

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Marjetica URBANČIČ ZEMLJIČ

**ODPORNOST POPULACIJ KOLORADSKEGA
HROŠČA (*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera,
Chrysomelidae) V SLOVENIJI NA IZBRANE
INSEKTICIDE**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Marjetica URBANČIČ ZEMLJIČ

**ODPORNOST POPULACIJ KOLORADSKEGA HROŠČA
(*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae)
V SLOVENIJI NA IZBRANE INSEKTICIDE**

MAGISTRSKO DELO

**RESISTANCE OF COLORADO POTATO BEETLE
(*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae)
POPULATIONS IN SLOVENIA TO SELECTED INSECTIDES**

M. SC. THESIS

Ljubljana, 2014

Delo je zaključek magistrskega študijskega programa bioloških in biotehniških znanosti – področje agronomija in je bilo opravljeno na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Laboratorijske raziskave so bile opravljene v obdobju 2006 -2007 v laboratoriju Oddelka za varstvo rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete z dne 30. 1. 2012 je bilo potrjeno, da kandidatka izpolnjuje pogoje za magistrski Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje magisterija znanosti s področja agronomije. Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Stanislav Trdan.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: doc. dr. Darja Kocjan Ačko
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo

Član: prof. dr. Stanislav Trdan
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo

Član: doc. dr. Andrej Simončič
Kmetijski inštitut Slovenije

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega 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.

Marjetica URBANČIČ ZEMLJIČ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Md
 DK UDK 632.76:632.951(043.3)
 KG koloradski hrošč/*Leptinotarsa decemlineata*/ insekticidi/odpornost/klorpirifos/
 lambda-cihalotrin/imidakloprid/krompir
 AV URBANČIČ ZEMLJIČ, Marjetica, univ. dipl. inž. agronomije
 SA TRDAN, Stanislav (mentor)
 KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in
 biotehniških znanosti, področje agronomije
 LI 2014
 IN ODPORNOST POPULACIJ KOLORADSKEGA HROŠČA (*Leptinotarsa*
decemlineata [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) V SLOVENIJI NA IZBRANE
 INSEKTICIDE
 TD Magistrsko delo
 OP XI, 55, [3] str., 20 pregl., 8 sl., 78 vir.
 IJ sl
 JI sl/en
 AI Zatiranje koloradskega hrošča na krompirju s sintetičnimi insekticidi je še vedno
 najpomembnejši način zmanjševanja njegove škodljivosti. Škodljivec je v svetu na
 območjih z intenzivnim kmetovanjem razvil odpornost proti vsem skupinam
 sintetičnih insekticidov. V raziskavi, ki je potekala v letih 2007 in 2008, smo v
 laboratorijskih razmerah s standardno metodo IRAC št. 7 ugotavljali občutljivost
 različnih populacij koloradskega hrošča v Sloveniji (Gorenjska, Dolenjska, Bela
 krajina, Prekmurje, Posavje, okolica Ljubljane) na insekticide lambda-cihalotrin
 (piretroid), klorpirifos (organski fosforjev ester) in imidakloprid (neonikotinoid). V
 raziskavo smo vključili škodljivce z različnih pridelovalnih območij Slovenije v
 razvojnih stadijih mladih ličink (L1/L2), starejših ličink (L3/L4) in odraslih
 osebkov (hroščev). Žuželke smo izpostavili desetim koncentracijam insekticidov -
 od 0 % (kontrola) do 800 % priporočenega odmerka. Po 48 urah smo prešteli mrtve
 in žive osebkove. Izračunali smo smrtnost žuželk po Abbottu (%) za vse koncentracije
 preučevanih insekticidov. Podatke o smrtnosti smo statistično ovrednotili s probit
 analizo in izračunali letalne koncentracije LC₅₀ in LC₉₅ (ppm). Izračunane letalne
 koncentracije LC₉₅ smo primerjali s priporočenimi koncentracijami insekticidov in
 izračunali koeficiente odpornosti. V raziskavi smo potrdili vse tri raziskovalne
 hipoteze. Pri vseh populacijah in razvojnih stadijih koloradskega hrošča smo
 ugotovili odpornost žuželk na insekticid lambda-cihalotrin. Mlade ličinke so
 izkazale visoko stopnjo odpornosti, starejše ličinke srednjo stopnjo odpornosti,
 odrasli hrošči pa visoko do zelo visoko stopnjo odpornosti. Tudi pri insekticidu
 klorpirifos je bila izražena določena stopnja odpornosti. Pri populaciji mladih ličink
 je bila izražena nizka do srednja stopnja odpornosti, pri starejših ličinkah pa visoka
 stopnja odpornosti. Nasprotno pa smo pri insekticidu imidakloprid ugotovili
 odlično delovanje in visoko stopnjo strupenosti za vse populacije in razvojne stadije
 koloradskega hrošča.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Md
 DC UDK 632.76:632.951(043.3)
 CX Colorado potato beetle/*Lepinotarsa decemlineata*/insecticides/resistance
 Chlorpyrifos/ Lambda-cyhalothrin/Imidacloprid/potatoes
 AU URBANČIČ ZEMLJIČ, Marjetica
 AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
 PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
 PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate Study of Biological and
 Biotechnical Sciences, Field: Agronomy
 PY 2014
 TI RESISTANCE OF COLORADO POTATO BEETLE (*Leptinotarsa decemlineata*
 [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) POPULATIONS IN SLOVENIA TO
 SELECTED INSECTIDES
 DT M. Sc. Thesis
 NO XI, 55, [3] p., 20 tab., 8 fig., 78 ref.
 LA sl
 AI sl/en
 AB Control of Colorado potato beetle (CPB) in potato using synthetic insecticides is
 still the most important way of diminishing their harmfulness. In the regions with
 intensive agriculture the pest became resistant against all groups of synthetic
 insecticides. During the years 2007 and 2008 the sensitivity of Slovenian CPB
 populations (regions of Gorenjska, Dolenjska, Bela krajina, Prekmurje, Posavje,
 Ljubljana) to lambda-cyhalothrin (pyrethroid), chlorpyrifos (organophosphate) and
 imidacloprid (neonicotinoid) was investigated under laboratory conditions using
 standard IRAC method no. 7. The populations of young larvae (L1/L2), old larvae
 (L3/L4) and CPB adults from different regions of Slovenia were included in
 experiment. Insects were exposed to ten concentrations of each insecticide: 0 %
 (control) to 800 % of recommended dose. After 48 hours live and dead insects were
 counted. For each concentration the mortality of insects was calculated (%) using
 Abbott's formula. Lethal concentrations LC₅₀ and LC₉₅ (in ppm) were calculated
 using the computer program based on probit analysis method. The LC₉₅ and
 recommended concentrations of three insecticides were compared and resistance
 coefficients (RC) were calculated. The resistance to lambda-cyhalothrin for all
 populations and stages of CPB was conformed. Young larvae revealed high
 resistance, old larvae medium resistance and CPB adults very high resistance.
 There was conformed some resistance for chlorpyrifos too. Young larvae revealed
 low to medium resistance and old larvae high resistance. On the contrary, the
 insecticide imidacloprid showed excellent activity and high level of toxicity for all
 CPB populations and developmental stages. So all three research hypothesis were
 confirmed.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA DELO	1
1.2 CILJI RAZISKAVE IN DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KOLORADSKI HROŠČ	3
2.1.1 Opis žuželke	3
2.1.1.1 Odrasli osebek	3
2.1.1.2 Jajčeca	3
2.1.1.3 Ličinke	3
2.1.1.4 Buba	3
2.1.2 Razvojni krog	4
2.1.3 Izvor in razširjenost koloradskega hrošča	7
2.1.4 Gostiteljske rastline	7
2.1.5 Zatiranje koloradskega hrošča	7
2.1.5.1 Zgodovina zatiranja	7
2.1.5.2 Gojitveno tehnološki ukrepi	8
2.1.5.3 Fizikalni ukrepi	8
2.1.5.4 Biotično varstvo	9
2.1.5.5 Kemično zatiranje	10
2.2 INSEKTICIDI	11
2.2.1 Zgodovina razvoja insekticidov	11
2.2.2 Mehanizmi delovanja insekticidov	12
2.2.2.1 Delovanje na natrijeve kanalčke	12
2.2.2.2 Oviranje delovanja acetilholin-esteraze	12
2.2.2.3 Delovanje na receptor acetil holina	13
2.2.2.4 Delovanje na receptor gama-aminobutrične kisline	13
2.2.2.5 Drugi načini delovanja	13

2.2.3	Delitev ali klasifikacija insekticidov	13
2.2.3.1	Karbamati	14
2.2.3.2	Organski fosforjevi estri	14
2.2.3.3	Piretroidi	14
2.2.3.4	Neonikotinoidi	15
2.2.3.5	Spinosini	15
2.3	ODPORNOST (REZISTENCA) NA FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA	18
2.3.1	Zgodovina razvoja odpornosti na insekticide	18
2.3.2	Glavni mehanizmi odpornosti žuželk in drugih nevretenčarjev na insekticide	20
2.3.3	Odpornost in koloradski hrošč	22
2.3.3.1	Mehanizmi odpornosti pri koloradskem hrošču	23
2.4	PREPREČEVANJE ODPORNOSTI	24
3	MATERIAL IN METODE	25
3.1	MATERIAL	25
3.1.1	Insekticidi	25
3.1.1.1	Koncentracije insekticidov	25
3.1.2	Populacije koloradskega hrošča uporabljene v raziskavi	26
3.2	METODE	28
3.2.1	Predstavitev metode IRAC št. 7	28
3.2.2	Potek poskusov	29
3.3	VREDNOTENJE PODATKOV	30
3.3.1	Probit analiza	30
3.3.1.1	Obdelava podatkov	32
3.3.1.2	Koeficient odpornosti	32
4	REZULTATI	33
4.1	OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA KLORPIRIFOS	33
4.1.1	Mlade ličinke (L1/L2)	33
4.1.2	Starejše ličinke (L3/L4)	34
4.1.3	Odrasli hrošči	35
4.2	OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA LAMBDA-CIHALOTRIN	37
4.2.1	Mlade ličinke (L1/L2)	37
4.2.2	Starejše ličinke (L3/L4)	38
4.2.3	Odrasli hrošči	40
4.3	OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA IMIDAKLOPRID	41
4.3.1	Mlade ličinke (L1/L2)	41
4.3.2	Starejše ličinke (L3/L4)	42

4.3.3	Odrasli hrošči	42
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	44
6	POVZETEK (SUMMARY)	46
6.1	POVZETEK	46
6.2	SUMMARY	47
7	VIRI	49
	ZAHVALA	
	PRILOGA	

KAZALO PREGLEDNIC

	Str.
Preglednica 1: Insekticidi za zatiranje koloradskega hrošča registrirani v Sloveniji, trgovsko ime, aktivna snov, kemijska skupina in klasifikacijska skupina glede na način delovanja po IRAC (FITO-INFO, 2014)	10
Preglednica 2: IRAC klasifikacija insekticidov registriranih v Sloveniji (IRAC: MoA ..., 2014; FITO-INFO, 2014)	16
Preglednica 3: Koncentracije insekticidov uporabljene v raziskavi	25
Preglednica 4: Razvojne stopnje koloradskega hrošča po lokacijah in uporabljeni insekticidi v raziskavi	26
Preglednica 5: Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos) (v %)	33
Preglednica 6: Občutljivost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) na insekticid klorpirifos, izražena z vrednostmi LC ₅₀ in LC ₉₅	34
Preglednica 7: Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos), izražena v %	34
Preglednica 8: Občutljivost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) na insekticid klorpirifos, izražena z vrednostmi LC ₅₀ in LC ₉₅	35
Preglednica 9: Smrtnost odraslih hroščev koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos), izražena v %	36
Preglednica 10: Koeficient (KO) in klasifikacija odpornosti populacij ličink koloradskega hrošča na insekticid klorpirifos	36
Preglednica 11: Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon (lambda-cihalotrin), izražena v %	37
Preglednica 12: Občutljivost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC ₅₀ in LC ₉₅	37

