žuželka) in rastlina, na kateri se žuželčja vrsta hrani. Med najpomembnejše abiotične dejavnike uvrščamo teksturo tal, temperaturo, vlago, UV svetlobo in FFS (Gaugler, 2002).

Ko nastopijo neugodne okoljske razmere jih EO preživijo v t.i. dormantnem stanju. V tem stanju se upočasni metabolizem organizma, njegov razvoj pa se nadaljuje šele tedaj, ko se znova vzpostavijo ugodne okoljske razmere. EO lahko preidejo v stanje dormance le v stadiju IL (Gaugler, 2002). Pod neugodne okoljske razmere štejemo pomanjkanje vode in kisika, osmotski stres in ekstremne temperature (Gaugler, 2002).

Zunanja povrhnjica IL je sestavljena iz dveh plasti in se strukturno razlikuje med posameznimi vrstami EO. Njena najpomembnejša vloga je pri zadrževanju vode v telesu. S tem varuje IL pred izsušitvijo. V stanju dormance imajo IL zaprte zunanje odprtine (ustna in zadnjična) in s tem zmanjšajo verjetnost, da bi v telo vstopili mikroorganizmi in kemikalije (FFS) iz okolja. V fazi dormance je sposobnost preživetja IL odvisna od notranjih virov energije (zaloge) (Gaugler, 2002).

Vpliv temperature je vrsto specifična lastnost EO. V splošnem je znano, da postanejo ogorčice pri temperaturah, nižjih od 10 do 15 °C, počasne, in neaktivne pri temperaturah, višjih od 40 °C. Večina IL najučinkovitejše parazitira žuželke med 20 in 30 °C, izjemi sta vrsti *S. feltiae*, ki je učinkovitejša v temperaturnem intervalu med 12 in 25 °C, ter *S. riobrave*, katera žuželke najučinkovitejše parazitira v temperaturnem intervalu med 25 in 35 °C. (Koppenhöfer, 2000). Z višanjem temperature se povečuje metabolna aktivnost in poraba energijskih rezerv kar vpliva na krajšo življensko dobo EO (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

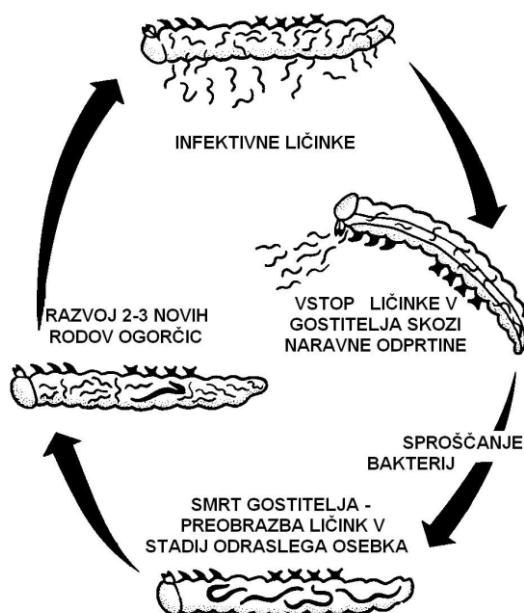
Številne študije so pokazale, da EO lahko preživijo kratkotrajno izpostavljanje nekaterim FFS (Smith, 1999). Laznik s sod. (2012) poroča, da je vpliv FFS na EO tako vrstno kot tudi rasno specifična lastnost. Rasna specifičnost je pogojena predvsem z genetsko variabilnostjo, ki vpliva na toleranco določenih ras na izbrane aktivne snovi (Laznik in Trdan, 2013).

2.7 NAČIN DELOVANJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

V žuželčjega gostitelja IL EO vstopijo prek naravnih odprtin (ustna, zadnjična, dihalna) oz. prek kutikule. Hemolimfa žuželk za IL predstavlja idealno okolje kamor sprostijo svoje simbiontske bakterije, ki jih nosijo v posebnih črevesnih veziklih. V hemolimfi se bakterije hitro množijo in tvorijo sekundarne metabolite (toksine), ki slabijo obrambni mehanizem gostitelja, ki nato v obdobju enega do dveh dni po vstopu IL v svoje telo tudi pogine (Gaugler, 2002).

V žuželčjem gostitelju začne po vstopu IL in sprostitvi za njih značilnih simbiontskih bakterij potekati dvojni razvojni krog (razvojni krog ogorčice in njene simbiontske bakterije) (Kaya, 2000). Ogorčice se levijo štirikrat in v svojem gostitelju lahko razvijejo do tri rodove. Prva dva rodovala se razvijeta še tedaj, ko je gostitelj živ (govorimo o parazitskih rodrovih), medtem ko se zadnji, tretji rod pojavi šele tedaj, ko je žuželka mrtva. Govorimo o saprofitskem tretjem rodu (Gaugler, 2002).

Da gre za tipičen zgled simbiontsko mutualističnega odnosa med ogorčico in bakterijo priča podatek, da bakterije lahko tvorijo takšne metabolite, ki od trupla odganjajo ostale mikroorganizme, ki bi se žeeli na njem hrani. Brez IL bakterije v gostitelja ne bi mogle vstopiti. IL brez bakterije ne bi bile sposobne pokončati svojo žuželčjo vrsto. Zastopanost obeh partnerjev je v parazitskem odnosu ključnega pomena (Gaugler, 2002). IL je edini stadij, ki je sposoben izvesti infekcijo, saj se le v tej obliki ličinke v njeni notranjosti nahajajo simbiontske bakterije.



Slika 1: Razvojni krog EO (Koppenhöfer in Kaya, 2002)

2.8 ZDРUŽLJIVOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC IN FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV

EO lahko mešamo z različnimi FFS. Ogorčice in ostali pripravki za varstvo rastlin so lahko naneseni hkrati ali v krajših časovnih presledkih. Zaradi priročnosti uporabe, lahko ogorčice in različna FFS mešamo tudi v mešalnih posodah, s čimer povečamo možnost interakcije. Mešanje ogorčic se izvaja predvsem zato, da se doseže večja učinkovitost pri zatiranju rastlinskih škodljivcev. Tipi interakcij, ki se pojavijo pri mešanju ogorčic in FFS, so lahko zelo različni (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

IL EO lahko prenesejo kratkotrajno izpostavitev (od 2 do 24 ur) s številnimi kemičnimi in biotičnimi insekticidi, fungicidi, herbicidi, gnojili in rastnimi regulatorji in se zaradi tega lahko mešajo skupaj, prav tako pa se jih lahko skupaj nanaša na rastline. To ponuja nizko stroškovno alternativo za varstvo rastlin. Dejanska koncentracija kemikalij, katerim so ogorčice izpostavljeni, je različna zaradi količine aplikacij (Alumai in Grewal, 2004). Nezdružljivost FFS in EO lahko nadzorujemo z uporabo optimalnega časovnega intervala med aplikacijo, katerega dolžina je odvisna od obstojnosti aktivne snovi v ciljnem substratu. Čeprav je specifična informacija o optimalnem časovnem intervalu aplikacije omejena, se navadno priporoča, da z nanosom ogorčic počakamo od enega do dveh tednov po nanosu kemičnih insekticidov in kemičnih nematocidov (Koppenhöfer in Grewal, 2005).

2.9 ZNAČILNOSTI INSEKTICIDNIH PRIPRAVKOV, UPORABLJENIH V NAŠI RAZISKAVI

2.9.1 Delfin WG

Aktivna snov: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (6,4 %)

Delfin WG je kontaktni biološki insekticid na osnovi bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* za zatiranje rastlinskih škodljivcev v vinogradništvu in zelenjadarstvu.

Uporaba na: cvetači (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* subvar. *cauliflora* DC.), glavnatem zelju (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC.), kolerabici (*Brassica oleracea* L. var. *gongyloides* L.), ohrovту, glavnatem ohrovtu (*Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *subauda*), papriki (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), vinski trti (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*).

Uporaba proti: kapusovem belinu (*Pieris brassicae* [L.]), križastem grozdnem sukaču (*Lobesia botrana* [Denis in Schiffermüller]), listnim sovkam iz rodu *Mamestra*, pasastemu grozdnemu sukaču (*Eupoecilia ambiguella* [Hübner]).

Odmerki: od 7,5 do 15 g/10 L vode

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 2: Delfin WG (Soprochiba, 2013)

2.9.2 Vertimec 1,8 % FC

Aktivna snov: abamektin 1,8 %

Vertimec 1,8 % FC je nesistemični insekticid - akaricid s poudarjenim translaminarnim delovanjem.

Uporaba na: hmelju (*Humulus* [L.]), hruški (*Pyrus* [L.]), jablani (*Malus* Mill.), jagodnjaku (*Fragaria* [L.]), jajčevcu (*Solanum melongena* [L.]), navadni kumari (*Cucumis sativus* [L.]), okrasnih grmovnicah, okrasnih rastlinah, poletnih cvetlicah, papriki (*Capsicum annuum* [L.]), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), rezanem cvetju.

Uporaba proti: listni zavrtalki iz rodu *Liriomyza*, navadni hruševi bolšici (*Cacopsylla pyri* [L.]), navadni pršici (*Tetranychus urticae* Koch), pršicam prelkam iz rodu *Tetranychus*, rdeči sadni pršici (*Panonychus ulmi* [Koch]), resarju (Thysanoptera).

Odmerki: od 7,5 do 12 ml/100 m²

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 3: Vertimec 1,8 % EC (Unichem, 2013)

2.9.3 Neemazal – T/S

Aktivna snov: azadirahitin A 1 %

Neemazal – T/S je bioinsekticid vsebuje aktivno snov azadirahitin, katera je izvleček pešk tropskega drevesa neem (*Azadirachta indica*). Sredstvo je dovoljeno v ekološki pridelavi in ni strupeno za čebele.

Uporaba na: bezgu (*Sambucus* spp. [L.]), češnji (*Prunus avium* [L.]), jablani (*Malus* Mill.), kostanju (*Castanea* spp. Mill.), koščičastem sadnem drevju, krompirju (*Solanum tuberosum* [L.]), okrasnih rastlinah, pečkatem sadnem drevju, vinski trti (*Vitis vinifera* [L.] subsp. *vinifera*), višnji (*Prunus cerasus* [L.]), vrtninah.

Uporaba proti: češnjevem molju (*Argyresthia pruniella* [Clerck]), češpljevem molju (*Yponomeuta padellus* [L.]), črni bezgovi uši (*Aphis sambuci* [L.]), črni češnjevi uši (*Myzus cerasi* Fabricius), koloradskemu hrošču (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), kostanjevem listnem zavrtaču (*Cameraria ohridella* Deschka in Dimić), listnim ušem (Aphididae), listnim moljem iz rodu *Yponomeuta*, listnim zavrtačem iz rodu *Lyonetia*, malemu zimskemu pedicu (*Operophtera brumata* [L.]), mokasti jablanovi uši (*Dysaphis plantaginea* [Passerini]), pršicam prelkam iz rodu *Tetranychus*, rastlinjakovem ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood], resarjem (Thysanoptera), ščitkarjem (Aleyrodidae), trtni uši (*Viteus vitifoliae* [Fitch]).

Odmerki: 30 ml/10 L vode.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 4: Neemazal - T/S (AgriEmporio, 2013)

2.9.4 Pirimor 50 WG

Aktivna snov: pirimikarb 50 %

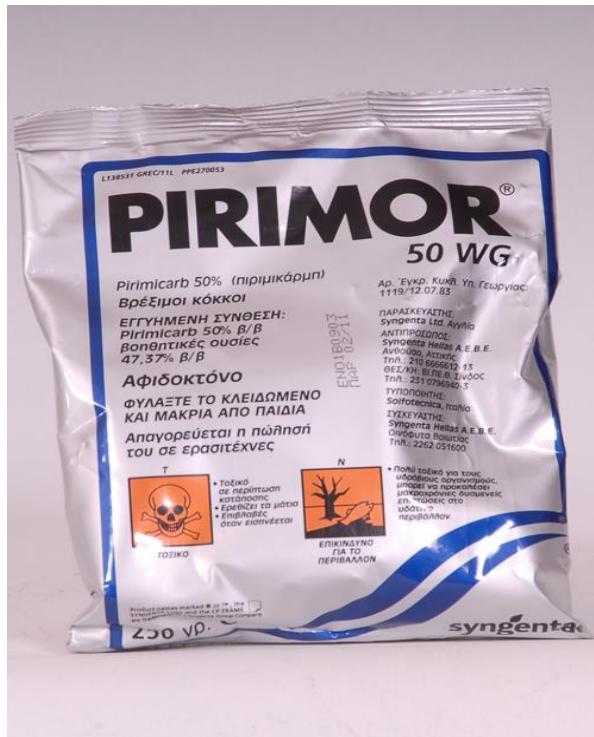
Pirimor 50 WG je specifično sredstvo za zatiranje in nadzorovanje kolonij listnih uši.