Preglednica 13:	Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon (lambda-cihalotrin), izražena v %	38
Preglednica 14:	Občutljivost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC ₅₀ in LC ₉₅	39
Preglednica 15:	Smrtnost odraslih osebkov koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon (lambda-cihalotrin), izražena v %	40
Preglednica 16:	Občutljivost odraslih osebkov koloradskega hrošča na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC ₅₀ in LC ₉₅	40
Preglednica 17:	Koeficient (KO) in klasifikacija odpornosti populacij koloradskega hrošča na insekticid lambda-cihalotrin	41
Preglednica 18:	Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidaklopid), izražena v %	41
Preglednica 19:	Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidaklopid), izražena v %	42
Preglednica 20:	Smrtnost odraslih osebkov koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidaklopid), izražena v %	42

KAZALO SLIK

	Str.
Slika 1: Odrasel osebek koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say]) (Foto: M. Urbančič Zemljič)	5
Slika 2: Mlade ličinke (L1/L2) koloradskega hrošča pri hranjenju na listih krompirja (Foto: M. Urbančič Zemljič)	6
Slika 3: Starejša ličinka (L3) koloradskega hrošča obžira list krompirja (Foto: M. Urbančič Zemljič)	6
Slika 4: Razvoj odpornosti na insekticide pri žuželkah od leta 1908 do 2010 (vrste, snovi in skupno število primerov) (IRAC: Resistance management, 2011)	19
Slika 5: Število primerov odpornosti po skupinah glede na način delovanja insekticidov (Arthropode pesticide resistance database, 2011)	19
Slika 6: Njiva s krompirjem v Beltincih v Prekmurju (Foto: M. Urbančič Zemljič)	27
Slika 7: Lokacije, na katerih smo v letih 2006 in 2007 nabrali populacije koloradskega hrošča za laboratorijske raziskave	27
Slika 8: Petrijeve posode z listi krompirja, pripravljene za poskus (Foto: M. Urbančič Zemljič)	30

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

a.s.	aktivna snov
FFS	fitofarmaceutvska sredstva
IRAC	Insecticide Resistance Action Committee
LC ₅₀	Lethal concentration 50%
LC ₉₅	Lethal concentration 95 %

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Že tisočletja si človek prizadeva obvarovati kmetijske rastline pred različnimi škodljivci, boleznimi in pleveli (Fishel, 2009). Z odkritjem sredstev za varstvo rastlin je postalo zatiranje škodljivih organizmov enostavno, učinkovito in razmeroma poceni in je omogočilo hiter razvoj kmetijstva. Vendar je začetnemu optimizmu v kasnejših desetletjih sledila streznitev. Prej učinkoviti pripravki so postajali nezanesljivi, za doseganje enake učinkovitosti so bili potrebni vedno večji odmerki, škodljivci so postajali na pripravke odporni (Forgash, 1984; Bellinger, 1996).

Odpornost ali rezistenca je definirana kot zmanjšanje občutljivosti populacije škodljivcev, povzročiteljev bolezni ali plevelov na fitofarmacevtska sredstva (FFS) (Forgash, 1984). Pri zatiranju bolezni ali škodljivcev z neko aktivno snovjo se zgodi, da preživijo posamezni osebki. Če pri poznejših zatiranjih uporabljamo isto snov ali snov z enakim načinom delovanja, se delež odpornih organizmov v populaciji množi, medtem ko občutljivi del izginja. Sčasoma se tako izselekcioniira populacija, ki je na omenjene snovi v celoti neobčutljiva (Forgash, 1984; Karagac, 2012). Pojav odpornosti na FFS je postal resen problem v varstvu rastlin. Študije kažejo, da je odpornost na FFS razvilo že več kot 500 vrst žuželk in pršic, več kot 270 vrst plevelov in več kot 150 rastlinskih patogenov (Bellinger, 1996). Posamezni škodljivi organizmi so postali odporni celo na več različnih aktivnih snovi, z različnimi načini delovanja. Vsaj 17 vrst žuželk je razvilo odpornost na vse glavne skupine insekticidov (Bellinger, 1996). Ker so FFS večinoma še vedno osrednji del programov varstva rastlin pred škodljivimi organizmi, se z razvojem odpornosti zelo zmanjšujejo možnosti za zadrževanje njihovih populacij pod pragom škodljivosti. Še dodatno pa se iz leta v leto zmanjšuje število razpoložljivih FFS tudi zaradi njihove potencialne nevarnosti za zdravje ljudi in živali. Posledica takega stanja so izgube pridelkov ali njihova slabša kakovost ter večji stroški pridelave.

V zadnjih desetletjih je bilo v Sloveniji malo raziskav na tem področju, čeprav se v praksi opaža slabše delovanje nekaterih skupin FFS na določene škodljive organizme. Seveda vsakega neustreznega delovanja FFS ne moremo pripisati odpornosti. Pogost dejavnik, ki vpliva na slabo delovanje FFS je njihova neustrezna raba, to je slaba aplikacija, neustrezna izbira časa zatiranja ali napačna določitev bolezni, škodljivca ali plevela. Odgovor na slabše delovanje pa je raba višjih odmerkov FFS, pogostejša škropljenja oz. večje število škropljenj, kar predstavlja problem pri pridelavi zdravega živeža.

Koloradski hrošč je še vedno najpomembnejši škodljivec krompirja, katerega pridelave si brez kemičnega varstva ne moremo zamisliti. Škodljivec je v svetu razvil odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov (Alyokhin in sod., 2008). Ker je pojav odpornosti škodljivih organizmov na FFS čedalje večji problem v varstvu rastlin, smo se odločili raziskati, kako je z odpornostjo koloradskega hrošča na insekticide pri nas.

1.2 CILJI RAZISKAVE IN DELOVNA HIPOTEZA

Z raziskavo smo želeli ugotoviti obstoj odpornih populacij koloradskega hrošča na insekticide klorpirifos iz skupine organskih fosforjevih estrov, lambda-cihalotrin iz skupine sintetičnih piretroitov ter imidakloprid iz skupine neonikotinoidov. Prav tako smo želeli ugotoviti stopnjo odpornosti oziroma morebitne razlike med populacijami škodljivca glede občutljivosti na insekticide, ki se kaže prek koncentracije insekticida, s katero lahko dosežemo 50-odstotno oz. 95-odstotno smrtnost žuželk. Ker je učinkovitost insekticida v veliki meri odvisna tudi od razvojne stopnje škodljivca, v kateri ga zatiramo, smo želeli raziskati tudi razlike v omenjenih mejnih vrednostih (LC_{50} in LC_{95}) med mladimi ličinkami (L1/L2), starejšimi ličinkami (L3/L4) ter odraslimi hrošči.

Z raziskavo smo želeli prispevati k boljšemu poznavanju vzrokov za pojave nezadovoljivega delovanja insekticidov, tako pri zatiranju koloradskega hrošča kot tudi pri drugih škodljivih organizmih ter prispevati k bolj strokovnemu pristopu pri reševanju omenjene problematike, tudi v smislu oblikovanja ustrezne protirezistenčne strategije varstva najpomembnejših gojenih rastlin pri nas.

V pričujoči nalogi smo postavili naslednje hipoteze:

- da bomo pri populacijah koloradskega hrošča iz različnih območij Slovenije ugotovili odpornost na katerega od izbranih insekticidov,
- da bomo ugotovili značilne razlike med izbranimi insekticidi v stopnji odpornosti,
- da bo imela izbira lokacije, vrsta in koncentracija aktivne snovi ter razvojni stadij koloradskega hrošča signifikanten vpliv na smrtnost koloradskega hrošča.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KOLORADSKI HROŠČ

Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) spada v družino Chrysomelidae (lepenjci), podred Polyphaga in red Coleoptera (hrošči). Velja za enega najpomembnejših škodljivcev krompirja. Objeda krompirjevo zelenje, predvsem listje in tako posledično vpliva na zmanjšanje pridelka gomoljev. Povzroči lahko veliko gospodarsko škodo, v kolikor ga ustrezno ne zatiramo.

2.1.1 Opis žuželke

2.1.1.1 Odrasli osebek

Odrasel hrošč (slika 1) je dolg približno 1 cm, je jajčaste oblike, na hrbtu je izbočen in na trebušni strani sploščen. Pokrovki sta svetlo rumeni s po petimi vzdolžnimi črnimi progami. Na oranžnorumenem vratnem ščitu je od 7 do 12 črnih peg, srednja, največja, ima obliko črke V. Po trebuhu je oranžnordeč (Janežič, 1951; Vrabl, 1992).

2.1.1.2 Jajčeca

Jajčeca so oranžnorumena, podolgovata in dolga približno 1,2 mm. Samice jih izlegajo v legla, na spodnjo stran listov krompirja. V enem leglu je lahko od 50 do 100 jajčec, bolj običajno pa 20 do 60 (Hare, 1990). Jajčeca so pokončno postavljena in zložena tesno drug ob drugem. Razvoj jajčec je odvisno od temperature in traja od 4 do 9 dni (Boiteau in Le Blanc, 1992).

2.1.1.3 Ličinke

Ličinke (sliki 2 in 3) so najprej temno rdeče do oranžne, pozneje postanejo svetlejše oranžne barve. Glava je majhna in črna. Za glavo je nad prvim parom nog sklerotizirana struktura: ovratnica ali pronotum. Ta je pri ličinkah prvega in drugega larvalnega stadija črna, pri ličinkah tretjega stadija postane sprednji rob oranžnorjav, v četrtem stadiju pa je svetlo rjava celotna sprednja polovica ovratnice (Boiteau in Le Blanc, 1992). Trije pari nog so črni, enako tudi dve vrsti bradavičastih peg ob straneh trupa. Imajo mehko odebeljeno telo in izbočen zadek. Ličinke prve in druge razvojne stopnje so dolge do 4 mm, ličinke tretje in četrte stopnje pa od 4 do 15 mm (Vrabl, 1992; Maceljki, 1999). Larvalne stopnje lahko natančneje določimo z merjenjem premera kapsule glave. Razvoj ličink poteka najhitreje pri temperaturah med 25 in 33 °C.

2.1.1.4 Buba

Buba je rdečkasta, približno 1 cm velika, najdemo jo v tleh na globini od 3 do 30 cm (Janežič, 1951; Vrabl, 1992).

2.1.2 Razvojni krog

Odrasli hrošči prezimujejo v tleh, večinoma na globini okoli 10 cm, lahko pa tudi do 70 cm globoko (Janežič, 1951). V začetku maja, ko srednja dnevna temperatura naraste na približno 14 °C, prilezejo na površje. Poiščejo mlade krompirjeve nasade, kjer se dopolnilno hranijo z objedanjem listov. Po 5-ih do 10-ih dneh začnejo samice odlagati jajčeca na spodnjo stran krompirjevih listov, izjemoma jih odlagajo tudi na liste plevelov. Hrošči se večkrat pariyo, samice se lahko pariyo pred in/ali po diapavzi (Hare, 1990). Samica odloži jajčeca v več jajčnih legel, odlaganje se raztegne na približno en mesec. Ena samica odloži skupaj od 300 do 800 jajčec (Harcourt, 1971, cit. po Alyokhin, 2008), v laboratorijskih razmerah je ena samica odložila skupaj več kot 4000 jajčec (Hare, 1990). Po 5-ih do 12-ih dneh, kolikor traja razvoj jajčec, se začnejo izlegati ličinke. Pri nas se prve ličinke izležejo ob koncu maja ali v začetku junija, najbolj množično pa se pojavljajo od sredine do konca junija. Ličinke v enem jajčnem leglu se sočasno izležejo in se začnejo takoj prehranjevati. Med razvojem, ki traja od 14 do 22 dni, odvisno od temperature, preidejo ličinke štiri razvojne stopnje. Razvoj prve stopnje traja od 3 do 4 dni, druge od 3 do 7 dni, tretje od 4 do 8 dni in četrte od 5 do 11 dni (Maceljski, 1999). Skupna površina listja, ki ga ena ličinka poje v času svojega razvoja naj bi bila približno 40 cm² (Ferro in sod. 1985). S starostjo »požrešnost« ličink narašča. Ličinke prve razvojne stopnje (L1) pojedjo približno 3 % skupne listne površine, druge razvojne stopnje (L2) 5 %, tretje (L3) 15 % in četrte (L4) pa kar 77 % od skupne površine (Hare, 1990).