Uporaba na: ameriški borovnici (*Vaccinium corymbosum* L.), breskvi (*Prunus persica* Batsch), brokoliju (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* var. *cymosa*), brstičnemu ohrovту (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* DC./Zenk), buči (*Cucurbita pepo* L.), bučki (*Cucurbita pepo* L. var. *giromontiina* Alef./Greb.), cvetači (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* subvar. *culliflora* DC.), dinji (*Cucumis melo* L.), glavnatem zelju (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC.), jablani (*Malus* Mill.), jagodi (*Fragaria* L.), jajčevcu (*Solanum melongena* L.), jari pšenici (*Triticum aestivum* L.), jarem ječmenu (*Hordeum vulgare* L.), korenju (*Daucus* L.), kosmulji (*Ribes uva-crispa* L.), krmni pesi (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *alba*), krompirju (*Solanum tuberosum* L.), navadni kumari (*Cucumis sativus* L.), navadni lubenici (*Citrullus lanatus* [Thunb.] Matsum. et Nakai), navadni pšenici (*Triticum aestivum* L.), navadnem fižolu (*Phaseolus vulgaris* L.), navadnem grahu (*Pisum sativum* L.), navadnem ovsu (*Avena sativa* L.), okrasnih rastlinah, ozimnem ječmenu (*Hordeum* L.), paprika (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), pravem peteršilju (*Petroselinum crispum* [Mill.] A. W. Hill), rdeči pesi (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *conditiva* Alef.), ribezu (*Ribes* L.), rži (*Secale cereale* L.), slatkorni pesi (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *altissima* Doell.), vrtni solati (*Lactuca sativa* L.), tritikali (x *Triticosecale* Wittm.).

Uporaba proti: krvavi uši (*Eriosoma lanigerum* Hausmann), listni uši (Aphididae).

Odmerki: od 0,4 do 0,75 kg/ha.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 5: Pirimor 50 WG (Evrofarm SA, 2013)

2.9.5 Karate Zeon 5 CS

Aktivna snov: lambda-cihalotrin 5 %

Karate Zeon 5 CS vsebuje aktivno snov lambda-cihalotrin, ki spada v skupino sintetičnih piretroidov in deluje na sesajoče in grizoče insekte. Je kontaktni insekticid z želodčnim in odvračalnim delovanjem.

Uporaba na: brstičnem ohrovту (*Brassica oleracea* L. var. *gemmaifera* DC./Zenk), fižolu za stročje (*Phaseolus vulgaris* L.), glavnatem zelju (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC.), hmelju (*Humulus* L.), hruški (*Pyrus* L.), jajčevcu (*Solanum melongena* L.), krmnii pesi (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *alba*), krompirju (*Solanum tuberosum* L.), navadni kumari (*Cucumis sativus* L.), navadni zeleni (*Apium graveolens* L.), navadnem grahu (*Pisum sativum* L.), navadnem ječmenu (*Hordeum vulgare* L.), navadnem ovsu (*Avena sativa* L.), oljni ogrščici (*Brassica napus* subsp. *oleifera*), papriki (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), poru (*Allium porrum* L.), pšenici (*Triticum* L.), redkvici (*Raphanus sativus* L.), rži (*Secale cereale* L.), sladkorni pesi (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *altissima* Doell.), strniščni repi (*Brassica rapa* L. subsp. *rapa* (DC.) Metzg.), špinači (*Spinacia oleracea* L.), tritikali (*x Triticosecale* Wittm.), vrtnem maku (*Papaver somniferum* L.).

Uporaba proti: bolhačem (Halticinae), hmeljevem bolhaču (*Psylliodes attenuatus* Koch), hmeljevi listni uši (*Phorodon humuli* [Schrank]), kapusovem belinu (*Pieris brassicae* [L.]), kapusovi sovki (*Mamestra brassicae* [L.]), kljunotajem (*Ceutorhynchus* spp.), koloradskem hrošču (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), koruzni vešči (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]), listnim sovkam iz rodu *Mamestra*, listnim ušem (Aphididae), navadni hruševi bolšici (*Cacopsylla pyri* [L.]), rastlinjakovem ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), rdečem žitnem strgaču (*Oulema melanopus* [L.]), repičarju (*Meligethes aeneus* [Fabricius]), resarjem (Thysanoptera), zelenjadni sovki (*Lacanobia oleracea* [L.]).

Odmerki: od 1,5 do 2,0 ml/10 L vode.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 6: Karate Zeon 5 CS (Syngenta, 2013)

2.9.6 Confidor 200 SL

Aktivna snov: imidakloprid 20 %

Confidor® SL 200 je neonikotinoidni sintetični insekticid z dolgotrajnim učinkovanjem. Deluje kontaktno in oralno. Ima širok spekter delovanja, a je manj toksičen za sesalce.

Uporaba na: breskvi (*Prunus persica* Batsch), češnji (*Prunus avium* L.), hmelju (*Humulus* L.), hruški (*Pyrus* L.), jablani (*Malus* Mill.), jajčevcu (*Solanum melongena* L.), okrasnih rastlinah, papriki (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), slivi (*Prunus domestica* L.).

Uporaba proti: bolšicah (*Cacopsylla* spp.), hmeljevi listni uši (*Phorodon humuli* [Schrank]), listnih ušeh (Aphididae), rastlinjakovem ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), resarjem (Thysanoptera), sadnem listnem duplinarju (*Leucoptera malifoliella* [O. Costa]), sadnem listnem zavrtaču (*Lyonetia clerkella* [L.]), ščitkarjem (Aleyrodidae).

Odmerki: od 2 do 12,5 ml/10 L vode.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 7: Confidor SL 200 (Semilandia, 2013)

2.9.7 Chess 50 WG

Aktivna snov: pimetrozin 50 %

Chess 50 WG je sistemični insekticid s posebnim načinom delovanja. Deluje izključno na sesajoče insekte in je izredno selektiven do ostalih organizmov.

Uporaba na: breskvi (*Prunus persica* Batsch), dinji (*Cucumis melo* L.), glavnatem zelju (*Brassica oleracea* L. convar. *capitata* (L.) Alef. var. *alba* DC.), hmelju (*Humulus* L.), jajčevcu (*Solanum melongena* L.), krompirju (*Solanum tuberosum* L.), navadni kumari (*Cucumis sativus* L.), okrasnih rastlinah, oljni ogrščici (*Brassica napus* L. subsp. *Oleifera* Metzg.), oljni repici (*Brassica rapa* L. subsp. *oleifera* [DC.] Metzg.), papriki (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.), solati (*Lactuca sativa* L.).

Uporaba proti: bombaževčevi uši (*Aphis gossypii* Glover), hmeljevi listni uši (*Phorodon humuli* [Schrantz]), rastlinjakovem ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), repičarju (*Meligethes aeneus* [Fabricius]), sivi breskovi uši (*Myzus persicae* [Sulzer]).

Odmerki: od 20 do 60 g/100 L vode.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 8: Chees 50 WG (Unichem, 2013)

2.9.8 Match 050 EC

Aktivna snov: lufenuron 5 %

Match 050 EC je nesistemični dotikalni in želodčni insekticid - larvicid, ki spada v skupino inhibitorjev sinteze hitina.

Uporaba na: jajčevcu (*Solanum melongena* L.), okrasnih rastlinah, papriki (*Capsicum annuum* L.), paradižniku (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Uporaba proti: južni plodovrtki (*Helicoverpa armigera* [Hübner]), koloradskemu hrošču (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), koruzni vešči (*Ostrinia nubilalis* [Hübner]), resarjem iz rodu *Frankliniella*, sovkam iz rodu *Heliothis*.

Odmerki: od 6 do 20 ml/10 L vode.

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2013).



Slika 9: Match 050 EC (Armag, 2013)

3 MATERIAL IN METODE DELA

Poskus je potekal v Entomološkem laboratoriju na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo, Biotehniške fakultete v Ljubljani v letu 2012.

3.1 INSEKTICIDI

V našo raziskavo smo vključili 8 insekticidnih pripravkov (slika 11). V preglednici 1 posredujemo popoln spisek pripravkov z aktivnimi snovmi in odmerki pripravkov.

Preglednica 1: Imena, aktivne snovi, hektarski odmerki uporabljenih insekticidnih pripravkov ter odmerki, uporabljeni v našem poskusu.

| Trgovsko ime | Aktivna snov | % a. s. | Odmerek na ha | Odmerek v poskusu na liter vode |
|------------------|--|---------|---------------|---------------------------------|
| Vertimec | abamektin | 1,8 | 0,75 – 1,25 L | 1,25 ml |
| Match 050 EC | lufenuron | 5 | 1 – 2 L | 2 ml |
| Delfin WG | <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> | 6,4 | | 0,75 g |
| Chess 50 WG | pimetrozin | 50 | 200 – 400 g | 0,6 g |
| Neemazal-T/S | azadirachtin | 1 | | 3 ml |
| Confidor 200 SL | imidakloprid | 20 | 0,4 – 0,75 L | 0,75 ml |
| Karate Zeon 5 CS | lambda-cihalotrin | 5 | 0,15 – 0,2 L | 0,15 ml |
| Pirimor 50 WG | pirimikarb | 50 | 0,5 – 0,75 kg | 0,6 g |

3.2 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

V poskus smo vključili štiri določene rase EO. Komercialni pripravki Nemasys (aktivna snov *S. feltiae*), Nemasys C (aktivna snov *S. cariocapsae*) in Nemasys L (aktivna snov *S. kraussei*) so bili naročeni pri podjetju Becker & Underwood (Littlehampton, Velika Britanija). Vse ostale rase (*S. feltiae* SfB30, *S. cariocapsae* ScC101 in *H. bacteriophora* HbD54) so bile izolirane iz tal v Sloveniji (Laznik in sod., 2011).

Vse rase EO so bile vzgojene z metodo »*in vivo*«, pri kateri se za množitev EO, oziroma njihovih IL uporablja žive ličinke voščene vešče (*Galleria mellonella* L.) (Bedding in Akhurst, 1975). V poskusu smo uporabili le ličinke, ki so bile mlajše od dveh tednov, shranili smo jih pri 4 °C, njihova gostota pa je bila 3000 IL/ml (Laznik in sod., 2010). Pred začetkom raziskave smo preverili vitalnost EO. Za raziskavo smo uporabili le rase z vitalnostjo > 95 % (De Nardo in Grewal, 2003).



Slika 10: Osem komercialnih insekticidnih pripravkov, registriranih v Sloveniji (foto: Ž. Laznik, 2013)

3.3 PREIZKUS ZDRUŽLJIVOSTI

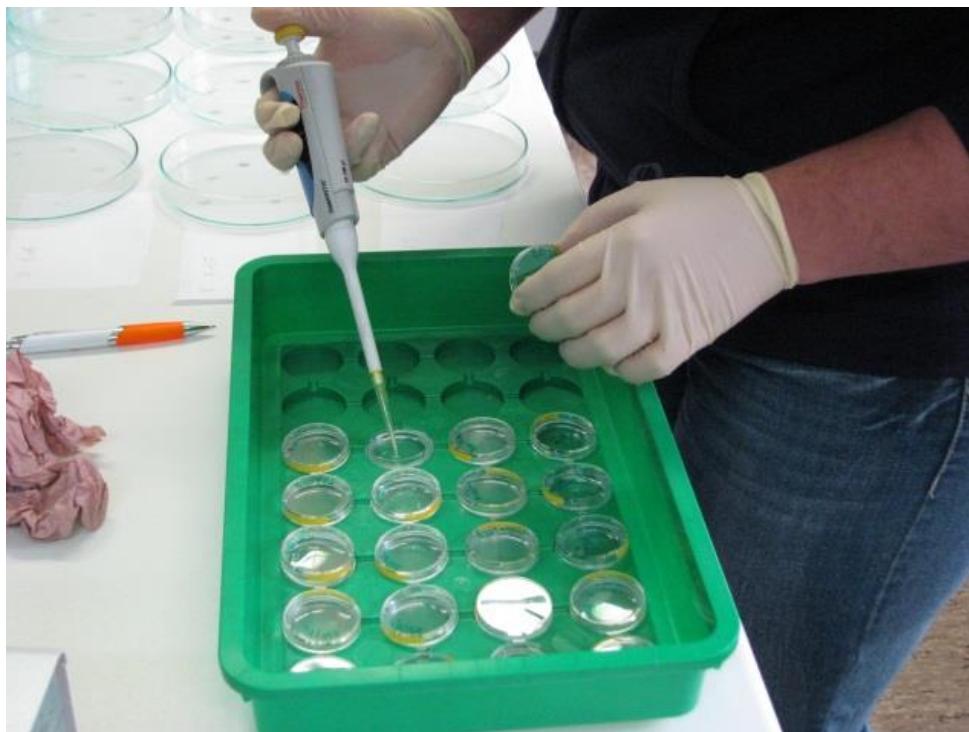
Vse insekticidne pripravke smo preizkušali pri priporočenih koncentracijah (Fito-info, 2013). Insekticidne brozge so bile pripravljene z vodo, in sicer v 30 ml izbrane insekticidne brozge smo dodali 6 ml suspenzije IL s koncentracijo 3000 IL/ml. 5 ml dobljene insekticidne brozge smo dali v plastično petrijevko (40 x 10 mm) (slika 12). V vsaki plastični petrijevki je bilo približno 2500 IL. Vsako obravnavanje smo ponovili petkrat, celotni poskus je bil ponovljen dvakrat. Za kontrolno obravnavanje smo uporabili vodo. Petrijevke smo postavili v gojitveno komoro (tip RK-9 CH, proizvajalec Kambič laboratorijska oprema, Semič), brez svetlobe, pri temperaturah 15, 20 in 25 °C in 70 % relativni zračni vlagi. Preživetveno sposobnost IL, inkubiranih v različnih snoveh z insekticidnim delovanjem, smo ocenili 1, 6 in 24 ur po nastavitev poskusa, tako da smo iz vsake mešanice s pipeto odvzeli 5 x 50 µl vzorca. V vsakem vzorcu smo prešteli najmanj 100 IL.