Ko se ličinke L4 nehajo prehranjevati, se zarijejo v tla, kjer obmirujejo in se zabubijo. Približno 10 dni po tem, ko se ličinke nehajo prehranjevati, prilezejo na površje odrasli hrošči, ki takoj poiščejo gostitelja in začnejo jesti. Pri nas se hrošči poletnega rodu pojavljajo navadno od sredine julija do konca avgusta. Samice odlagajo jajčeca in v avgustu se razvije še drugi rod ličink, hrošči pa se pojavijo spet septembra. Po njivah in vrtovih iščejo hrano, objedajo gomolje krompirja, ki so ostali, nato gredo prezimovat v tla (Vrabl, 1992).

Dolžina diapavze je pri koloradskem hrošču različna in je odvisna od več dejavnikov. Najpomembnejši dejavnik, ki sproži prehod v diapavzo, je fotoperioda (Hare, 1990, Alyokhin in sod., 2012). Vendar pa lahko temperatura in prehrana spreminjata vpliv fotoperiode. Koloradski hrošč je žuželka »dolgega dne« in preide v diapavzo potem, ko je izpostavljen dovolj kratkemu dnevu (Hare, 1990). Kritična dolžina dneva za prehod v diapavzo variira med populacijami iz različnih geografskih širin. Za populacije nad 45 stopinjami severne geografske širine je kritična dolžina dneva približno 16 ur (Hare, 1990). V raziskavah so dokazali, da visoke temperature in boljša kakovost prehrane znižujejo občutljivost hroščev na dolžino dneva. Hrošči, ki so bili hranjeni z mladimi kromprjevimi listi so kasneje prehajali v diapavzo v primerjavi s tistimi, hranjenimi s starimi listi (Hare, 1990). Vpliv temperature in prehrane se lahko kaže v razlikah glede razvoja hroščev znotraj ene generacije. Odrasli hrošči, ki se razvijejo v obdobju visokih temperatur in dolgega dne iz jajčec, ki so bila spomladi prva odložena, razvijejo še drugo generacijo hroščev, ki bo v jeseni prešla v diapavzo. Hrošči iz kasneje odloženih jajčec se lahko

izležejo že v obdobju nižjih temperatur in krajšega dne, to je v razmerah, ki spodbujajo prehod v diapavzo. Ti lahko preidejo v diapavzo takoj po izleganju ali ko odložijo nekaj jajčec (Tauber in sod.,1988; Voss in sod., 1988, cit po Hare, 1990). Nekateri raziskovalci poročajo, da lahko hrošči ostanejo v zimski diapavzi tudi dve leti in več. Poleg zimske diapavze poznamo pri koloradskem hrošču tudi poletno diapavzo ali estivacijo. Ta je bolj pogosta v aridnih območjih, čeprav se dogaja tudi drugod. V fiziološkem smislu gre za pojav, podoben zimski diapavzi, le da je navadno bolj kratkotrajen. Gre za način prilagoditve hroščev na preveliko vročino in izsušitev (Alyokhin in sod., 2012).



Slika 1: Odrasel osebek koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) (Foto: M. Urbančič Zemljič)
Figure 1: Colorado potato beetle adult (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) (Foto: M. Urbančič Zemljič)



Slika 2: Mlade ličinke (L1/L2) koloradskega hrošča pri hranjenju na listih krompirja (Foto: M. Urbančič Zemljič)

Figure 2: Young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) feed on the potato leaves (Foto: M. Urbančič Zemljič)



Slika 3: Starejša ličinka (L3) koloradskega hrošča obžira list krompirja (Foto: M. Urbančič Zemljič)

Figure 3: Old larva of Colorado potato beetle (L3) eating the potato leaf (Foto: M. Urbančič Zemljič)

2.1.3 Izvor in razširjenost koloradskega hrošča

Koloradskega hrošča je leta 1824 prvi opisal ameriški entomolog Thomas Say. Prvotna domovina hrošča je bila najverjetneje Mehika, gostitelji pa samonikle vrste iz rodu *Solanum* (*S. rostratum*, *S. cornutum*). Hrošč prvotno ni bil gospodarsko škodljiv. Ni povsem jasno, kdaj se je razširil na območje ZDA. Obstaja podatek, da so ga našli na samoniklih rastlinah, ki so prav tako prišle iz Mehike, ob mejni črti med Iowo in Nebrasko v letih 1811 in 1819-1820 (Casagrande, 1987). Hrošč je v stik s pravim krompirjem (*Solanum tuberosum* L.) najverjetneje prišel že pred letom 1820, vendar je bil prvič omenjen kot njegov škodljivec šele leta 1859. V tem času so krompir pridelovali že na velikih površinah, predvsem na vzhodu ZDA. Populacija koloradskega hrošča, ki ji je nov gostitelj izjemno ustrezal, se je z veliko hitrostjo širila proti vzhodu in leta 1874 dosegla obale Atlantskega oceana (Casagrande, 1987). Hrošča so z ladjami večkrat zanesli v Evropo, prvič že leta 1876, ko so ga opazili v okolici nemške luke Bremen. Vendar do njegove prerazmnožitve ni prišlo vse do leta 1922, ko so ga v deželi Bordeaux v Franciji odkrili že v takem obsegu, da njegovega širjenja ni bilo več mogoče omejiti (Casagrande, 1987). V naslednjih desetletjih se je širil naprej po Evropi. Na območju Slovenije so ga prvič našli leta 1946 na Krškem polju, kamor je bil najverjetneje zanesen že leta 1944 s pošiljkami krompirja iz Nemčije (Janežič, 1951). Danes je koloradski hrošč razširjen po vsej Evropi, razen na Britanskem otočju in v delu Skandinavije. Proti vzhodu se je razširil na območje Male Azije, Irana, osrednje Azije do vzhodne Kitajske, še naprej pa se širi proti jugu in vzhodu (Casagrande, 1987; Alyokhin in sod., 2008; EPPO, 2014).

2.1.4 Gostiteljske rastline

Koloradski hrošč ima razmeroma ozek krog gostiteljev, ki ga sestavlja približno 20 vrst rastlin iz družine Solanaceae (razhudnikovke) (Hare, 1990). Večinoma gre za vrste iz rodu *Solanum*, ter posamezne vrste iz drugih rodov razhudnikovk. Daleč najpomembnejši gostitelj je navadni krompir (*Solanum tuberosum*). Poleg krompirja iz tega rodu koloradski hrošč občasno naseljuje še pasje zelišče (*S. nigrum*), grenkoslad (*S. dulcamara*) in jajčevac (*S. melongena*), v Ameriki pa tudi prvotni gostiteljski vrsti (*S. rostratum* in *S. augustifolium*) ter še nekatere divje vrste. Iz drugih rodov so gostitelji koloradskega hrošča še paradižnik (*Lycopersicon esculentum*), črni zobnik (*Hyoscyamus niger*), tobak (*Nicotiana tabacum*) in volčja češnja (*Atropa belladonna*) (Hare, 1990; Vrabl, 1992).

2.1.5 Zatiranje koloradskega hrošča

2.1.5.1 Zgodovina zatiranja

V prvih letih pojavljanja koloradskega hrošča na krompirju v ZDA so se tamkajšnji kmetje z novim škodljivcem spoprijemali pretežno tako, da so hrošče ročno pobirali ali pa izvajali druge ukrepe, kot je sajenje za hrošča manj »okusnih« sort, izolacija zemljišč, kolobarjenje, varovanje naravnih sovražnikov idr. (Casagrande, 1987). Vendar so škode kljub temu postajale vse večje. Že leta 1864 so začeli tudi z iskanjem in preizkušanjem

različnih kemikalij, s katerimi bi bilo mogoče zatirati škodljivca (Gauthier in sod., 1981; cit. po Casagrande, 1987). Vendar ni bilo pravih uspehov vse dokler niso okoli leta 1870 odkrili insekticidnega delovanja barve za pleskanje okenskih polken »Paris green« (bakrov acetoarzenit). Ugotovili so, da sredstvo odlično zatira koloradskega hrošča, zato se je hitro uveljavilo med pridelovalci krompirja. V poznejših letih so bakrov arzenit zamenjale še nekatere druge arzenove spojine, zlasti svinčev in kalcijev arzenat, ki so jih uporabljali vse do štiridesetih let 20. stoletja. V tem času je bilo že znano tudi odlično insekticidno delovanje dikloro-difenil-trikloroetana (DDT). Leta 1939 so sredstvo prvič preizkusili tudi proti koloradskemu hrošču (Gauthier in sod., 1981, cit. po Alyokhin, 2009) in kmalu so ga množično uporabljali za zatiranje tega škodljivca, tako v Ameriki kot v Evropi. DDT-ju so v naslednjih letih sledili še drugi sintetični insekticidi - ciklodieni, organski fosforjevi estri, karbamati in drugi.

Poleg sintetičnih snovi so proti hrošču preizkušali tudi različne rastlinske pripravke. Eden takšnih je npr. piretrin, pridobljen iz rastline z imenom bolhač (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) ali azadirahin, ekstrakt iz semen tropskega drevesa neem (*Azadirachta indica* [A. Juss.]), ki zavira razvoj žuželk. Do danes je bilo za zatiranje tega škodljivca preskušanih na stotine snovi in prav koloradski hrošč je v veliki meri zaslužen za razvoj moderne industrije insekticidov (Gauthier in sod., 1981, cit. po Alyokhin, 2009).

Na območju nekdanje Jugoslavije so z zatiranjem škodljivca začeli takoj v prvih letih pojavljanja. Že leta 1946 je bila v Sloveniji organizirana »pregledovalna služba«, ki je na območju celotnega ozemlja takratne republike opravljala preglede njiv s krompirjem, še posebno intenzivno pa na območju Krškega, kjer se je hrošč najprej pojavil. V primeru odkritja škodljivca so lastniki zemljišč in šolska mladina organizirano ročno pobirali hrošče in ličinke. Poleg tega pa so že leta 1946 vse njive s krompirjem na Krškem polju škropili s svinčevim arzenatom in skupaj porabili 14.000 kg pripravka v prahu (Kovačevič, 1947).

2.1.5.2 Gojitveno tehnološki ukrepi

Eden izmed osnovnih in najbolj enostavnih gojitvenih ukrepov, ki pripomore k zmanjšanju škod zaradi škodljivcev, je kolobar (Wright, 1984; Roush in sod., 1990). V borbi proti koloradskemu hrošču so ga priporočali že ob koncu 19. stoletja (Alyokhin, 2009). Zaradi kolobarja hrošči spomladi kasneje naselijo mlade nasade krompirja. Vendar pa mora biti zaradi velike mobilnosti koloradskega hrošča njiva oddaljena od lanske vsaj 0,3 do 0,9 km (Alyokhin, 2009).