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Pred statistično analizo smo vse podatke o smrtnosti IL v mešanih suspenzijah korigirali glede na smrtnost IL v kontroli (Abbott, 1925). Podatke o smrtnosti smo analizirali z enosmerno analizo variance (ANOVA). Uporabili smo statistični program Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc), pri čemer so bili različni insekticidi primerjani s Tukeyevim preizkusom mnogoterih primerjav pri $P = 0,05$.



Slika 11: Plastične petrijevke z odpipetiranimi suspenzijami pred postavitvijo v gojitveno komoro, kjer so bile zagotovljene vnaprej določene razmere (foto: Ž. Laznik, 2013)



Slika 12: Nanašanje suspenzije preučevanih insekticidov in entomopatogenih ogorčic na steklene petrijevke pred ugotavljanjem njihove vitalnosti (foto: Ž. Laznik, 2013)



Slika 13: Štetje preživelih EO (foto: Ž. Laznik, 2013)



Slika 14: Ugotavljanje vitalnosti ogorčic po inkubaciji (foto: Ž. Laznik, 2013)

4 REZULTATI

4.1 SPLOŠNA ANALIZA

Odstotek preživelih IL je bil statistično značilno največji ($P<0,05$) po 6 urah pri 15°C ($82 \pm 20\%$) in 20°C ($80 \pm 1\%$). Pri temperaturi 25°C ($76 \pm 1\%$) je bilo statistično značilno najmanj preživelih IL. Po 24 urah med 15°C ($55 \pm 1\%$) in 20°C ($55 \pm 1\%$) ni bilo statistično značilnih razlik, medtem ko je pri 25°C preživel statistično značilno največji odstotek IL ($59 \pm 2\%$).

Preračunane vrednosti korigirane smrtnosti so pokazale, da je bila smrtnost EO največja po šestih urah v aktivni snovi abamektin ($25 \pm 3\%$) in lufenuron ($10 \pm 1\%$), medtem ko je bila smrtnost v preostalih insekticidnih pripravkih primerljiva s kontrolo. Po 24 urah je bila smrtnost v poskusu večja. Skladnost z EO med preučevanimi insekticidi se je pojavila le pri dveh pripravkih, v katerih je bila aktivna snov azadirachtin ($0 \pm 0\%$) ali pirimikarb ($7 \pm 1\%$). Tukaj je bila smrtnost IL primerljiva s kontrolo. V vseh ostalih pripravkih so bile vrednosti korigirane smrtnosti večje in so dosegale od $12 \pm 2\%$ (lambda-cihalotrin) do $38 \pm 3\%$ (abamektin).

Preglednica 2: Združljivost izbranih insekticidov s preučevanimi vrstami entomopatogenih ogorčic v poskušu: *Steinernema feltiae* (Filipjev) rasa SfB30 in rasa SfBU, *S. carpocapsae* (Weiser) rasa ScC101 in rasa ScBU, *S. kraussei* (Steiner) rasa SkBU in *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar rasa HbD54

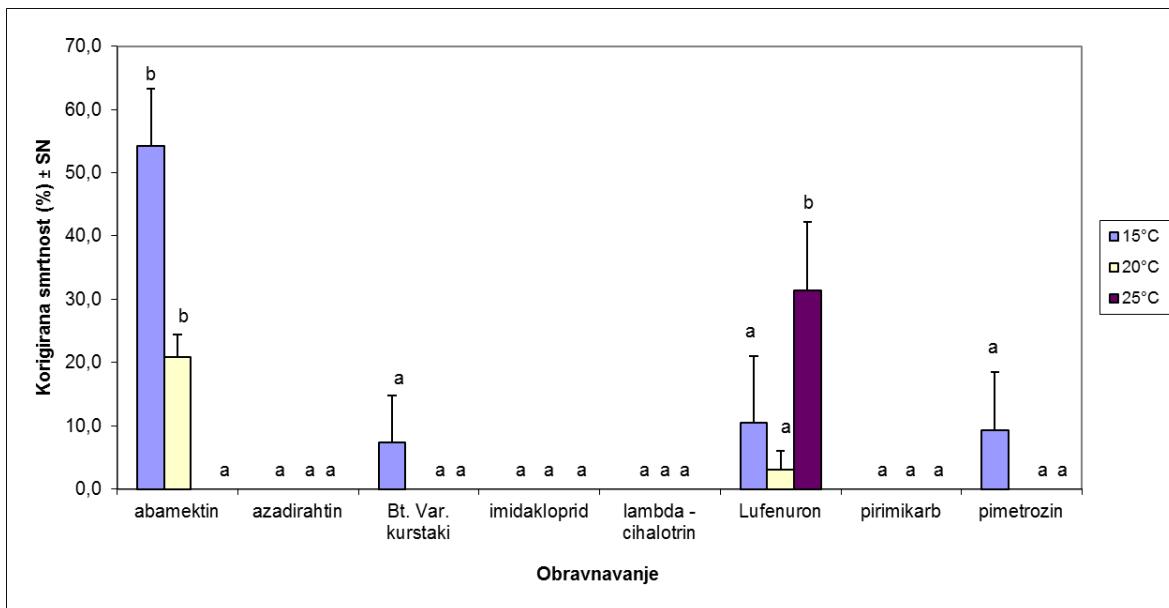
| Vrsta EO | <i>Steinernema feltiae</i> | | <i>Steinernema carpocapsae</i> | | <i>Steinernema kraussei</i> | | <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> | |
|----------------|----------------------------|-------|--------------------------------|-------|-----------------------------|-------|--------------------------------------|-------|
| Obravnavanje | 6 ur | 24 ur | 6 ur | 24 ur | 6 ur | 24 ur | 6 ur | 24 ur |
| CHESS 50 | + | - | 0 | 0 | - | - | + | + |
| CONFIDOR | + | - | - | 0 | 0 | - | + | + |
| DELFIN | 0 | 0 | - | - | 0 | - | + | 0 |
| KARATE ZEON | + | - | 0 | - | - | - | + | + |
| MATCH | - | - | - | - | - | - | + | - |
| NEEMAZAL | + | + | - | - | 0 | 0 | + | + |
| PIRIMOR | + | + | 0 | - | - | - | + | + |
| VERTIMEC | - | - | + | 0 | - | - | - | 0 |
| KONTROLA | + | + | + | + | + | + | + | + |

Legenda: +: majhna smrtnost EO pri obravnavanju; 0: srednja smrtnost EO pri obravnavanju ; -: velika smrtnost EO pri obravnavanju.

4.2 STEINERNEMA FELTiae

Odstotek preživelih IL je bil po 6 urah pri 15°C ($93 \pm 3\%$) statistično značilno največji, medtem ko je bil pri 20°C ($83 \pm 2\%$) in 25°C ($81 \pm 2\%$) najmanjši (slika 28). Po 24 urah ni bilo signifikantne razlike med 15°C ($60 \pm 3\%$) in 20°C ($55 \pm 3\%$), medtem ko je pri 25°C preživelilo največ IL ($67 \pm 3\%$) (slika 29). Analiza je pokazala, da je bil odstotek smrtnosti ($27 \pm 2\%$) pri komercialni rasi SfBU statistično značilno večji ($P < 0,0001$) kot pri domači rasi SfB30 ($2 \pm 1\%$) po šestih urah. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po 24 urah, ko je bila smrtnost IL pri komercialni rasi SfBU ($P = 0,0020$) večja ($43 \pm 1\%$) kot pri domači rasi SfB30 ($37 \pm 2\%$).

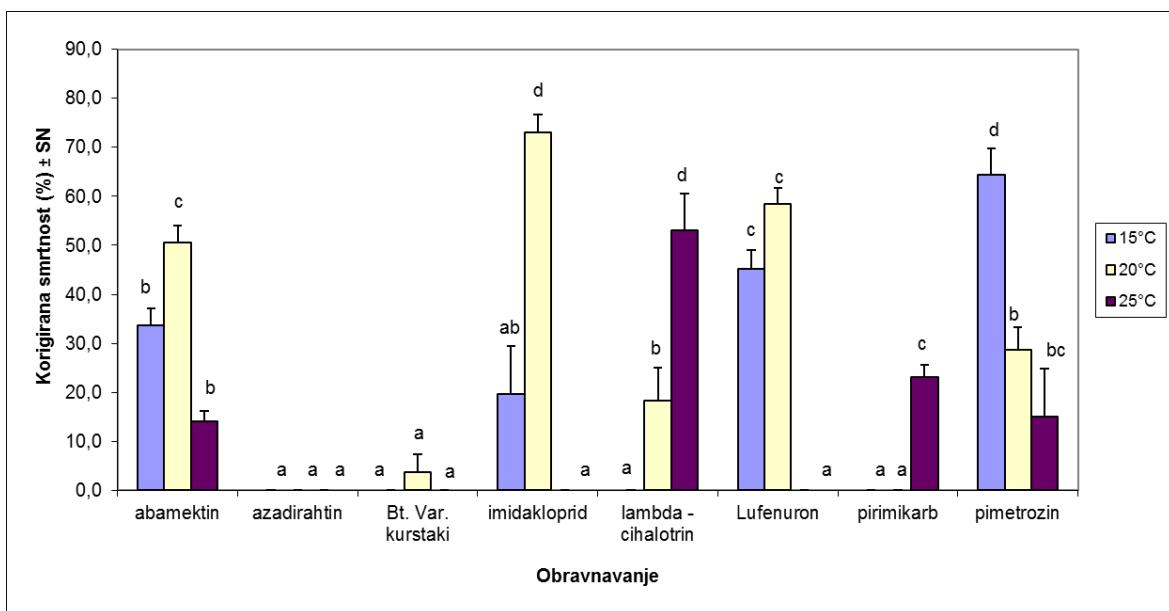
Korigirana smrtnost ras vrste *S. feltiae*, izpostavljenih različnim insekticidom, je prikazana v slikah 16, 17, 18 in 19. Domača rasa SfB30 je po 6 urah izpostavljenosti pokazala združljivost s številnimi insekticidi, ki so bili uporabljeni v poskusu. Statistično značilno večja smrtnost v primerjavi s kontrolo je bila ugotovljena le ob mešanju ogorčic z aktivnima snovema abamektin (razen pri 25°C) in lufenuron (samo pri 25°C) (slika 16). Analiza rezultatov je pokazala, da je komercialni pripravek rase SfBU manj združljiv z izbranimi insekticidi, saj so bile vrednosti preračunane smrtnosti večje v praktično vseh insekticidih, ki so bili preučevani (sliki 18 in 19). Rasa SfB30 je z aktivnimi snovmi (azadirahitin, toksinom bakterije *B. thuringiensis*, imidakloprid) izkazala združljivost, medtem ko tega pri komercialni rasi SfBU nismo potrdili. Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi pri analizi podatkov po 24 urah (sliki 17 in 19). Aktivna snov azadirahitin in toksin bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sta pokazali skladnost z domačo raso SfB30, medtem ko je s komercialno raso SfBU niso.



Slika 15: Korigirana smrtnost (%) rase SfB30, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Pri rasi SfB30 je bila po 6 urah izpostavitev ugotovljena združljivost z aktivnimi snovmi pirimikarb, azadirahin, imidakloprid in z aktivno snovjo toksina bakterije *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (slika 16). Rasa je združljivost pokazala tudi pri aktivnih snoveh abamektin in pimetrozin, vendar le pri določenih temperaturah. Iz rezultatov lahko sklepamo, da je pri rasi SfB30 korigirana smrtnost večja pri nižjih temperaturah.