2.1.5.3 Fizikalni ukrepi

Fizikalni načini zatiranja škodljivcev vključujejo različne ukrepe predvsem za preprečevanje ali omejevanje njihovega dostopa do gojenih rastlin ter ukrepe za lovljenje in uničevanje škodljivih organizmov (Urek in sod., 2013). Najenostavnejši način je ročno pobiranje jajčec, ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča, vendar je proces zamuden

in zato primeren samo za manjše površine. V ekološki pridelavi krompirja v zadnjih letih preizkušajo in uporabljajo posebna sesala, s katerimi ličinke in odrasle osebkje posesajo z rastlin.

Med fizikane ukrepe sodi tudi uporaba zastirk. Spremljali so vpliv zastiranja tal pod krompirjem na naseljenost rastlin s koloradskim hroščem in pojave škod. Ugotovili so, da zastirka lahko poveča čas, ki je potreben, da hrošči najdejo krompir ter poveča delež jajčec in ličink, ki jih uničijo predatorji (Ng in Lashomb, 1987, cit. po Alyokhin, 2009). Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Zehnder in Hough-Goldstein (1990). Ugotovila sta, da je bila na parcelah s 6 do 10 cm pšenične slame defoliacija krompirja zaradi koloradskega hrošča 2,5 do 5 krat manjša, v primerjavi s parcelami brez slame. Zastiranje tal je torej lahko učinkovit ukrep, uporaben na manjših njivah in vrtovih.

2.1.5.4 Biotično varstvo

Biotično varstvo je uporaba ene vrste ali skupine organizmov za zmanjševanje gostote populacije drugih organizmov (Milevoj, 2011). V biotičnem varstvu se uporabljajo živi koristni organizmi (plenilci, parazitoidi, entomopatogene ogorčice, entomopatogene glive, protozoe, bakulovirusi) za obvladovanje škodljivih organizmov (Milevoj, 1997).

Koloradski hrošč ima razmeroma malo naravnih sovražnikov in nobenega, s katerim bi lahko izvajali učinkovito biotično varstvo (Hare, 1990). Vendar je bilo doslej izvedenih veliko raziskav, v katerih so iskali potencialne naravne sovražnike tega škodljivca. Hough-Goldstein in McPherson (1996, cit po Alyokhin 2009) sta poročala, da je spuščanje plenilskih stenic *Perillus bioculatus* in *Podisus maculiventris* v poskusu zmanjšalo defoliacijo krompirja zaradi koloradskega hrošča za 86 % v primerjavi s kontrolo. Plenilska polonica *Coleomegilla maculata* je s plenjenjem jajčec in mladih ličink zmanjšala številčnost predstavnikov prvega rodu za 38,2 % (Hazzard in sod., 1991, cit. po Alyokhin, 2009). Weber in sod. (2006) so ugotovili, da talni hrošč *Lebia grandis* (Carabidae) v stadiju odrasle žuželke pleni jajčeca in ličinke koloradskega hrošča, v stadiju ličinke pa se hrani z bubami in predbubami. Poročajo tudi o parazitoidni osici *Edovum puttleri* iz Južne Amerike, ki je parazitirala jajčeca koloradskega hrošča v nasadu jajčevcev in povzročila povprečno smrtnost 67 do 79 % jajčec na leglo, ter o parazitoidnih muhah, pajkih in nekaterih drugih vrstah žuželk, ki plenijo ali parazitirajo koloradskega hrošča v različnih razvojnih stadijih (Alyokhin, 2009).

V svetu in pri nas je bilo doslej izvedenih veliko raziskav s področja ugotavljanja učinkovitosti entomopatogenih ogorčic pri zatiranju koloradskega hrošča. Preučevali so predvsem entomopatogene ogorčice iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* (Trdan in sod., 2009; Laznik in sod., 2010). V laboratorijskih poskusih je bila dosežena različna učinkovitost, odvisno predvsem od vrste in rase ogorčic, od temperature, razvojnega stadija in stopnje koloradskega hrošča in števila spuščениh ogorčic (Berry in sod., 1997; Trdan in sod., 2009; Laznik in sod., 2010).

Ugotovili so tudi možnost zatiranja koloradskega hrošča z entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana*. Zatiranje s komercialnim pripravkom lahko zmanjša populacijo hrošča do 75 % (Cantwell in sod., 1986, cit. po Alyokhin, 2009), vendar je učinkovitost navadno manjša kot pri uporabi insekticidov v konvencionalni pridelavi.

Plenilci, parazitoidi, entomopatogene ogorčice in entomopatogene glive lahko predstavljajo ustrezne možnosti za zatiranje koloradskega hrošča, vendar nobeden od njih kot samostojen ukrep ne omogoča zmanjšanja gostote škodljivcev pod prag gospodarske škode, temveč le v kombinaciji z drugimi ukrepi (Alyokhin, 2009).

2.1.5.5 Kemično zatiranje

Kljub številnim raziskavam v smeri iskanja alternativnih rešitev za zatiranje koloradskega hrošča, ostajajo insekticidi še vedno osrednji del velike večine programov obvladovanja tega škodljivca, tako v svetu kot pri nas (Hare, 1990; Alyokhin, 2009; Tehnološka ..., 2013). Po izsledkih raziskave (Urek in sod., 2012) opravijo slovenski pridelovalci krompirja v povprečju 1,2 škropljenji z insekticidi proti koloradskemu hrošču. V Sloveniji je za zatiranje koloradskega hrošča trenutno registriranih 12 aktivnih snovi v devetnajstih pripravkih, s šestimi različnimi načini delovanja (FITO-INFO, 2014).

Preglednica 1: Insekticidi za zatiranje koloradskega hrošča registrirani v Sloveniji, trgovsko ime, aktivna snov, kemijska skupina in klasifikacijska skupina po IRAC (FITO-INFO, 2014).

Table 1: Insecticides registered for CPB control in Slovenia, product name, active ingredients, chemical group and IRAC mode of action classification group (FITO-INFO, 2014).

Pripravek	Aktivna snov	Kemijska skupina	Klasifikacija po IRAC
Actara 25 WG	Tiametoksam	Neonikotinoidi	4A
Alverde	Metaflumizon	Metaflumizon	22B
Biotip floral	Piretrin	Piretrini, piretroidi	3A
Biscaya	Tiaklopid	Neonikotinoidi	4A
Bulldock EC 25	Beta-ciflutrin	Piretrini, piretroidi	3A
Calypso SC 480	Tiaklopid	Neonikotinoidi	4A
Coragen	Klorantraniliprol	Diamidi	28
Flora verde	Piretrin	Piretrini, piretroidi	3A
Karate Zeon 5 CS	Lambda-cihalotrin	Piretrini, piretroidi	3A
Laser 240 SC	Spinosad	Spinosini	5
Mavrick 240	Tau-Fluvalinat	Piretrini, piretroidi	3A
Mido SL 200	Imidaklopid	Neonikotinoidi	4A
Mospilan 20 SG	Acetamiprid	Neonikotinoidi	4A
Neemazal –T/S	Azadirahatin	-	NZ
Naprid 200 SC	Imidaklopid	Neonikotinoidi	4A
Raptol koncentrat	Ogrščično olje + piretrin	Piretrini, piretroidi	3A
Raptol sprej	Ogrščično olje + piretrin	Piretrini, piretroidi	3A
Sparviero	Lambda-cihalotrin	Piretrini, piretroidi	3A
Spruzit prah	Piretrin	Piretrini, piretroidi	3A

2.2 INSEKTICIDI

Insekticidi so sredstva, s katerimi zatiramo žuželke, ki so poglavitni živalski škodljivci rastlin (Maček in Kač, 1990). Med insekticide prištevamo tudi akaricide in nematicide, s katerimi zatiramo pršice in ogorčice, žuželkam sorodne škodljivce iz skupine nevretenčarjev. Pod izrazom insekticidi (končnica »-cidi«, grško cedere -ubiti) pojmujeemo snovi, ki ubijejo škodljivce. Vendar ni vedno tako. Pojem insekticidi namreč zajema vse snovi, s katerimi lahko zmanjšamo škodo, ki jo povzročajo škodljivci. Sem prištevamo tudi regulatorje razvoja, motilce hormonov, zaviralce hranjenja, motilce obnašanja, v širšem smislu pa tudi feromone, repelente, atraktante in lepljive snovi (Matsumura, 2003).

Insekticide lahko delimo na več načinov. Po načinu delovanja na žuželke jih delimo na dotikalne (kontaktne), želodčne (digestivne) in dihalne (inhalacijske). Glede na to, na katere stopnje žuželk delujejo, jih delimo na ovicidne (delujejo na jajčeca), larvicidne (delujejo na ličinke) in na adulticidne (delujejo na odrasle žuželke). Če sredstva delujejo na žuželke s površja rastlin, spadajo v skupino snovi z zunanjim (eksternim) delovanjem, če delujejo iz notranjosti rastlin pa sodijo med snovi s sistemskim (notranjim) delovanjem; te se po rastlinah premeščajo po vodovodnih ceveh. Poznamo tudi sredstva z globinskim delovanjem ali lokosistemična, ki se po rastlinah premeščajo osmotsko (Maček in Kač, 1990).

2.2.1 Zgodovina razvoja insekticidov

Prvi insekticidi, ki so se uporabljali že pred letom 1940, so bile pretežno anorganske spojine (arzenove, svinčeve, barijeve), v manjšem obsegu pa tudi nekateri rastlinski izvlečki proti sesajočim žuželkam (tobačni izvleček, kvasija, rotenon) ter mineralna olja (Maček in Kač, 1990). Po drugi svetovni vojni so prišli na trg organski insekticidi. Najprej DDT in podobne snovi iz skupine kloriranih ogljikovodikov (lindan, endrin idr.), katerih raba se je zaradi dobre učinkovitosti v petdesetih letih široko razmahnila (Matsumura, 2003). Vendar je bila slaba stran teh snovi ta, da so bili neselektivni in dolgo obstojni v okolju, zaradi česar so jih v sedemdesetih letih večinoma prenehali uporabljati (Maček in Kač, 1990). Med tem časom je industrija razvila organske fosforjeve spojine in karbamate, skupini insekticidov, ki sta se hitro uveljavili. Večina snovi iz teh skupin je nudila vsaj delno selektivnost ter manjšo obstojnost v okolju (Matsumura, 2003). V naslednjih letih so sintetizirali tudi insekticide, ki so bili podobni nekaterim naravnim toksičnim snovem, vendar bolj obstojni in bolj učinkoviti. Tak primer so sintetični piretroidi, razviti v sedemdesetih letih. So analogni naravnemu piretrinu, pridobljenemu iz bolhača (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Slaba stran piretrina je njegova kratka obstojnost na svetlobi (Maček in Kač, 1990). Skupina insekticidov sintetični neonicotinoidi, ki je prišla na trg v devetdesetih letih prejšnjega stoletja, pa posnema delovanje naravnega nikotina iz rastlin tobaka (Matsumura, 2003). V osemdesetih in devetdesetih letih so se kot insekticidi uveljavili tudi nekateri produkti mikroorganizmov, kot so npr. toksini bakterije *Bacillus*

thuringiensis ali Bt toksini, avermektini, toksini bakterije *Streptomyces avermitilis* in spinosini, produkti glive *Saccharopolyspora spinosa* (Matsumura, 2003).

Najpomembnejše lastnosti pri sodobnih insekticidih so: visoka selektivnost, da torej delujejo le na ciljno skupino škodljivih žuželk, na neciljne organizme pa v čim manjšem obsegu; velika učinkovitost, kar pomeni, da so za doseg želenih učinkov potrebne majhne količine aktivnih snovi in majhna obstojnost v okolju (Maček in Kač, 1990; Matsumura, 2003).

2.2.2 Mehanizmi delovanja insekticidov

Velika večina insekticidov, ki se danes uporabljajo, so živčni strupi. Žuželke imajo namreč zelo dobro razvit živčni sistem, senzorične receptorje pa imajo v mnogih primerih dobro izpostavljene zunanjim vplivom. Tako so nekatere najpomembnejše funkcije živčnega sistema žuželk ciljna mesta delovanja insekticidov (Matsumura, 2003).

2.2.2.1 Delovanje na natrijeve kanalčke

Natrijevi kanalčki so ciljno mesto delovanja DDT-ja, piretroidov, piretrina in še nekaterih drugih manjših skupin insekticidov. Osnova delovanja živčnega sistema je prevajanje živčnih dražljajev, ki temelji na spremembah v elektro-kemičnem potencialu, pri čemer imajo pomembno vlogo tudi natrijevi kanalčki. Natrijevi kanalčki obdajajo zunanje površje živčnih celic ali nevronov in predstavljajo odprtine, ki sodelujejo pri prehajanju natrijevih ionov v notranjost živčnih celic. Ko pride do dražljaja, se za kratek čas odprejo, v celice vdrejo natrijevi ioni, kar povzroča spremembe v električnem potencialu membrane (depolarizacije membrane). Po nagli depolarizaciji se natrijevi kanalčki zapirajo, pride do notranjega premeščanja ionov in membranski potencial se začne vračati proti prvotni vrednosti. Omenjene vrste insekticidov pa preprečujejo proces vračanja membranskega potenciala v prvotno stanje, zaradi česar je faza vzdraženja podaljšana, kar vodi v izčrpavanje žuželk in pri visokih odmerkih smrt (Matsumura, 2003).

2.2.2.2 Oviranje delovanja acetilholin-esteraze

Acetilholin-esteraza je encim, ki v sinapsah s hidrolizo razgrajuje molekule acetilholina, neurotransmiterja, ki ima funkcijo prenosa signala med živčnimi celicami. Acetilholin se sprosti po tem, ko pride signal od distalnega dela nevrona, prek intercelularnih odprtin do frontalnega konca drugega nevrona. Tam reagira s specifičnim acetilholinskim receptorjem na površju in pošlje tako dražljaj drugemu nevronu. Za dober prenos signala je pomembno, da se le-ta zaključi hipno, kar omogoči celici, da se hitro vzpostavi v prvotno stanje in lahko sprejme naslednji signal. Pri tej hipni zaustavitvi prenosa signala sodeluje acetilholin-esteraza, ki odstrani acetilholin z bližine acetilholinskega receptorja drugega nevrona (Matsumura, 2003). Vsi insekticidi iz skupine organskih fosforjevih estrov in karbamatov ter njihovi aktivni metaboliti imajo veliko sposobnost inhibiranja acetilholin-esteraze pri žuželkah in tudi pri drugih živalih. Žuželke, ki so prizadete zaradi delovanja

teh insekticidov kažejo značilna znamenja prevelikega živčnega vzdraženja, kar vodi v njihovo izčrpanost in nato smrt (Maček in Kač, 1990; Matsumura, 2003).

2.2.2.3 Delovanje na receptor acetilholina

Podobna znamenja lahko povzročijo insekticidi, ki deaktivirajo receptor acetilholina ali pa sam acetilholin. Insekticidi na podlagi naravnega nikotina in njihovi moderni derivati neonikotinoidi blokirajo postsinaptične nikotinergične acetilholinske receptorje (nAChR), kar povzroča stalno odprtost natrijevih kanalčkov in stimulacijo električnih impulzov, kar ovira normalen prenos živčnih dražljajev in povzroči značilna znamenja prekomerne živčne vzdraženosti (Matsumura, 2003; Trkulja in sod., 2011).

2.2.2.4 Delovanje na receptor gama-aminobutrične kisline

Gama-aminobutrična kislina (GABA) je pomemben inhibitorni živčni prenašalec v osrednjem živčevju. Receptorji so v bistvu kloridni kanalčki, ki se po vezavi liganda (GABA) odprejo in s tem dopustijo prehod Cl⁻ ionov v celico, ki sprejema inhibitorni signal (nevron ali mišična celica). Insekticidi kot so ciklodieni (dieldrin, endosulfan) in nekateri novejši pripravki, z vezavo na receptor preprečijo delovanje kanalčkov in prehod klorovih ionov v celice. Celice tako ne dobijo inhibitornega signala od GABA in ne morejo kompenzirati vzdraženosti. Skupina insekticidov, analogi avermektina, delujejo na receptor tako, da držijo kanalčke ves čas odprte. V žuželkah povzročijo dolgotrajno inhibicijo živčnih dražljajev, kar povzroča zmanjšano aktivnost, neodzivanje na dražljaje, paraliziranost in počasno smrt (Matsumura, 2003).

2.2.2.5 Drugi načini delovanja

Poleg živčnih strupov so še drugi načini, prek katerih insekticidi motijo normalne funkcije žuželk. Poznamo:

- mitohondrijske strupe, ki povzročajo motnje dihanja (tak strup je npr. rotenon),
- zaviralce tvorbe kutikule,
- posnemovalce hormonov,
- toksine bakterije *Bacillus thuringiensis*, ki večinoma prizadenejo kalijeve kanale v prebavnem sistemu žuželk.

Pri nekaterih insekticidih pa natančno mesto in način delovanja še nista znana (npr. azadirahthin) (Matsumura, 2003; IRAC: Resistance management ..., 2011).

2.2.3 Delitev ali klasifikacija insekticidov

Po kemijski sestavi delimo organske insekticide v nekaj glavnih skupin: karbamati, organske fosforjeve spojine, piretroidi, neonikotinoidi ipd. Novejša razdelitev pri Insecticide Resistance Action Comitee (IRAC Mode of Action classification) deli insekticide v skupine glede na mesto in mehanizem delovanja v žuželkah.

2.2.3.1 Karbamati

Karbamati delujejo na živčni sistem žuželk in imajo isti mehanizem delovanja kot insekticidi iz skupine organskih fosforjevih estrov, to je inhibirajo encim acetilholin esterazo (AChE), zaradi česar so razvrščeni v IRAC skupino 1A (IRAC: MoA ..., 2014). Vsi karbamati so nevarna do zelo nevarna sredstva. Nekateri imajo kontaktno in nekateri sistemično delovanje, nekateri širok spekter delovanja, nekateri pa so izraziti aficidi (sredstva za zatiranje listnih uši) (Maček in Kač, 1990; Trkulja in sod., 2011). Pri nas sta registrirana insekticida metiokarb in pirimikarb (FITO-INFO, 2014).

2.2.3.2 Organski fosforjevi estri

Organski fosforjevi estri so estri fosforjeve, tiosfosforjeve, ditiosfosforjeve in drugih fosforjevih kislin (Maček in Kač, 1990). Delujejo na živčni sistem žuželk, tako, da inhibirajo encim acetilholin esterazo, podobno kot karbamati, in so na podlagi tega razvrščeni v IRAC skupino 1B. Zaradi inhibicije encima prihaja v organizmu žuželk do kopičenja acetilholina, ki je potreben za prevejanje živčnih impulzov, kar privede do paralize različnih organov, mišic in posledično smrti žuželk. Po načinu delovanja se organski fosforjevi estri delijo na sistemične in nesistemične insekticide. Sistemični insekticidi se prevajajo po prevodnem sistemu rastlin in delujejo želodčno (sesanje sokov) ali kontaktno, nesistemični delujejo kontaktno na površini tretiranih rastlin (Trkulja in sod., 2011). Pri nas sta iz skupine organskih fosforjevih estrov registrirana insekticida dimetoat in klorpirifos-metil (FITO-INFO, 2014).

Zaradi nevarnosti razvoja navzkrižne rezistence so priporočila IRAC taka, da se insekticidi na osnovi aktivnih snovi iz skupine IRAC 1A (karbamati) in 1B (organski fosforjevi estri) ne uporabljajo izmenično, razen v primerih, kadar ni drugih možnosti ali je sigurno znano, da navzkrižna rezistenca pri vrsti žuželke, ki jo zatiramo, ni možna (IRAC: MoA ..., 2014).

2.2.3.3 Piretroidi

Insekticidi iz te skupine inhibirajo prehajanje natrijevih ionov skozi membrane živčnih celic, kar vodi do motenj v prevajanju živčnih impulzov (Matsumura, 2003). Zaradi tega načina delovanja so razvrščeni v IRAC skupino 3A (IRAC: MoA ..., 2014). Piretroidi so nesistemični insekticidi z zelo širokim spektrom delovanja. Odlikuje jih hitro kontaktno in želodčno delovanje ter visoka insekticidnost, kar omogoča njihovo rabo v zelo nizkih odmerkih in pri nižjih temperaturah, hkrati pa so manj nevarni za okolje. Slaba lastnost piretroidov je, da lahko razmeroma hitro pride do pojava odpornosti nanje in da imajo širok spekter delovanja, ter vplivajo tudi na naravne sovražnike (Trkulja in sod., 2011).

Pri nas so trenutno registrirane sledeče aktivne snovi: alfa-cipermetrin, beta-ciflutrin, deltametrin, lambda-cihalotrin, tau-fluvalinat in teflutrin.

2.2.3.4 Neonikotinoidi

Neonikotinoidi so skupina insekticidov, ki delujejo na živčni sistem žuželk in povzročajo inverzibilno blokado acetilholinskih receptorjev (nAChR), kar vodi do stanja stalne odprtosti natrijevih kanalčkov in stimulacije električnih impulzov. Zaradi tega je oviran prenos živčnih dražljajev in onemogočeno delovanje živčnega sistema, kar ima za posledico blokado delovanja osnovnih življenjskih funkcij žuželk (Trkulja in sod., 2011). Na osnovi tega načina delovanja so neonikotinoidi razvrščeni v IRAC skupino 4A (IRAC: MoA ..., 2014).

Neonikotinoidi so insekticidi z izrazitim sistemičnim kot tudi kontaktnim in digestivnim delovanjem. Uporabljajo se za zatiranje velikega števila žuželk: koloradskega hrošča, listnih uši, resarjev, ščitkarjev in drugih (Trkulja in sod., 2011). Pri nas so registrirani sledeči insekticidi iz skupine neonikotinooidov: acetamiprid, imidakloprid, tiakloprid in tiametoksam (FITO-INFO, 2014).

2.2.3.5 Spinosini

Insekticidi iz te skupine delujejo na živčni sistem žuželk tako, da povzročajo blokado alosteričnih aktivatorjev nikotinergičnih acetilholinskih receptorjev (nAChR), kar ovira prenos živčnih dražljajev. Na podlagi tega so razvrščeni v IRAC skupino 5 (Trkulja in sod., 2011). Uporabljajo se zatiranje resarjev, koloradskega hrošča, nekaterih gosenic, žerk ipd. Pri nas je registriran insekticid spinosad (FITO-INFO, 2014).