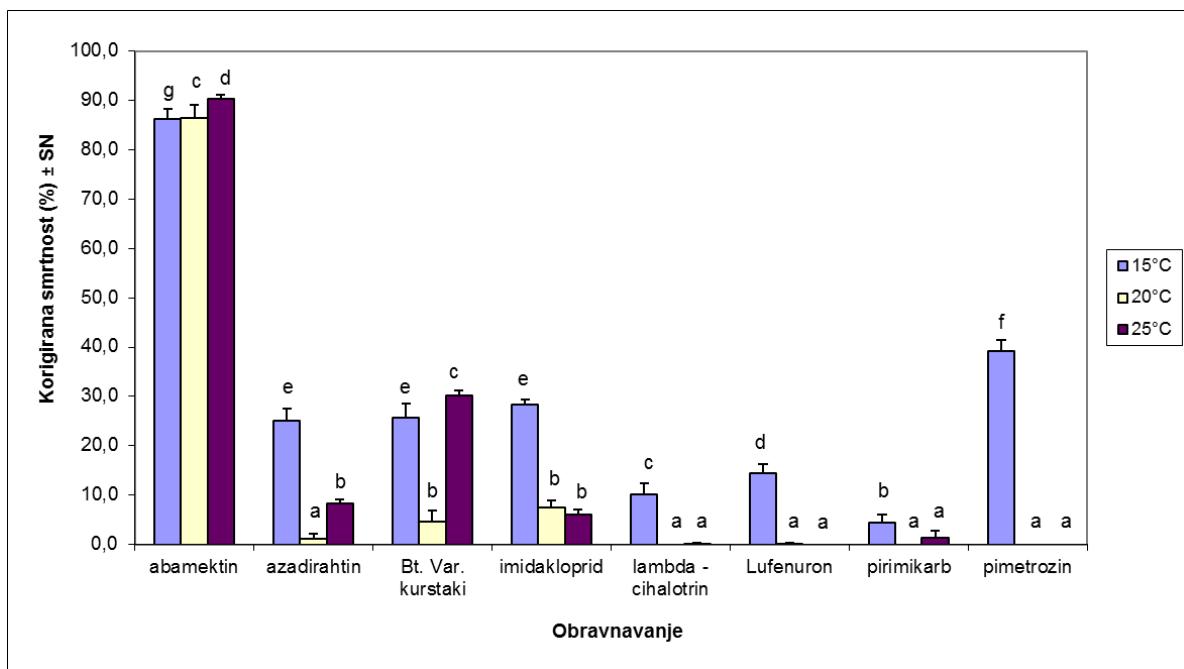
Raso SfB30 bi lahko z mešanjem s FFS, ki vsebujejo aktivne snovi pirimikarb, azadirahin, aktivno snov toksina bakterije *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, aktivne snovi imidakloprid, abamektin in pimetrozin, uporabili za zatiranje uši moljev, hroščev, pršic prelk, resarjev, vešč, sukačev, sovk, zavijačev lupine sadja in zavijačev.



Slika 16: Korigirana smrtnost (%) rase SfB30, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih a. s. ($P < 0,05$, Tukey's test).

Po 24 urah izpostavitev je bila ugotovljena združljivost IL rase SfB30 z aktivnimi snovmi azadirahin in pirimikarb ter aktivno snovjo toksina bakterije *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (slika 17). Na korigirano smrtnost je vplivala tudi temperatura, saj je bila korigirana smrtnost v našem poskusu večja, ker je aktivnost EO pri temperaturi med 20 in 26 °C največja (Trdan in sod., 2008; Laznik in sod., 2010) in posledično takrat EO zaužijejo več aktivne snovi.

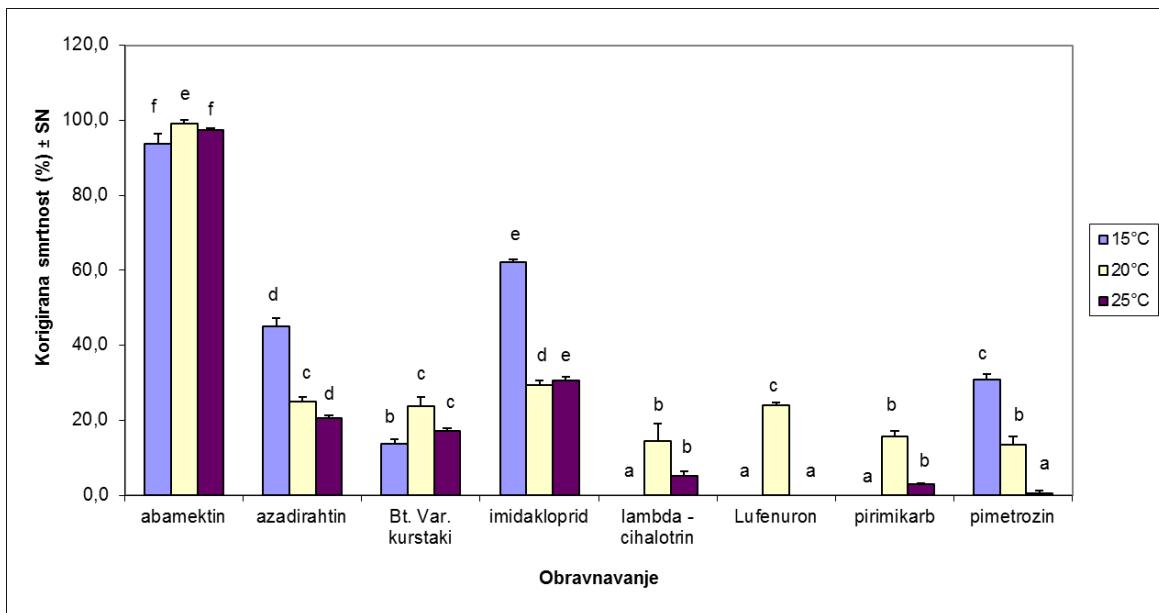
EO bi lahko s kombinacijo FFS, ki vsebujejo aktivne snov pirimikarb in azadirahin uporabili za zatiranje moljev, uši, hroščev, pršic prelk in zavijačev.



Slika 17: Korigirana smrtnost (%) rase SfBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa SfBU je po 6 urah izpostavitev pokazala združljivost le z aktivnimi snovmi pirimikarb, lambda – cihalotrin in pimetrozin, vendar le pri določeni temperaturi (slika 18). Glede na dobljene rezultate lahko sklepamo, da komercialno raso SfBU ni priporočljivo mešati s FFS, ki vsebujejo ostale aktivne snovi, saj bi bila smrtnosti velika in EO ne bi bile učinkovite pri zatiranju škodljivcev.

EO rase SfBU bi lahko mešali skupaj s FFS, ki vsebujejo aktivne snovi pirimikarb pimetrozin in lambda – cihalotrin, za zatiranje uši, hroščev, bolhačev, moljev in resarjev.



Slika 18: Korigirana smrtnost (%) rase SfBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitve. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

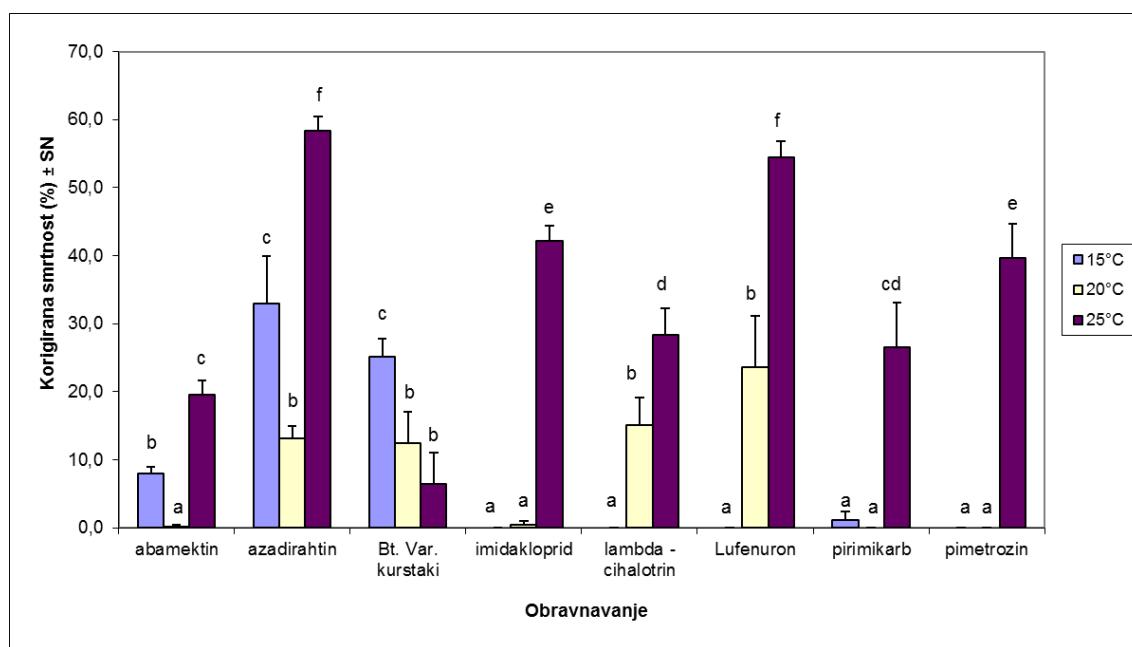
Rasa SfBU po 24 urah izpostavitve ni pokazala združljivost le z aktivno snovo lufenuron, vendar pa je bila smrtnost pri vseh ostalih obravnavanjih, ne glede na temperaturo, velika (slika 19). Največja korigirana smrtnost je bila pri mešanju EO z aktivno snovo abamektin, pri vseh treh temperaturah. Glede na dobljene rezultate lahko sklepamo, da komercialno raso SfBU lahko mešamo le s FFS, ki vsebujejo aktivno snov lufenuron. Mešanje EO z ostalimi aktivnimisnovmi ni priporočljivo, saj EO ne bi imele učinka pri zatiranju škodljivcev.

4.3 STEINERNEMA CARPOCAPSAE

Odstotek preživelih IL je bil po šestih urah pri 15°C ($77 \pm 2\%$) in 20°C ($76 \pm 1\%$) statistično značilno največji. Pri 25°C ($72 \pm 1\%$) je bil odstotek statistično značilno najmanjši (slika 28). Po 24 urah je bila smrtnosti IL največja. Vrednosti so se gibale med $47 \pm 2\%$ (15°C) in $60 \pm 4\%$ (25°C) (slika 29). Analiza je pokazala, da je smrtnost ($21 \pm 1\%$) komercialnega pripravka ScBU ($P < 0,0001$) po šestih urah statistično značilno manjša, kot pri domači rasi ScC101 ($27 \pm 1\%$). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po 24 urah, ko je bila smrtnost IL pri komercialnem pripravku ScBU ($P < 0,0001$) manjša ($42 \pm 1\%$) kot pri domači rasi ScC101 ($52 \pm 1\%$).

Korigirane smrtnosti rase vrste *S. carpocapsae*, izpostavljenе različnim insekticidom, so prikazane v slikah 20, 21, 22 in 23. Domača rasa ScC101 je pokazala združljivost po šestih urah izpostavljenosti (15 in 20°C) z aktivnimi snovmi imidakloprid, pirimikarb in pimetrozin (slika 20). Komercialni pripravek pa je bil združljiv z aktivnimi snovmi abamektin, imidakloprid in pirimikarb (slika 22). Rezultati po 24 urah so pokazali, da je bila rasa ScC101 združljiva le z aktivno snovo toksina bakterije *Bacillus thuringiensis*

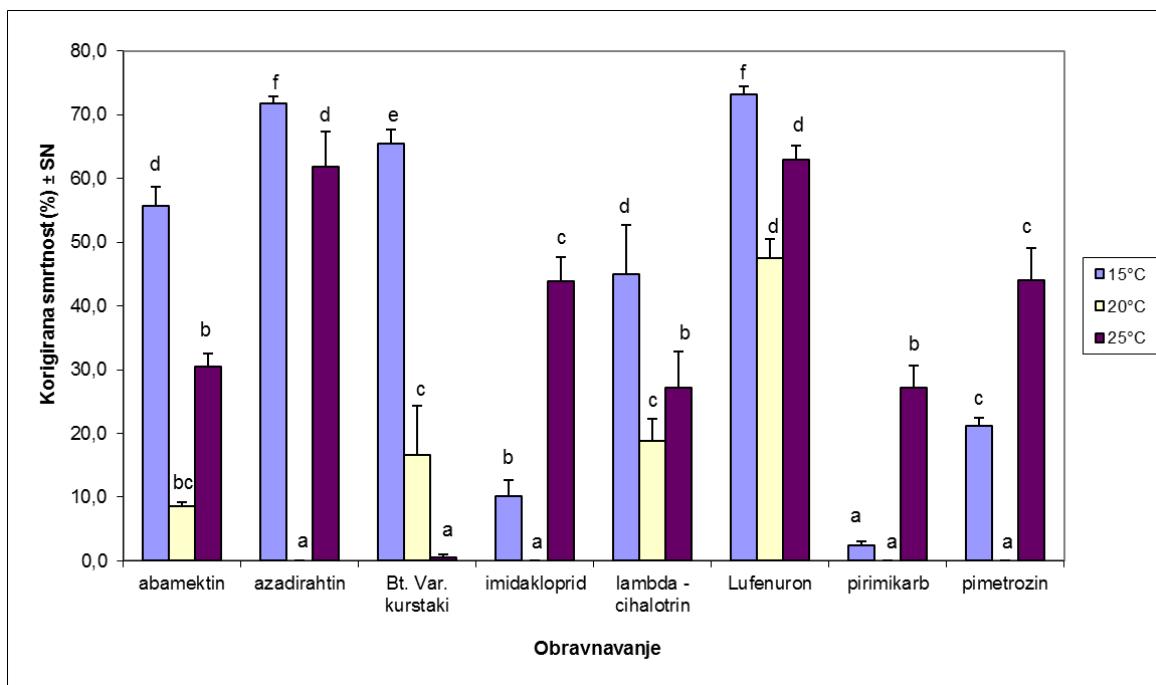
var. *kurstaki* (15 in 20 °C) (slika 21), medtem ko je bil komercialni pripravek ScBU združljiv z večino preučevanih aktivnih snovi pri najvišji temperaturi v poskusu (slika 23).



Slika 19: Korigirana smrtnost (%) rase ScC101, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa ScC101 je po 6 urah izpostavitve pokazala združljivost z aktivnimi snovmi imidakloprid, pirimikarb in pimetrozin, vendar pri nižjih temperaturah (slika 20). Ko se je temperatura povečala (25 °C), se je povečala tudi korigirana smrtnost (slika 21).

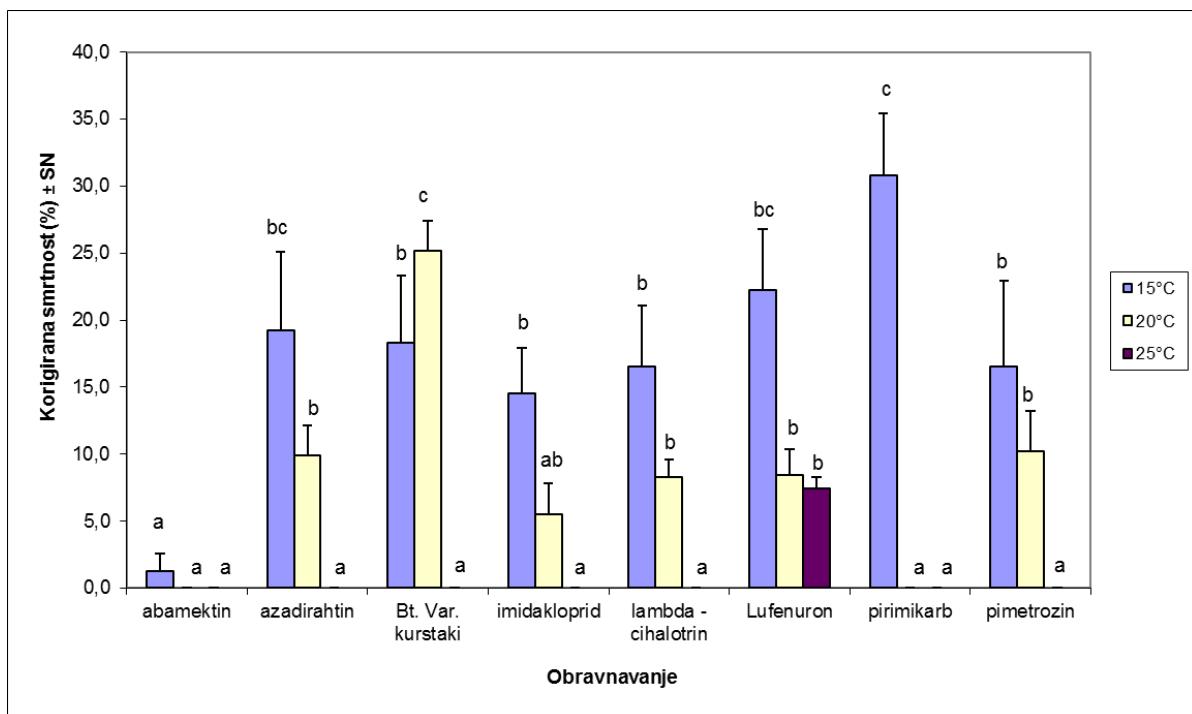
Glede na dobljene rezultate lahko sklepamo, da lahko EO rase ScC101 mešamo s FFS, ki vsebujejo aktivne snovi pirimikarb, pimetrozin, imidakloprid za zatiranje uši, sovk, hroščev in resarjev.



Slika 20: Korigirana smrtnost (%) rase ScC101, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa ScC101 je po 24 urah izpostavitve pokazala združljivost z aktivno snovjo toksina bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (15 in 20 °C) in aktivnimi snovmi azadirahitin, imidakloprid, pimetrozin in pirimikarb pri temperaturi 20 °C (slika 21). Pri vseh ostalih obravnavanjih so bile korigirane smrtnosti velike in mešanje IL s preučevanimi aktivnimi snovmi ni priporočljivo, saj IL ne bi bile učinkovite. Največja smrtnost pri vseh temperaturah je bila pri mešanju IL z aktivno snovjo lufenuron pri vseh temperaturah (slika 21).

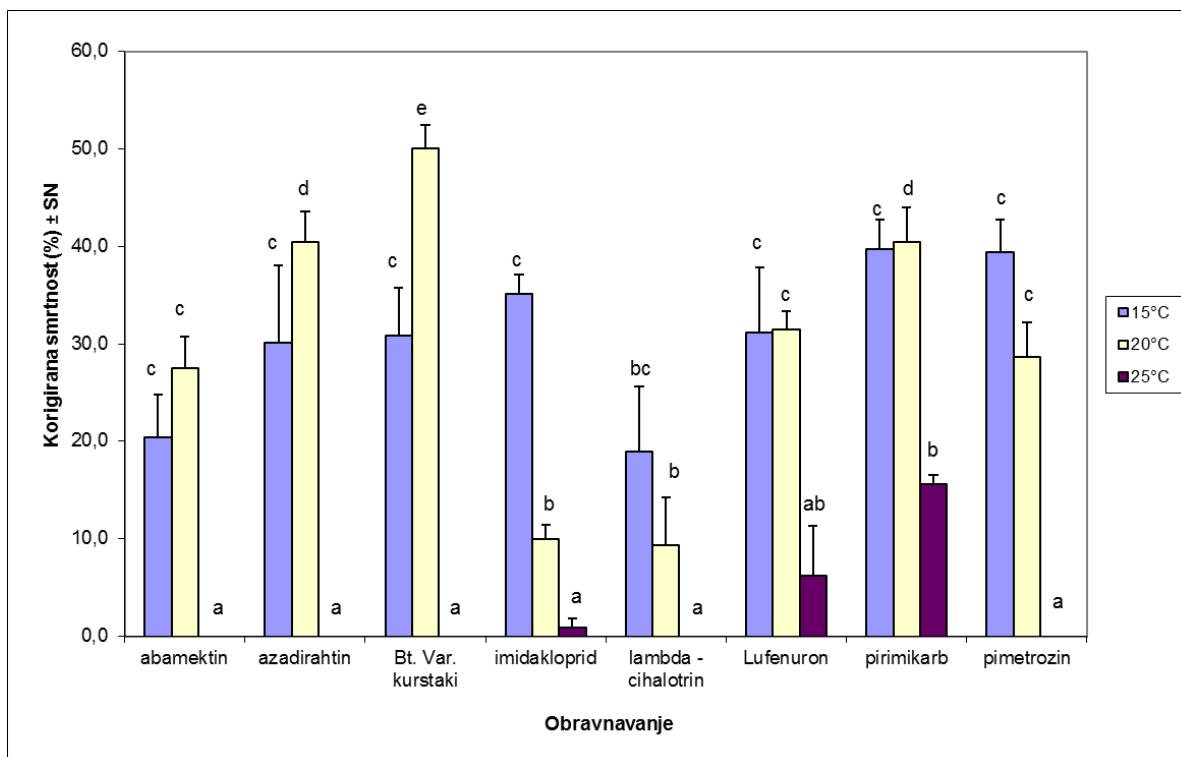
Glede na rezultate lahko sklepamo, da se IL rase ScC101 lahko uporabi pri mešanju z aktivno snovjo toksina bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, in aktivnimi snovmi kot so azadirahitin, imidakloprid, pirimikarb in pimetrozin za zatiranje sovk, moljev, sukačev in zavijačev lupine sadja.



Slika 21: Korigirana smrtnost (%) rase ScBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Komercialna rasa ScBU je po 6 urah izpostavitev pokazala združljivost z aktivnimi snovmi abamektin, pirimikarb in pimetrozin (20 in 25 °C) (slika 22).

Na podlagi dobljenih rezultatov sklepamo, da lahko raso ScBU mešamo s FFS, ki vsebujejo aktivno snov abamektin za zatiranje uši, pršic, kaparje in resarje, s FFS, ki vsebujejo aktivno snov pirimikarb za zatiranje uši, sovk, hroščev in resarjev in s FFS, ki vsebuje aktivno snov pimetrozin za zatiranje uši.



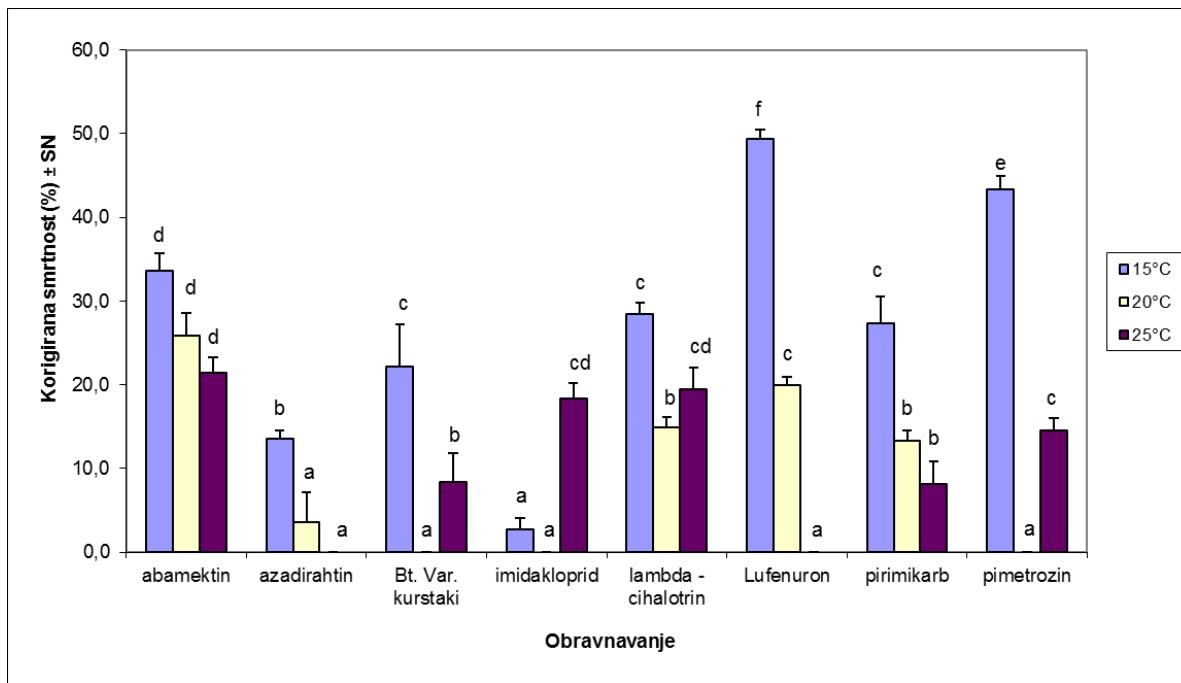
Slika 22: Korigirana smrtnost (%) rase ScBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa ScBU je po 24 urah izpostavitev pokazala združljivost skoraj z vsemi aktivnimi snovmi, vendar le pri višjih temperaturah (25°C) (slika 23). Na podlagi dobljenih rezultatov zaključujemo, da lahko raso ScBU lahko mešamo s skoraj vsemi preučevanimi aktivnimi snovmi, vendar le pri višji temperaturi, saj bo takrat njihova učinkovitost pri zatiranju škodljivcev največja. IL rase ScBU ni priporočljivo mešati skupaj z aktivnimi snovmi imidakloprid, pirimikarb in lufenuron, saj IL in te aktivne snovi niso skladne. Mešanje IL in ostalih aktivnih snovi lahko uporabimo za zatiranje uši, sovk, hroščev, pršic, moljev, resarjev in muh.