Preglednica 2: IRAC klasifikacija insekticidov registriranih v Sloveniji (IRAC: MoA ..., 2014; FITO-INFO, 2014)

Table 2: IRAC mode of action classification of Insecticides, registred in Slovenija (IRAC: MoA ..., 2014; FITO-INFO, 2014)

Glavne skupine in primarno mesto delovanja	Kemična podskupina ali primer aktivne snovi	Aktivne snovi
1 Inhibitorji acetilholinesteraze (AChE) Živčno delovanje	1A karbamati	metiokarb, pirimikarb
	1B organski fosforjevi estri	dimetoat, klorpirifos-metil
3 Regulatorji natrijevih kanalčkov Živčno delovanje	3A piretroidi piretrini	alfa-cipermetrin, beta-ciflutrin, deltametrin, lambda-cihalotrin, piretrin, tau-fluvalinat, teflutrin
4 Nikotinski blokatorji acetilholinskih receptorjev (nAChR) Živčno delovanje	4A neonikotinoidi	acetamiprid, imidaklopid, tiaklopid, tiametoksam
	4B nikotin	
5 Blokatorji alosteričnih aktivatorjev nikotinergičnih acetilholinskih receptorjev (nAChR) Živčno delovanje	spinosini	spinosad
6 Aktivatorji kloridnih kanalčkov Živčno in mišično delovanje	avermektini	abamektin
9 Selektivni motilci (blokiranje) prehrane žuželk iz reda Homoptera Živčno delovanje	9B pimetrozin	pimetrozin
	9C flonikamid	flonikamid
11 Mikrobni uničevalci črevesnih membran žuželk	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>
15 Inhibitorji biosinteze hitina, tip 1 Regulacija rasti	benzoilureati	lufenuron
18 Agonisti receptorjev ekdisona Regulacija rasti	diacilhidrazini	tebufenozid

»se nadaljuje«

»nadaljevanje«

Glavne skupine in primarno mesto delovanja	Kemična podskupina ali primer aktivne snovi	Aktivne snovi
21 Inhibitorji transporta elektronov mitohondrijskega kompleksa I Delovanje na energetske presnovo	21 A METI akaricidi in insekticidi	fenazakvin
22 Blokatorji natrijevih kanalčkov Živčno delovanje	22 A indoksakarb	indoksakarb
	22 B metaflumizon	metaflumizon
28 Modulatorji rianidinskih receptorjev Živčno delovanje	diamidi	klorantraniliprol
NZ Snovi z neznanim ali nejasnim načinom delovanja	azadirahthin	azadirahthin

2.3 ODPORNOST (REZISTENCA) NA FITOFARMACEVTSKA SRESTVA

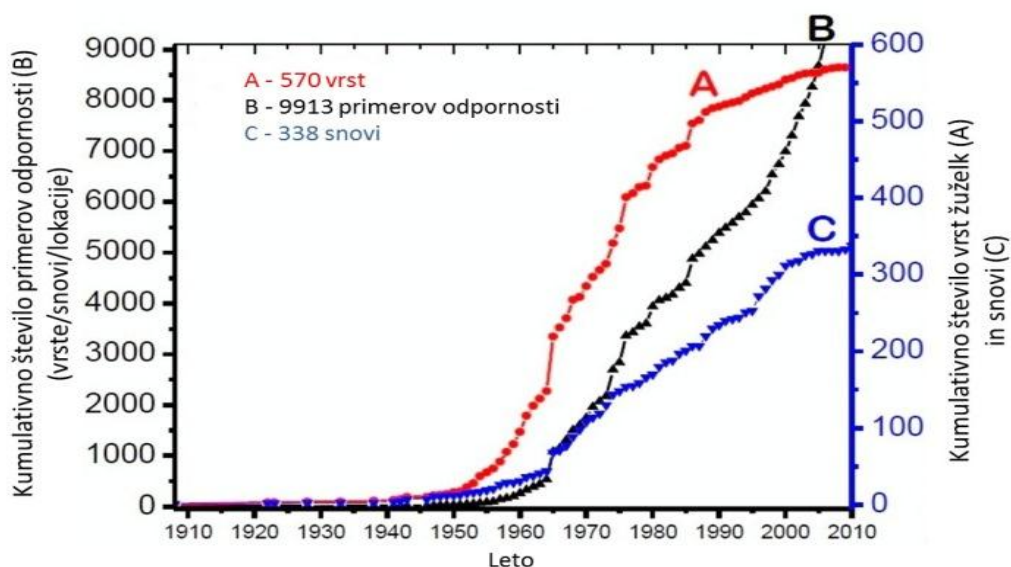
Odpornost ali rezistenco lahko definiramo kot dedno spremembo v občutljivosti škodljivcev na neko fitofarmacevtsko sredstvo. Kaže se v ponavljajoči se slabši učinkovitosti od pričakovane, kljub temu, da je sredstvo uporabljeno v priporočenem odmerku za to vrsto (IRAC: Resistance management ..., 2011). Do pojavov odpornosti na FFS prihaja pri različnih vrstah škodljivih organizmov, tako pri žuželkah, pršicah kot tudi pri glivah in plevelih (Hržič, 1967; Simončič, 1997, 2001; Arthropod pesticide resistance database, 2011).

Odpornost ni splošen pojav, nekatere populacije so lahko odporne na določeno aktivno snov, druge na drugo, nekatere tudi na več snovi hkrati. Neka mutacija le v redkih primerih pomeni odpornost na samo en toksin. Najpogosteje se izraža kot različna stopnja odpornosti na sorodne ali tudi nesorodne insekticide - govorimo o navzkrižni odpornosti. V ožjem smislu pomeni navzkrižna odpornost sposobnost nekega mehanizma, da prenese odpornost na več insekticidov hkrati, ali, da se odpornost na en insekticid izraža tudi na drugem, čeprav mu žuželka še ni bila izpostavljena. Multipla odpornost ali rezistenca pa pomeni istočasno navzočnost dveh ali več mehanizmov odpornosti, od katerih ima vsak svoje karakteristike glede navzkrižne rezistence (Devine in Denholm, 2003; IRAC: Resistance management ..., 2011).

2.3.1 Zgodovina razvoja odpornosti na insekticide

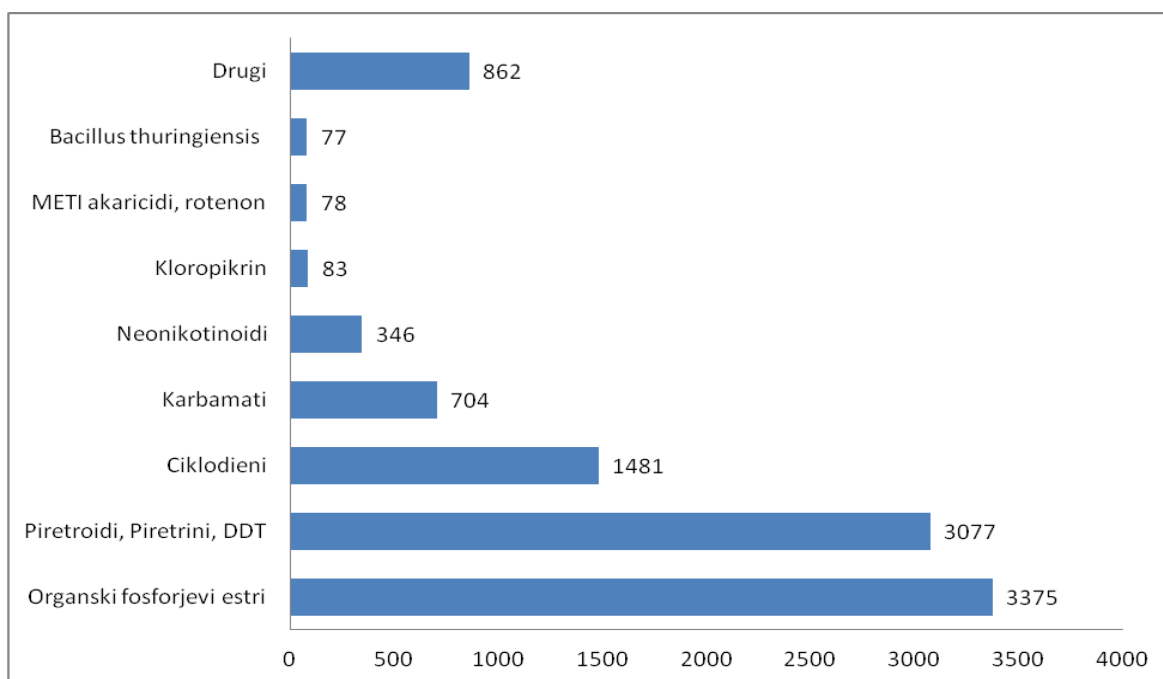
Pojavi odpornosti na insekticide segajo pri žuželkah skoraj v začetek 20. stoletja. Ameriški entomolog Melander je že leta 1914 poročal o slabšem delovanju žveplenoapnene brozge in arzenovih pripravkov proti ameriškemu kaparju (*Quadraspidiotus perniciosus*) in že takrat uporabil izraz rezistenca (Melander, 1914). Z razvojem in širjenjem uporabe insekticidov po drugi svetovni vojni so naraščali tudi primeri pojavov odpornosti. Največji porast primerov odpornosti je bil v sedemdesetih in osemdesetih letih prejšnjega stoletja. Do danes je odpornost na vsaj eno snov razvilo prek 500 vrst žuželk ali pršic. Nekatere populacije med njimi so odporne proti vsem ali skoraj vsem sredstvom, ki so na voljo (Devine in Denholm, 2003).

Po podatkih Arthropod pesticide resistance database (2011) je navadna pršica (*Tetranychus urticae*) po številu aktivnih snovi (a.s.) insekticidov, na katere je razvila odpornost, na prvem mestu. Neobčutljiva je na kar 93 a.s.. Sledijo ji kapusov molj (*Plutella xylostella*) z odpornostjo na 81 a.s., siva breskova uš (*Myzus persicae*) s 73 a.s., koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata*) z 51 a.s, hišna muha (*Musca domestica*) s 50 a.s ter tobakov ščitkar (*Bemisia tabaci*) in rdeča sadna pršica (*Panonychus ulmi*) s po 45 a.s., na katere so razvili odpornost. Isti vir navaja, da so glede na način delovanja na prvem mestu po številu primerov odpornosti organski fosforjevi estri (slika 4).



Slika 4: Razvoj odpornosti na insekticide pri žuželkah od leta 1908 do 2010 (vrste žuželk, snovi in skupno število primerov) (IRAC: Resistance management ..., 2011)

Figure 4: Arthropode insecticide resistance development from 1908 to 2010 (number of species, substances and resistance reports) (IRAC: Resistance management ..., 2011)



Slika 5: Število primerov odpornosti po skupinah glede na način delovanja insekticidov (Arthropod pesticide resistance database, 2011)

Figure 5: Number of insecticide resistance regarding the mode of action of insecticides (Arthropod pesticide resistance database, 2011)

2.3.2 Glavni mehanizmi odpornosti žuželk in drugih nevretenčarjev na insekticide

Odpornost na insekticide lahko v procesu naravne selekcije razvijejo žuželke in drugi sorodni nevretenčarji. Na hitrost razvoja odpornosti vpliva več dejavnikov, predvsem pogostost pojavljanja genov za odpornost v populaciji škodljivca, hitrost razmnoževanja, migracije škodljivcev med populacijami, obstojnost insekticidov, specifične lastnosti insekticidov, čas in število škropljenj ter uporabljeni odmerki. Do pojavov odpornosti pride npr. hitreje v zavarovanih prostorih, kjer se žuželke ali pršice hitreje množijo, migracija občutljivih osebkov je manjša in pogostost škropljenj večja (IRAC: Resistance management ..., 2011)

Odpornost žuželk na insekticide največkrat poteka prek dveh osnovnih mehanizmov. Pri prvem, ki je bolj pogost, se pri žuželkah poveča sposobnost razstrupitve (detoksifikacije) organizma s pomočjo encimov, ki služijo za odstranjevanje nevarnih kemikalij, tudi drugih, ne le insekticidov. To je t.i. presnovna odpornost (metabolic resistance). Še posebno dobro razvit sistem encimov za razstrupljanje imajo žuželke, ki se že naravno hranijo na rastlinah, ki proizvajajo večje količine strupenih substanc. Pri razstrupljanju sodelujejo tri glavne skupine encimov: različne vrste oksidaz, hidrolaze in konjugacijski sistemi, kot je npr. glutation S-transferaza, ki imajo nalogo, da zapolnijo reaktivne dele strupenih kemikalij in tako olajšajo njihovo odstranjevanje. Katera skupina encimov sodeluje v določenem primeru, je v največji meri odvisno od kemijskih lastnosti samih insekticidov (Devine in Denholm, 2003).

Pri drugem načinu se zaradi mutacij spremenijo mesta delovanja insekticidov. V raziskavah odpornosti žuželk na DDT, piretroide, ciklodiene, organske fosforjeve estre in karbamate so ugotovili mutacije na mestih delovanja insekticidov. Za te vrste odpornosti, je značilna večja specifičnost in relativno dobra stabilnost v populaciji škodljivca na določenem območju (Devine in Denholm, 2003).

V nadaljevanju so predstavljene nekatere fiziološke reakcije, ki so jih najpogosteje ugotovili pri žuželkah, odpornih na insekticide.

- Povečana presnova insekticidov prek monooksigenaz citokroma P450. Ta mehanizem je lahko vključen v odpornost pri vseh kemijskih skupinah insekticidov (Devine in Denholm, 2003).
- Povečana aktivnost glutation S-transferaze. Mehanizem je potencialno pomemben pri odpornosti na določene skupine insekticidov, npr. organske fosforjeve estre. Podobno kot monooksigenaze se tudi glutauion S-transferaza pojavlja v različnih molekularnih oblikah, z različnimi lastnostmi in vlogami pri odpornosti (Devine in Denholm, 2003).
- Povečana aktivnost esteraz. Pri odpornosti na organske fosforjeve estre in tudi piretroide so ugotavljali porast reakcij hidrolize zaradi večje aktivnosti esteraz (npr. karboksilesteraze), pri čemer je prihajalo do cepitve estrov (npr. karboksilestra). Do

povečane aktivnosti esteraz lahko pride zaradi kvalitativnih sprememb na encimu, pri čemer se poveča njegova hidrolitična kapaciteta. Lahko pa pride tudi do kvantitativnih sprememb in povečanja količine encima v odpornih žuželkah v primerjavi z občutljivimi (Devine in Denholm, 2003).

- Strukturne spremembe na proteinih. Insekticidi, kot je DDT in sintetični piretroidi, blokirajo delovanje natrijevih kanalčkov v membranah živčnih celic. Pri mnogih žuželkah z manjšo občutljivostjo živčnega sistema na te snovi so ugotovili strukturne spremembe na proteinih natrijevih kanalčkov. Ta fenomen je bil že v petdesetih letih opisan kot t.i. knockdown rezistenca (kdr), pri odpornosti hišne muhe na DDT (Schuller in sod., 1996). Pozneje je bil ugotovljen še pri mnogih drugih žuželkah. Pri različnih vrstah (zelena breskova uš, kapusov molj, ...) z osnovno kdr so ugotovili, da je na mestu aminokislina levcin prišlo do zamenjave s fenilalaninom. Pozneje je lahko prihajalo do novih mutacij in posledično stopnjevanja odpornosti in do t.i. super knockdown rezistence (Morin in sod., 2002).
- Spremembe na GABA receptorju. GABA receptorji so mesto delovanja več skupin insekticidov, med drugim ciklodienov, avermektinov in fipronilinov. Primarni mehanizem odpornosti na ciklodiene in fiproniline so spremembe na določenem delu GABA receptorja, katerih posledica je velika neobčutljivost za delovanje teh insekticidov. Pri preučevanju odpornosti na ciklodiene so ugotovili enake spremembe (zamenjava alanina s serinom) pri različnih skupinah odpornih žuželk (vinske mušice, hrošči, ščitkarji, komarji, ščurki) (Devine in Denholm, 2003).
- Mesto delovanja organskih fosforjevih estrov in karbamatov je oviranje delovanja encima acetilholin esteraze (AChE), zaradi česar je poslabšan prenos živčnih dražljajev prek sinaps (IRAC: MoA ..., 2014). Pri številnih odpornih žuželkah in pršicah so odkrili mutirane oblike AChE, ki so jih insekticidi manj ovirali pri njihovi funkciji. Z biokemijskimi in molekularnimi analizami so ugotovili, da ima lahko en škodljivec tudi po več različnih mutiranih oblik encima, z različno stopnjo neobčutljivosti na insekticide. Zato so lahko vzorci odpornosti na ti dve skupini insekticidov precej različni (Devine in Denholm, 2003).

Nekoliko manj pogost način odpornosti so primeri, ko začnejo žuželke na zunanji kutikuli tvoriti posebno bariero, s katero upočasnijo absorpcijo insekticida v telo (penetration resistance). Bariera lahko varuje žuželko pred različnimi insekticidi. Mehanizem običajno nastopa v kombinaciji z drugimi mehanizmi odpornosti, kar poveča njihov učinek (IRAC: Resistance: The facts 2014).

Pri nekaterih žuželkah so opazili še t.i. vedenjsko odpornost (behavioral resistance). Gre za način, pri katerem se žuželke izognejo stiku z insekticidom in s tem uničenju. Ko dospejo v bližino mesta z insekticidom, se nehajo prehranjevati ali pa zapustijo škropljeno območje (se umaknejo na spodnjo stran škropljenih listov, pomaknejo globlje v krošnjo ali odletijo iz škropljenega območja) (IRAC: Resistance: The facts 2014).

2.3.3 Odpornost in koloradski hrošč

Koloradski hrošč je škodljivec, ki zahteva vsakoletno zatiranje. Najbolj učinkovit in najbolj razširjen način pa je še vedno zatiranje z insekticidi. Koloradski hrošč ima izjemno sposobnost prilagajanja okoljskim razmeram, tudi insekticidom (Forgash, 1985). O prvih opažanjih glede sprememb v odzivanju koloradskega hrošča na arzenove pripravke so poročali že daljnega leta 1912 v ZDA, čeprav pojma »odpornost« takrat še niso poznali. Kmetje so opažali slabše delovanje, zaradi česar so povečevali odmerke (Melander, 1914). Prve zabeležke o slabšem delovanju DDT-ja na koloradskega hrošča so iz leta 1952 in 1953 iz Long Islanda in Virginije (ZDA), kjer se je odpornost razvila po 14 do 24 generacijah (Casagrande, 1987). Kasneje je do pojavov odpornosti prihajalo vedno hitreje. Za zatiranje škodljivca so uporabljali različne kemične spojine, z različnimi načini delovanja, vendar je hrošč hitro razvil odpornost proti vsem sintetičnim insekticidom. Do pojavov odpornosti je prihajalo tudi vedno hitreje. Hiter razvoj odpornosti na piretroide vsaj deloma pripisujejo navzkrižni rezistenci z DDT. Podobno je selekcija s karbamati pospešila odpornost na organske fosforjeve estre in obratno (Alyokhin in sod., 2007). V ZDA so problemi z odpornostjo dosegli vrh v zgodnjih devetdesetih letih, ko na nekaterih območjih, kjer so pridelovali krompir, ni bilo možnosti za kakršnokoli kemijsko zatiranje hrošča (Alyokhin in sod., 2008). Rešitev je prišla z neonikotinskimi insekticidi leta 1995, vendar so že nekaj let po začetku njihove rabe začeli opazovati določene stopnje odpornosti hrošča nanje.

Odporne populacije koloradskega hrošča na insekticide so ugotavljali tudi po Evropi. Na območju nekdanje Jugoslavije so na populacijah v Sloveniji in na Hrvaškem leta 1967 dokazali odpornost proti kloriranim ogljikovodikom (Hrzič, 1967). Odpornost se je razvila 16 let po začetku njihove široke uporabe. Maceljki (2005) navaja, da je bila po podatkih IRAC (Insect Resistance Action Committee) odpornost koloradskega hrošča na snovi iz skupine organofosfornih insekticidov, karbamatov in piretroidov v letu 1993 velik problem v mnogih državah srednje in vzhodne Evrope (Hrvaška, Romunija, Češka, Slovaška, Poljska, Ukrajina in Rusija). Odpornost na iste skupine insekticidov so potrdili tudi v Nemčiji (Jörg, 1998; Jörg in Wegerek, 2003). V Sloveniji ni bilo raziskav, ki bi potrdile ali ovrgle razvoj odpornih populacij koloradskega hrošča na omenjene skupine insekticidov. S hitrim testom je bila v letih 1997 in 1998 pri hroščih iz okolice Ljubljane nakazana možnost pojava odpornosti na fosalon in kvinalfos iz skupine organskih fosforjevih estrov ter alfametrina iz skupine piretroidov (Dolničar in Pajmon, 1998). Po podatkih Arthropod Pesticide Resistance Database je do danes koloradski hrošč razvil odpornost proti 51 aktivnim snovem.

Vzrokov za tako obsežen razvoj odpornosti pri koloradskem hrošču je verjetno več. Škodljivec se hrani na rastlinah iz družine Solanaceae, ki v listih vsebujejo velike koncentracije strupenih glikoalkaloidov, zato je tekom evolucije moral razviti sposobnost, da te strupene snovi bodisi tolerira ali pa inaktivira. Poleg tega ima koloradski hrošč veliko sposobnost razmnoževanja, s tem pa tudi veliko možnost nastanka mutacij ter hitrega

porasta števila odpornih osebkov v primerih, kadar do mutacij pride (Ferro, 1993, cit. po Alyokhin, 2008). Zaradi pogoste rabe insekticidov, ki so še vedno najbolj razširjen način zatiranja škodljivca, je selekcijski pritisk velik.

2.3.3.1 Mehanizmi odpornosti pri koloradskem hrošču

V pojave odpornosti koloradskega hrošča na insekticide so vključeni različni mehanizmi. Pri populacijah iz različnih geografskih območij se je pokazal kot najbolj pogost mehanizem povečana aktivnost sistema monooksigenaz citokroma P450 (Scott, 1999). V raziskavah so dokazali, da je inhibicija oksigenaz zmanjšala odpornost koloradskega hrošča na azinfosmetil, karbofuran, karbaril, fenvalerat in permetrin, pri ličinkah četrte larvalne stopnje pa na abamektin (Scott, 1999).

Pomemben mehanizem odpornosti je tudi zmanjšana občutljivost na mestih učinkovanja insekticidov. Pri odpornosti na organske fosforjeve estre in karbamate ima odločilni pomen spremenjen encim acetilholin-esteraza (AChE) (Stanković in sod., 2004). Pri hroščih, odpornih na azinfosmetil, so odkrili dve mutaciji na AChE, zaradi česar je encim manj občutljiv na azinfosmetil in karbofuran. Vendar je lahko rezistenca zaradi spremenjene AChE selektivna. Ugotovili so namreč, da je bila določena rasa hroščev zelo malo občutljiva za arilkarbamate, druga rasa z enako spremenjenim encimom pa neobčutljiva za organske fosforjeve estre in občutljiva za arilkarbamate. Hkrati pa so ugotovili, da so bili hrošči s spremenjenim encimom AChE bolj občutljivi na nekatere glikoalkaloide v krompirju in paradižniku (Wierenga in Hollingworth, 1993). Pri populaciji, odporni na permetrin, so ugotovili mutacijo na enem samem baznem paru (C v T), zaradi česar je prišlo do zamenjave aminokislin (fenilalanin namesto levcina) v natrijevih kanalčkih in do neobčutljivosti na permetrin. Spremembe na mestu delovanja so tudi eden od možnih vzrokov za odpornost na imidaklopid (Liu in sod., 2003).

Slabša občutljivost na insekticide je lahko tudi posledica manjšega prodora snovi v telo in povečanega izločanja iz telesa. To so ugotovili pri hroščih, odpornih na karbaril. Povečano izločanje so ugotovili tudi pri hroščih, odpornih na imidaklopid. Mehanizem lahko deluje skupaj s povečanim metabolizmom in spremembami na mestih delovanja (Alyokhin in sod., 2008).

Pri odpornosti na Bt toksine se pojavlja tudi vedenjska odpornost. Zaužitje Bt toksina je pri odporni rasi hrošča značilno povečalo letalne aktivnosti, kar nakazuje, da je bila fiziološka odpornost okrepljena z določenim obnašanjem (pobeg iz strupenega okolja) (Alyokhin in sod., 2008). Podobno vedenje so opazili tudi pri ličinkah, ki so se umikale od listov, tretiranih z višjo koncentracijo toksina (Hoy in Head, 1995).