4.4 STEINERNEMA KRAUSSEI

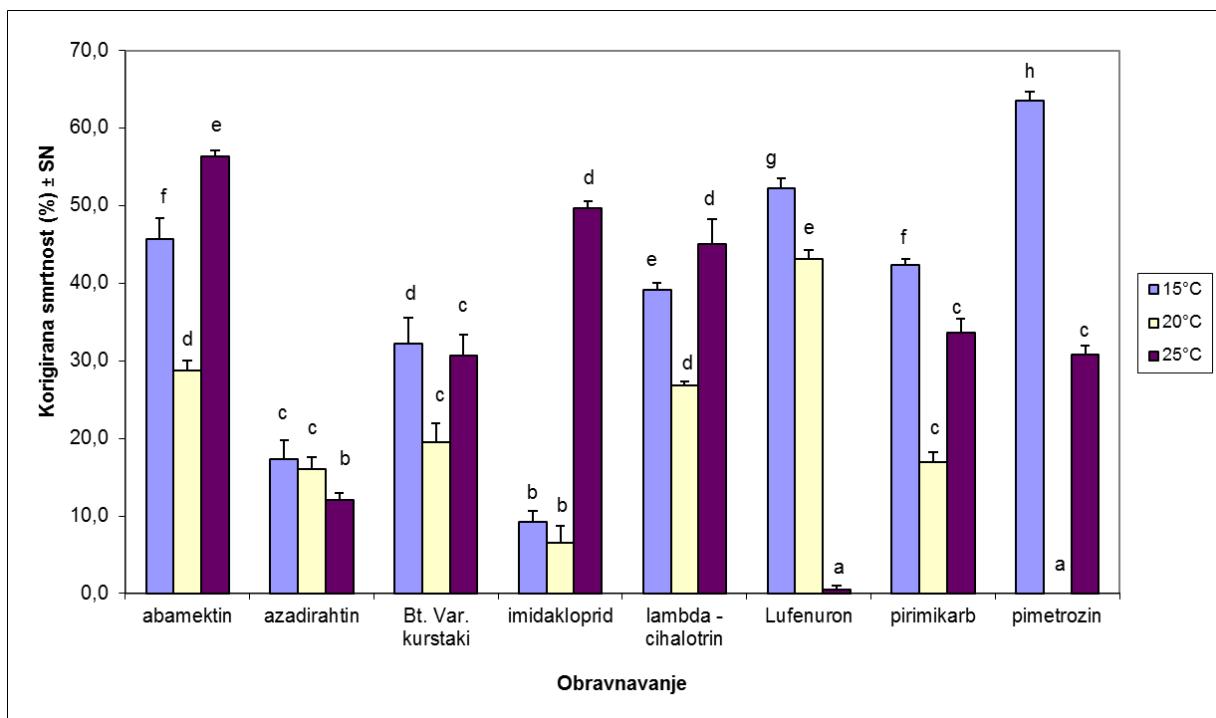
Odstotek preživelih IL je bil po šestih urah pri 20°C ($84 \pm 1\%$) statistično značilno največji. Pri 15°C ($68 \pm 4\%$) in 25°C ($74 \pm 3\%$) je bil statistično značilno najmanjši (slika 28). Do podobnih ugotovitev smo prišli tudi po 24 urah, ko je bila smrtnost statistično značilno večja in so vrednosti preživelih IL segale med $54 \pm 2\%$ (25°C) in $66 \pm 2\%$ (20°C) (slika 29).

Korrigirane smrtnosti rase SkBU, izpostavljene različnim insekticidom, so prikazane v slikah 24 in 25. Komercialni pripravek SkBU je po šestih urah izpostavljenosti pokazal združljivost z aktivnima snovema azadirahitin in imidakloprid (20 in 25°C), prav tako pa tudi s toksinom bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in aktivno snovojo pimetrozin (20°C) (slika 24). Analiza, ki smo jo opravili po 24 urah, je pokazala skladnost rase SkBU z dvema aktivnima snovema, lufenuronom (20°C) in pimetrozinom (20°C) (slika 25).



Slika 23: Korigirana smrtnost (%) rase SkBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Na podlagi dobljenih rezultatov zaključujemo, da IL rase SkBU lahko mešamo s FFS, ki vsebujejo aktivne snovi azadirahitin, imidakloprid, pimetrozin in aktivno snov toksina bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* za zatiranje moljev, hroščev, pršic, resarjev, bolšic in uši, vendar le pri temperaurah, višjih od 20 °C, saj je iz rezultatov razvidno, da je združljivost IL in aktivnih snovi pri višjih temperaturah boljša.



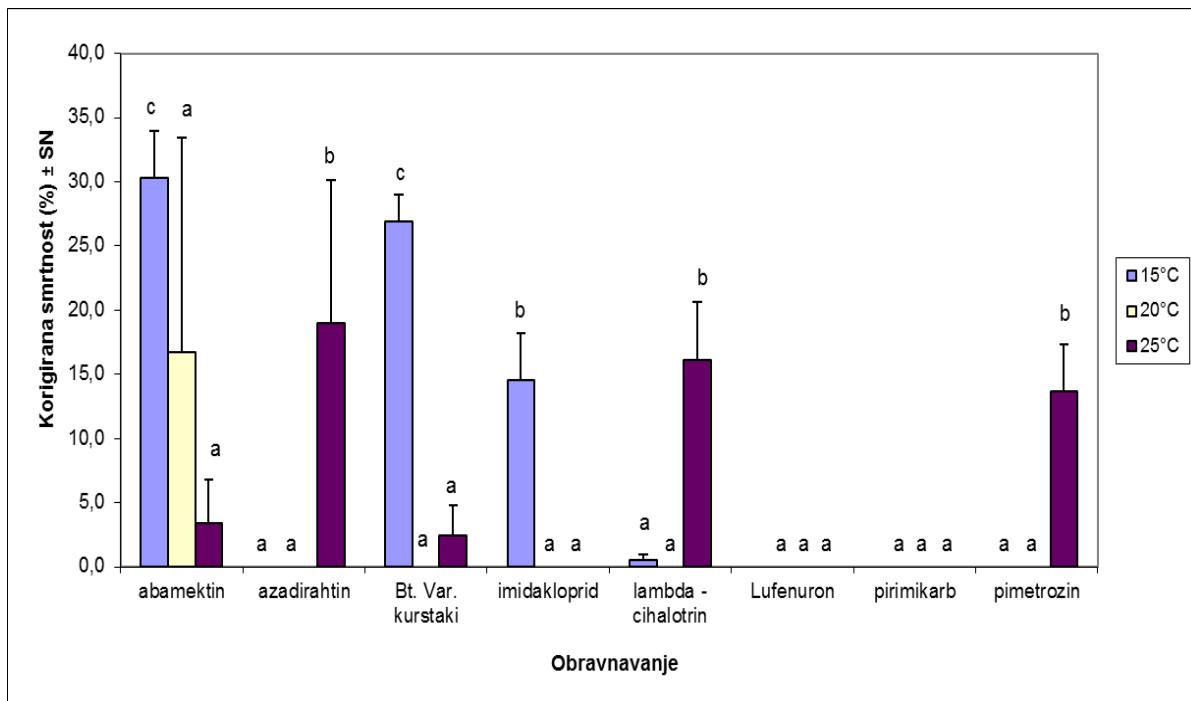
Slika 24: Korigirana smrtnost (%) rase SkBU, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitev. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa SkBU je po 24 urah izpostavitev pokazala združljivost z aktivnima snovema lufenuron (25 °C) in pimetrozin (20 °C) (slika 25). Ker so vrednosti korigirane smrtnosti pri obeh obravnavanjih vseeno prevelike zaključujemo, raso SkBU ni priporočljivo mešati z nobeno izmed aktivnih snovi, saj bodo IL neučinkovite.

4.5 HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA

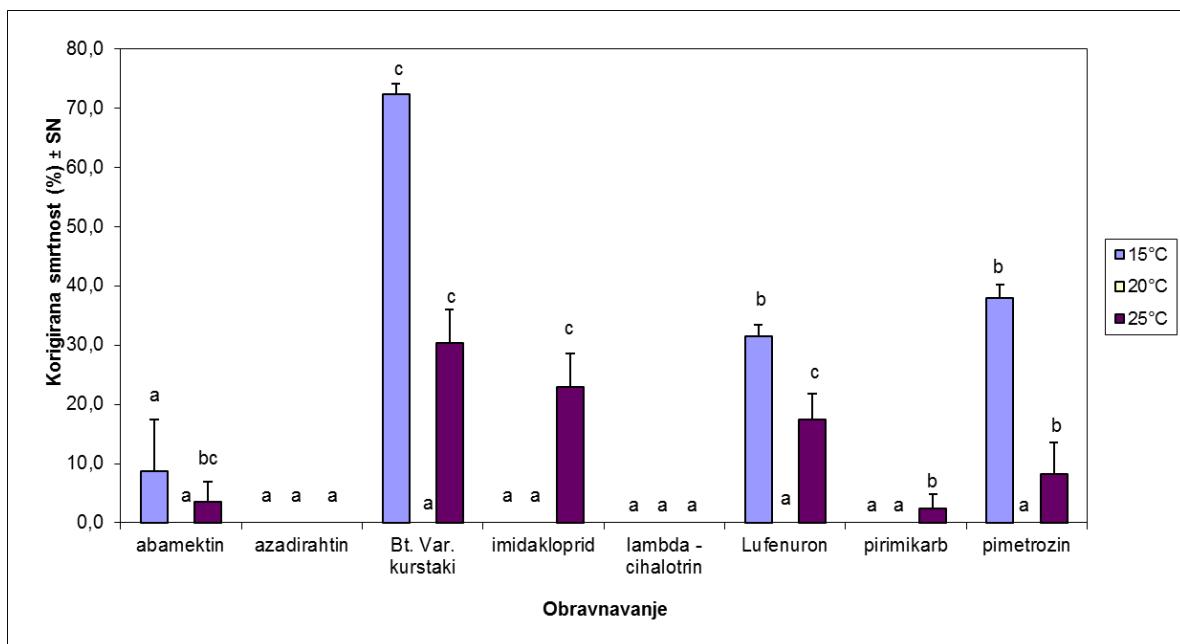
Odstotek preživelih IL po šestih urah je bil pri 25 °C ($72 \pm 2\%$) najmanjšji. Pri 15 °C ($82 \pm 3\%$) in 20 °C ($83 \pm 2\%$) je bil odstotek statistično značilno največji (slika 28). Po 24 urah, ko je bil odstotek smrtnosti večji, so vrednosti preživelih IL segale med $48 \pm 1\%$ (20 °C) in $61 \pm 2\%$ (15 °C) (slika 29).

Korigirane smrtnosti rase HbD54, izpostavljene različnim insekticidom, so prikazane v slikah 26 in 27. Domača rasa HbD54 je po šestih urah izpostavljenosti pokazala združljivost z večino aktivnih snovi, ki so bile preučevane (slika 26). Analiza je prav tako pokazala veliko združljivost omenjene rase z izbranimi aktivnimi snovmi po 24 urah (slika 27).



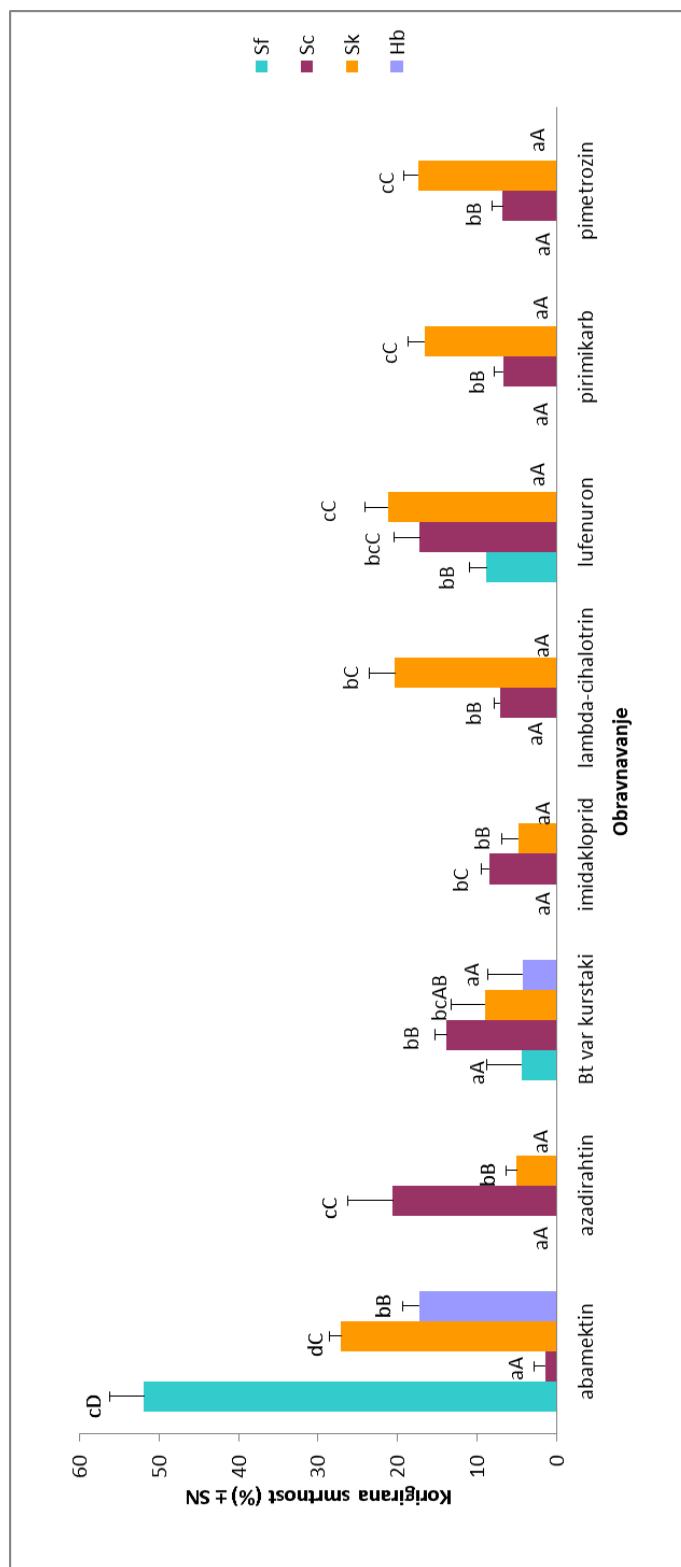
Slika 25: Korigirana smrtnost (%) rase HbD54, tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 6 urah izpostavitve. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Rasa HbD54 je po 6 urah izpostavitve pokazala združljivost z aktivnimi snovmi azadirahitin, imidakloprid, lambda – cihalotrin, lufenuron, pirimikarb in pimetrozin. Z omenjenimi aktivnimi snovmi lahko preučevamo raso mešamo za zatiranje škodljivcev, kot so uši, bolšice, molji, hrošči, prelke, resarji, muhe, plodovrtk in vešč.

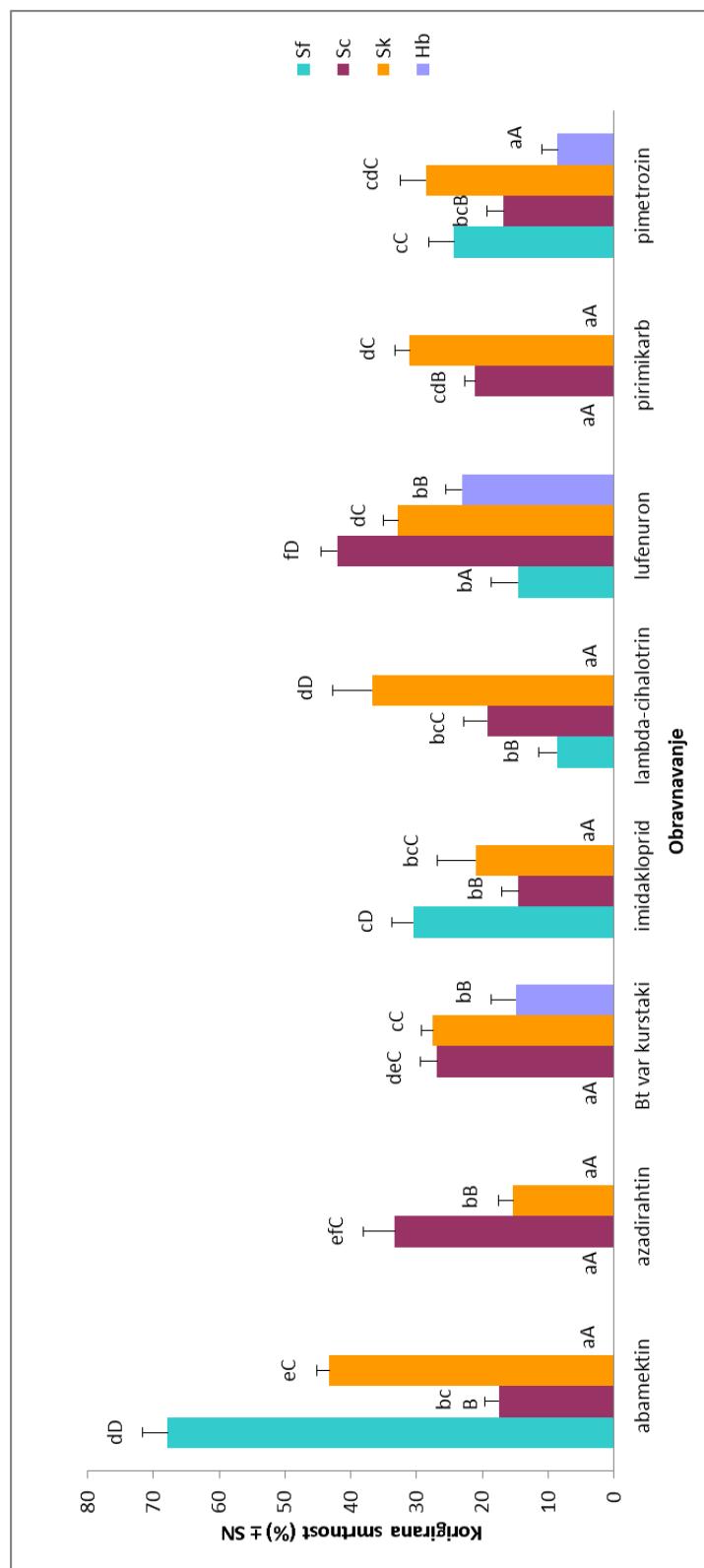


Slika 26: Korigirana smrtnost (%) rase HbD54 tretirane z insekticidi, pri različnih temperaturah po 24 urah izpostavitve. Male pisane črke za posamezni vrednostmi prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test).

Po 24 urah izpostavitve je rasa HbD54 pokazala veliko zdržljivost s skoraj vsemi aktivnimi snovmi. Glede na dobljene rezultate, lahko raso HbD54 za zatiranje škodljivcev mešamo z vsemi aktivnimi snovmi, ki smo jih preučevali v našem laboratorijskem poskusu.



Slika 27: Korrigirana smrtnost (%) ras EO, tretiranih insekticidi pri različnih temperaturah, 6 ur po izpostavitvi. Male pisane črke za posamezni vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test). SfB30 – *S. feltiae* rasa B30; SfBU – *S. feltiae* rasa BU; ScC101 – *S. carposcae* rasa C101; ScBU – *S. carposcae* rasa BU; SkBU – *S. kraussei* rasa BU; HbD54 – *H. bacteriophora* rasa D54.



Slika 28: Korrigirana smrtnost (%) ras EO, tretiranih z insekticidi pri različnih temperaturah, 24 ur po izpostavitvi. Male pisane črke za posamezne vrednosti prikazujejo statistično značilne primerjave rase EO pri isti temperaturi in različnih aktivnih snoveh ($P < 0,05$, Tukey's test). SfB30 – *S. feltiae* rasa B30; SfBU – *S. feltiae* rasa BU; ScC101 – *S. carpocapsae* rasa C101; ScBU – *S. carpocapsae* rasa BU; SkBU – *S. kraussei* rasa BU; HbD54 – *H. bacteriophora* rasa D54.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Večina predhodnih raziskav o združljivosti EO s kemikalijami je bila izvedena v laboratorijskih razmerah z neposredno izpostavitvijo EO FFS. Velika variabilnost združljivosti med FFS iz istih kemičnih skupin in EO, naredijo podatke o izdelkih, ki jih aktine snovi vsebujejo z interakcijami z EO nezanesljive, zato bi bilo potrebno vsak tovrsten izdelek za sistem IVR preizkusiti individualno. Podobno posploševanje združljivosti podatkov med različnimi rasami ogorčic je nezaželeno (Laznik in Trdan, 2013).

V naši raziskavi smo preučevali glavne kemične in biotične insekticide, ki so največkrat uporabljeni v sistemih IVR v Sloveniji. Rezultati naše in predhodnih sorodnih raziskav so pokazali, da je združljivost vrstno specifična lastnost. Naša raziskava je pokazala, da aktivni snovi azadirahtin in pirimikarb nista imeli učinka na vitalnosti ogorčic *S. feltiae* in *H. bacteriophora*, medtem ko sta omenjeni aaktivni snovi imeli učinek na ogorčice *S. cariocapsae* in *S. kraussei*. Rezultati naše raziskave so potrdili rezultate raziskave, ki so jo opravili Grewal in sod. (1994), kjer je bila *S. feltiae* združljiva z aktivno snovjo azadirahtin. Združljivost aktivne snovi pirimikarb in EO ni bila preučevana v prejšnjih raziskavah.

Laznik in sod. (2012) so nedavno poročali, da združljivost EO s FFS (fungicidi) ni le vrstno specifična, temveč tudi rasno specifična lastnost. Do podobnih zaključkov smo prišli tudi v naši raziskavi. Aktivane snovi azadirahtin, toksin bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidakloprid niso imele učinka na domačo raso *S. feltiae* B30. V nasprotju pa so prej omenjene aktivne snovi občutno zmanjšale število živih IL pri komercialnem pripravku, ki je vseboval vrsto *S. feltiae*. Med različnimi rasami vrste *S. cariocapsae* nismo potrdili nobene rasno specifične lastnosti na združljivost preučevanih insekticidov. Azadirahtin, toksin bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidakloprid so v tej raziskavi zmanjšali število IL vrste *S. cariocapsae*, kar pa se ne ujema z nekaterimi podobnimi študijami, kjer omenjene aaktivne snovi niso imele učinka na preživetje in infektivnost te vrste. Iz podatkov lahko samo ugibamo, da sta rasi ScC101 in komercialni pripravek ScBU bolj genetsko podobni kot druge omenjene rase *S. cariocapsae*, kar podpira teorijo Stuarta in Gauglerja (1994), ki sta ugotovila, da je možna genetska adaptacija EO na različne biotske in abiotske dejavnike, ki vplivajo na rezultate. Aktivni snovilufenuron in abamektin sta bila edina insekticida, ki sta vplivala na smrtnost vrste *H. bacteriophora* v naši raziskavi. Lahko zaključimo, da je vrsta *H. bacteriophora* najbolj tolerantna na preizkušane insekticide. Aktivni snovi abamektin in lufenuron imata dobro znan nematocidni učinek, kar lahko pojasni relativno veliko smrtnost ogorčic. Za vrsti *S. cariocapsae* in *S. kraussei* je bilo dokazano, da sta najbolj občutljivi v tej raziskavi (Laznik in Trdan, 2013).

V raziskavi je temperatura pomembno vplivala na smrtnost IL, ko so bile ogorčice zmešane z insekticidi. Pri višji temperaturi je bila večja tudi smrtnost IL. Podobne zaključke so ugotovili tudi Laznik in sod. (2012), ko so testirali več vrst EO, zmešanih s fungicidi. Znano je dejstvo, da je med 20 in 26 °C aktivnost EO največja in da lahko

povežemo njihovo občutljivost, odpornost ali toleranco na insekticide z njihovo sposobnostjo, da prenesejo osmotske strese, čeprav ni znanih veliko informacij o teh zanimivih biotičnih fenomenih (Laznik in Trdan, 2013).

Učinek FFS na gibanje IL (obnašanje) je težko oceniti. Ko na ogorčice začnejo delovati insekticidi (še posebno na vrsto *S. carpocapsae*), te ostanejo v mirovanju v obliki črke J, čeprav obstaja dejstvo, da se lahko hitro odzovejo na mehanske dražljaje. Ta nenatančnost pri ocenjevanju sposobnosti lahko pripelje do nepravilnosti podatkov o infektivnosti, ko so lahko lastnosti, ki so povezane z vedenjem, vključno z zaviranjem gibanja, razpršenostjo in privlačnostjo gostitelja, nepravilno ocenjene, prav tako pa sta lahko prizadeta reprodukcija in razvoj ogorčic (Laznik in Trdan, 2013).

Na podlagi rezultatov naše raziskave lahko zaključimo, da obstaja prednost uporabe EO, združenih z insekticidi. EO lahko nanašamo skoraj z vsemi komercialno dostopnimi talnimi ali zračnimi pršilnimi napravami, vključno s škropilnicami pod tlakom, pršilniki in elektrostatičnimi škropilnicami. Ta kombinacija ponuja nizko stroškovno alternativo in prihrani čas za varstvo pred škodljivimi žuželkami. Študija je pokazala, da sta vrsti *S. carpocapsae* in *S. kraussei* občutljivi na vse preučevane insekticide. *S. feltiae* je skladna z aktivnimi snovmi azadirahitin, toksinom bakterije *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in imidakloprid, medtem ko je vrsta *H. bacteriophora* občutljiva le na aktivni snovi abamektin in lufenuron. Ustrezna kombinacija EO in insekticida bi lahko bila uporabljena za izboljšanje varstva pred škodljivci. Ne nazadnje lahko ogorčice uporabimo za nadomestitev neučinkovitih kemičnih insekticidov. Pri uporabi EO ne poznamo pojava rezistence (odpornosti) žuželk na omenjene biotične agense, kar le povečuje pomen naše raziskave za uporabo EO in FFS v IVR (Laznik in Trdan, 2013).

6 POVZETEK

Pridelovalci živeža, okrasnih rastlin in krme uporablja jo za varstvo rastlin pred različnimi škodljivimi organizmi različna kemična sredstva, vendar pa pretiravanje z njihovo rabo lahko privede do pojava odpornosti (rezistence). Ogorčice imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin pred nekaterim FFS. EO se lahko uporablja tudi na vodovarstvenih območjih, imajo veliko gostiteljev med rastlinskimi škodljivci. Enostavno se razmnožujejo in so komercialno dostopne.

V naši raziskavi smo ugotavljali skladnost različnih vrst EO z različnimi insekticidnimi pripravki. Njihovo skladnost z insekticidi smo ocenjevali po 1, 6 in 24 urah po nastavitev poskusa, preživetje pa smo ugotavljali pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C). Insekticidne pripravke smo mešali v predpisanih odmerkah z vodo. Vsako obravnavanje smo ponovili 5-krat. Za kontrolno obravnavanje smo uporabili vodo.

Splošna analiza je pokazala, da je kompatibilnost po 6 in 24 urah statistično značilno odvisna od temperature (6, 24 ur: $p<0,0000$), rase ogorčic (6, 24 ur: $p<0,0000$), preučevanega insekticida (6, 24 ur: $p<0,0000$), interakcije med temperaturo in raso (6, 24 ur: $p<0,0000$), interakcije med temperaturo in preučevanim insekticidom (6, 24 ur: $p<0,0000$), interakcije med raso in preučevanim insekticidom (6, 24 ur: $p<0,0000$) ter interakcije med temperaturo, raso in preučevanim insekticidom (6, 24 ur: $p<0,0000$). Število preživelih IL je bilo po 6 urah pri 15 °C (82 %) in 20 °C (80 %) statistično značilno največje, medtem ko je bilo pri 25 °C (76 %) statistično značilno najmanjše. Po 24 urah med 15 °C (55 %) in 20 °C (55 %) ni bilo statistično značilnih razlik, medtem ko je pri 25 °C (59 %) preživelno statistično značilno največ IL. Izmed preučevanih insekticidov je po 6 urah statistično značilno najmanj IL preživelno v obravnavanjih z aktivnimi snovmi abamektin (Vertimec) (61 %), lufenuron (Match) (75 %) in toksinom bakterije *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Delfin) (76 %), medtem ko je bilo preživetje IL pri ostalih obravnavanjih večje od 80 %. Po 24 urah je bila smrtnost IL v poskusu večja. Izmed preučevanih insekticidov sta poleg kontrole (67 % IL) kompatibilnost izkazala le pripravka Neemazal (aktivna snov azadirachtin) (68 % preživelih IL) in Pirimor (aktivna snov pirimikarb) (63 % preživelih IL), medtem ko je bilo preživetje IL pri ostalih obravnavanjih manjše, najslabša pa pri pripravku Vertimec (aktivna snov abamektin) (42 %).

V našem poskusu smo ugotovili, da je EO *S. feltiae* B30 skladna z aktivnimi snovmi azadirachtin, toksinom bakterije *B. thuringiensis* var. *kurstaki* in aktivno snovjo pirimikarb. Pri aktivnih snoveh imidakloprid in lambda - cihalotrin je bila ugotovljena delna skladnost, vendar so bile vrednosti zanemarljive. *S. feltiae* BU je skladna z aktivnima snome lambda - cihalotrinom in pirimikarb. Ugotovili smo, da je rasa delno skladna tudi z aktivnimi snovmi lufenuronom in pimetrozin, vendar so vrednosti zanemarljive. *S. carpocapsae* C101 je delno skladna z abamektinom, vendar so vrednosti zanemarljive. Z ostalimi aktivnimi snovmi ni skladna. *S. carpocapsae* BU je skladna z večino aktivnih snovi, vendar se je to pokazalo le pri višjih temperaturah. *S. kraussei* BU ni skladna z

nobeno izmed aktivnih snovi, vrsta *Heterorhabditis bacteriophora* je skladna z večino preučevanih insekticidov.

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je mogoče EO uporabljati hkrati z nekaterimi insekticidnimi aktivnimi snovmi. Za učinkovitejše zatiranje določenih škodljivih organizmov bi lahko uporabili EO skupaj s FFS, saj bi tako zmajšali količino in število nanosov FFS na rastline, kar bi bilo časovno hitrejše in cenovno ugodnejše. Naši rezultati so bili pridobljeni v laboratorijskih razmerah, zato menim, da bi bilo potrebno raziskavo izvesti še na prostem, saj se moramo zavedati, da združljivost, ki smo jo ugotovili v laboratorijskih razmerah ni primerljiva na prostem.

7 VIRI

Abbott W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267

AgriEmporio. Neemazal – T/S. 2013.

<http://www.agriemporio.com/prodotti-specifici/48-20-04-005-neemazal-t-s-controafidi.html> (10.12.2013)

Alumai A., Grewal P. S. 2004. Tankmix – compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterohabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, 14: 725-730

Armag Cultivam Viitorul. Match 050 EC. 2013.

<http://armag.ro/insecticide/268-match-050-ec.html> (10.12.2013)

Bedding R. A., Akhurst R. J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110

Berry E. C., Lewis L. C. 1993. Interactions between nematodes and earthworms: Enhanced dispersal of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology*, 25:189-192

Boemare N.E., Akhurst R.J. 1988. Biochemical and physiological characterization of colony form variants in *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae). *Journal of Genetic Microbiology*, 134: 751-761.

De Nardo E. A. B., Grewal P. S. 2003. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with pesticides and plant growth regulators used in glasshouse plant production. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 441-448

Ebbsa L., Borgemeister C., Poehling H. M. 2004. Effectiveness of different species/strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) at various concentrations, host densities, and temperatures. *Biological Control*, 29: 145-154

Evrofarm SA. Pirimor 50 WEG.

<http://www.eurofarm.gr/index.php?id=2&productid=100&catid=80&subcatid=95&lang=gr> (10.12.2013)

Fischer-Le Saux M., Mauléon H., Constant P., Brunel B., Boemare N. E. 1999. PCR-ribotyping of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* isolates from the Caribbean region in relation to the taxonomy and geographic distribution of their nematode hosts. *Applied Environmental Microbiology*, 64: 4246-4254

Fito-Info: Slovenski informacijski sistem za zdravstveno varstvo rastlin. 2013.
<http://www.fito.info.si> (15.9.2013)

- Forst S, Clarke D. 2002. Bacteria-nematode symbiosis. Entomopathogenic nematology. New York, CABI: 57-77
- Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Paravarapu S. (ur). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14
- Gaugler R. 2002. Entomopathogenic nematology. New Jersey, CABI Publishing: 373 str.
- Gaugler R., Kaya, H. K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton, FL: CRC Press: 365 str.
- Gaugler R., Bednarek A., Campbell J. F. 1992. Ultraviolet inactivation of heterorhabditids and steiner nematids. Journal of Invertebrate Pathology, 59: 155-160
- Glaser R W., Fox H. 1930. A nematode parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newman). Science, 71: 16-17
- Glaser R. W., Farrell C. C. 1935. Field experiments with Japanese beetle and its nematode parasite. Journal of the New York Entomological Society, 43: 345-371
- Grewal P. S., Selvan S., Gaugler R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. Journal of Thermal Biology, 19: 245-253
- Hazir S., Kaya H. K., Stock S. P., Keskin N. 2004. Entomopathogenic nematodes (Steiner nematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Turkish Journal of Biology, 27: 181-202
- Head J., Walters K. F. A., Langton S. 2000. The compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, and chemical insecticides for the control of the South American leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. Biocontrol, 45: 345-353
- Helyer N. L., Brobyn P. J., Richardson P. N., Edmonson R. N. 1995. Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande) pupae in compost. Annals of Applied Biology, 127: 405-412
- Hominick W. M. 2002. Biogeography. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R (ur.) Wallingford, CABI: 115-143
- Ishibashi N., Choi D. R. 1991. Biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. Journal of Nematology, 23: 175-181
- Kaya H. K. 1990. Soil ecology. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida: 93-116
- Kaya H. K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hodde M.S. (ur.). Riverside: 38-46

Kaya H. K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology, 38: 181-206

Koppenhöfer A. M. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kaya H.K. (ur.). The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 283-301

Koppenhöfer A. M., Grewal P. S. 2005. Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. V: Grewal, P. S., Ehlers, R. U., Shapiro – Ilan, D. I., eds. Nematodes as biological control agents, Wallingford. CABI Publishing: 363-381

Koppenhöfer A. M., Kaya H. K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. Microbial-biopesticides, 15: 277-305

Lazník Ž., Trdan S., 2008. Entomopathogenic and entomoparasitic nematodes as biocontrol agents of trips. Acta phytopathologica et entomologica Hungarica 43, 2: 317-322

Lazník Ž., Trdan S. 2013. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. Pest Management Science, 69: 6 str. [v tisku]

Lazník Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2008. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. Acta Agriculturae Slovenica, 91: 351-359

Lazník Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. Helminthologia, 46, 2: 135-138

Lazník Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2010,. The activity of three new strains of *Steinernema feltiae* against adults of *Sitophilus oryzae* under laboratory conditions. Journal of Food, Agriculture and Environment, 8: 132-136

Lazník Ž., Žnidarčič D., Trdan S. 2011. Control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) adults on glasshouse-grown cucumbers in four different growth substrates: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiamethoxam. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35: 631-640

Lazník Ž., Vidrih M., Trdan S. 2012. Effect of different fungicides on viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* [Filipjev], *S. carpocapseae* (Weiser) and *Heterorhabdites downesi* Stock, Griffin & Brunell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. Chilean Journal of Agricultural Research, 72: 62-67

Lello E. R., Patel M. N., Mathews G. A., Wright D. J. 1996. Application technology for entomopathogenic nematodes against foliar pests. Crop Protection, 15: 567-574

Nguyen K. B. 2006. Entomopathogenic nematodes. Entomology and Nematology Department (31. jan. 2006) <http://kbn.ifas.ufl.edu/kbnstein.htm> (18.8.2013)

- Peters A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. Biocontrol Science and Technology, 6: 389-402
- Poinar G. O. 1988. Redescription of *Neoaplectana affinis* Bovien (Rhabditida: Steinernematidae). Review of Nematology, 11: 143-147
- Semilandia. Confidor 200 SL. 2013.
http://www.semilandia.it/product_info.php?products_id=1822 (10. 12.2013)
- Smart G. C. Jr. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. Journal of Nematology, 27: 529-534
- Smith K. 1999. Factors affecting efficacy. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ur.). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 37-46
- Smits P. 1996. Post – application persistence of entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Techology, 6: 379-387
- Soprochiba. Delfin WG. 2013.
<http://soprochiba.com/nosproduits.html> (10.12.2013)
- Stuart R. J., Gaugler R.. 1994. Patchiness in populations of entomopathogenic nematodes. Journal of Invertebrate Pathology, 64: 39-45
- Sturhan D. 1996. Seasonal occurrence, horizontal and vertical dispersal of entomopathogenic nematodes in a field. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, 317: 35-45
- Syngenta. Karate Zeon 5 CS. 2013.
http://www.syngenta.com/country/si/sl/Syngenta_programi/varstvo-rastlin/Proizvodi/Insekticidi/Pages/Karate_zeon_5_SC.aspx (10.12.2013)
- Trdan S., Vidrih M., Valič N., Lazník Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phylloptreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science, 58: 169-175
- Unichem. Chees 50 WG. 2013.
http://www.unichem.si/blagovne_znamke/vivera/varstvo_pred_skodljivci/izdelek?prid=172 (10.12.2013)
- Unichem. Vertimec 1,8 % EC. 2013.
http://www.unichem.si/blagovne_znamke/Vivera/varstvo_pred_skodljivci/izdelek?prid=184 (10.12.2013)

ZAHVALA

Zahvaljujem se izr. prof. dr. Stanislavu Trdanu za strokovno pomoč in napotke pri izdelavi magistrske naloge.

Posebno zahvalo namenjam doc. dr. Žigi Lazniku za pomoč pri izvedbi poskusa, usmerjanje pri pisanju magistrske naloge, njegovo potrpežljivost, napotke in ves čas, ki si ga je vzpel zame.

Zahvaljujem se tudi Meti Zakotnik za pomoč pri izvedbi poskusa.

Hvala vsem domačim, ki so verjeli vame, me spodbujali in mi stali ob strani tekom študija.