2.4 PREPREČEVANJE ODPORNOSTI

Odpornost se v populaciji škodljivca običajno razvije po nekem času, v procesu, ki se začne z genetsko mutacijo ali drugo spremembo pri nekaj posameznih osebkih. Te spremembe naredijo te osebkke manj občutljive in jim omogočijo, da preživijo tretiranje s FFS. Če oz. kadar pridelovalci pri kasnejših tretiranjih nadaljujejo z uporabo istega FFS, vsakič »odberejo« te neobčutljive posameznike, in v nekaj letih se z njihovim medsebojnim parjenjem oblikuje cela populacija odpornih škodljivcev. Seleksijski proces je lahko zelo hiter, če ponavljajo škropljenja z istim insekticidom ali z insekticidom z zelo podobnim načinom delovanja (Wyman, 2003). Zato je prvo pravilo za preprečevanje razvoja odpornosti, izogibanje ponavljajoči se rabi istega sredstva ali sredstva z zelo podobnim načinom delovanja (IRAC: Resistance: The facts 2014).

Odločilnega pomena je torej preprečevanje razvoja odpornosti. Najboljši način za to je čim manjša raba insekticidov. V tem smislu je preprečevanje odpornosti sestavni del integriranega varstva rastlin, ki kombinira kemične in nekemične ukrepe za varno, ekonomično in trajnostno obvladovanje populacij škodljivih organizmov (Karagac, 2012; Urek in sod., 2013). Preprečevanje odpornosti kot sestavni del integriranega varstva rastlin temelji na spremljanju (monitoringu) škodljivcev, zatiranju na podlagi pragov škodljivosti in vključevanju različnih ukrepov varstva (Jörg in sod., 2007; Urek in sod., 2013; IRAC: Resistance: The facts 2014). Pomembno je, da pridelovalci spremljajo razvoj populacije škodljivcev na poljih ali v nasadih, in na podlagi tega ugotovijo če in kdaj je potrebno škodljivce zatirati. Insekticide uporabijo takrat, ko je število škodljivcev dovolj veliko, da lahko povzroči gospodarsko škodo.

Integriran pristop pri obvladovanju škodljivih žuželk pomeni, da je v programe varstva vključenih kolikor je možno različnih ukrepov. Programi vključujejo rabo sintetičnih insekticidov, biotičnih pripravkov, koristnih organizmov (predatorjev, parazitoidov), gojitveno tehnološke ukrepe, odporne sorte, različne pasti, svarilna sredstva, mreže, prekrivke ipd. (Urek in sod., 2013; IRAC: Resistance: The facts 2014). Pri rabi insekticidov je pomembna pravilna izbira snovi, izogibanje sredstvom s širokim spektrom delovanja, ustrezna izbira časa škropljenja (ko je škodljivec v najbolj občutljivi fazi), pravilni odmerki in ustrezni intervali med škropljenji (IRAC: Resistance: The facts 2014).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Insekticidi

V raziskavo smo vključili tri insekticidne pripravke iz različnih kemijskih skupin in z različnimi načini delovanja, ki so bili v letih raziskave registrirani v Sloveniji za zatiranje koloradskega hrošča:

- **Klorpirifos** iz skupine organskih fosforjevih estrov. Je nesistemični insekticid s kontaktnim, želodčnim in dihalnim delovanjem. V žuželkah inhibira encim acetilholin esterazo (AChE) in je uvrščen v IRAC skupino 1B. Uporabili smo ga v komercialnem pripravku Dursban E-48 (proizvajalec Dow Agrosiences), s 480 g/l aktivne snovi.
- **Lambda-cihalotrin** iz skupine piretroidov. To je nesistemični insekticid širokega spektra, s hitrim kontaktnim in želodčnim delovanjem. V žuželkah moti prehod natrijevih ionov skozi membrane živčnih celic in je uvrščen v IRAC skupino 3A. Uporabili smo ga v komercialnem pripravku Karate Zeon 5 CS (proizvajalec Syngenta), s 5 % aktivne snovi.
- **Imidakloprid** iz skupine neonikotinoidov. Je izrazit sistemični insekticid s kontaktnim in želodčnim delovanjem. V žuželkah blokira receptorje acetilholina in je uvrščen v IRAC skupino 4A. Uporabili smo ga v komercialnem pripravku Confidor 200 SL (proizvajalec Bayer CS), z 20 % aktivne snovi.

3.1.1.1 Koncentracije insekticidov

Uporabili smo vodne raztopine komercialnih insekticidov v desetih koncentracijah: 0 % (kontrola), 16,8 %, 24 %, 34,3, 49 %, 70 %, 100 %, 200 %, 400 % in 800 % od priporočenega odmerka, na način kot so jih uporabili Jörg in sodelavci (Jörg, 2004).

Preglednica 3: Koncentracije insekticidov, uporabljene v raziskavi.

Table 3: Insecticides and their concentrations used in our research.

Koncentracije insekticidov (v % glede na priporočilo)	Insekticid					
	Dursban E-48		Karate Zeon 5 CS		Confidor 200 SL	
	Odmerek l/ha	Koncentracija (ppm)	Odmerek l/ha	Koncentracija (ppm)	Odmerek l/ha	Koncentracija (ppm)
800	16,0	40000	1,024	2560	4,000	1000
400	8,0	20000	0,512	1280	2,000	500
200	4,0	10000	0,256	640	1,000	250
100	2,0	5000	0,128	320	0,500	125
70	1,4	3500	0,088	220	0,348	87
49	0,98	2450	0,064	160	0,244	61
34,3	0,684	1710	0,044	110	0,172	43
24,0	0,480	1200	0,032	80	0,120	30
16,8	0,336	840	0,020	50	0,084	21

100 % koncentracija je bila enaka priporočenemu odmerku pripravka (L/ha) po navodilih proizvajalca in s predpostavko, da je bil pripravek uporabljen s 400 l vode. Priporočni odmerek za insekticid Dursban E-48 je bil 2,0 l/ha, za Karate Zeon 5 CS 0,13 l/ha in za Confidor 200 SL 0,5 l/ha.

3.1.2 Populacije koloradskega hrošča, uporabljene v raziskavi

V raziskavo smo vključili osebkke koloradskega hrošča v različnih razvojnih stadijih, to je ličinke v prvi oz. drugi larvalni stopnji (L1/L2), ličinke v tretji oz. četrti larvalni stopnji (L3/L4) in odrasle osebkke - hrošče (H).

Na njivah s krompirjem na različnih pridelovalnih območjih Slovenije smo v juniju in juliju 2006 in 2007 nabirali osebkke koloradskega hrošča, in sicer hrošče, ki so prezimili in njihove potomce (ličinke). Njive smo izbirali naključno, glede na to, koliko ličink ali hroščev je bilo na voljo. Za izpostavitve populacije vsem predvidenim koncentracijam enega insekticida smo potrebovali 400 osebkov enakega razvojnega stadija. Hrošče in ličinke smo nabirali v večje kartonaste škatle ali v velike PVC vreče, skupaj s krompirjevimi listi. Nabrane žuželke smo prenesli v laboratorij in naslednji dan izvedli poskus z insekticidi. Med nabiranjem, transportom in hranjenjem smo pazili, da so bile žuželke ves čas zaščitene pred vročino in da so imele dovolj hrane in prostora.

V obeh letih smo analizirali skupaj 15 vzorcev koloradskega hrošča, od tega 7 vzorcev mladih ličink (L1/L2), 3 vzorce starejših ličink (L3/L4) in 5 vzorcev imagov. Žuželke smo nabrali na sledečih lokacijah: Komenda (njiva velika okoli 0,5 ha, v večjem kompleksu njiv s krompirjem), Domžale (njiva na Mengeškem polju, velikost 0,03 ha), Dorfarji (Sorško polje, velikost njive 0,2 ha), Kranj (velikost njive 0,1 ha), Beltinci (velikost njive 0,05 ha), Krasinec/Črnomelj (njiva velika 0,05 ha), Cerklje/Krško, Vrhovo/Sevnica, Lipovec/Žužemberk (manjše kmečke njive v velikosti približno 2 do 5 arov) in Ljubljana (poskusno polje Biotehniške fakultete).

Preglednica 4: Razvojne stopnje koloradskega hrošča po lokacijah in uporabljeni insekticidi v raziskavi
 Table 4: Development stages of CPB in locations where they were collected and insecticides involved in the research

	Ličinke L1/L2			Ličinke L3/L4			Odrasli osebki		
	Klor-pirifos	Lamb-dacihal.	Imida-klop.	Klor-pirifos	Lamb-dacihal.	Imida-klop.	Klor-pirifos	Lamb-dacihal.	Imida-klop.
Komenda	*	*	*	-	-	-	*	*	*
Domžale	*	*	-	-	-	-	*	*	*
Dorfarje	-	-	-	-	-	-	*	*	-
Kranj	*	*	*	*	*	*	*	*	-
Beltinci	-	-	-	*	*	*	-	-	-
Krasinec/Črnomelj	*	*	*	-	-	-	-	-	-
Cerklje/Krško	*	*	*	-	-	-	*	*	*
Vrhovo/Sevnica	*	*	*	-	-	-	*	-	-
Lipovec/ Žužemberk	*	*	*	*	*	-	*	-	-
Ljubljana	-	-	-	-	-	-	*	*	*



Slika 6: Njiva s krompirjem v Beltincih v Prekmurju (Foto: M. Urbančič Zemljič)

Figure 6: Potato field in Beltinci in the Prekmurje region (Foto: M. Urbančič Zemljič)



Slika 7: Lokacije, na katerih smo v letih 2006 in 2007 nabrali populacije koloradskega hrošča za laboratorijske raziskave

Figure 7: Locations where in the years 2006 and 2007 the CPB populations for the laboratory research were collected

3.2 METODE

Za ugotavljanje odpornosti žuželk na insekticide smo izbrali metodo, priporočeno za ugotavljanje odpornosti grizočih žuželk na insekticide pri Insecticide Resistance Action Committee (IRAC No.7).

3.2.1 Predstavitev metode IRAC št. 7

Metoda ima pri IRAC status odobrene metode za ugotavljanje odpornosti grizočih žuželk v stadiju ličink iz reda Lepidoptera (metulji) ter žuželk iz reda Coleoptera (hrošči) na insekticide. S to metodo ugotavljajo odpornost omenjenih žuželk na bombažu, vrtninah in poljščinah na insekticide iz skupine organskih fosforjevih estrov, karbamatov, piretroidov, kloriranih ogljikovodikov in rastnih regulatorjev. Za izvedbo testiranja je potrebna sledeča oprema: primerne posode za žuželke (npr. petrijeve posode), škarje, pinceta, droben čopič, steklovina za pripravo testnih tekočin, pipeta, tehtnica, lupa, neškropljeni listi gostiteljskih rastlin (v našem primeru krompirja), papirnate brisače ter termometer za merjenje minimalnih in maksimalnih temperatur.

Postopek je sledeč:

- a) Nabrati je potrebno reprezentativne primerke testnih žuželk na polju. To so bodisi ličinke, primerne za takojšnje testiranje ali pa jajčeca oz. ličinke L1, primerne za gojenje do zelene razvojne stopnje ali drug material, iz katerega je mogoče vzgojiti populacijo žuželk za testiranje. Žuželke ne smejo biti izpostavljene stresu zaradi neprimerne temperature, vlage ali stradanja.
- b) Nabrati je potrebno zadostno količino zdravih, ne škropljenih listov gostiteljskih rastlin in poskrbeti, da ne ovenijo.
- c) Pripraviti je potrebno natančne raztopine testnih insekticidov iz izbranih komercialnih pripravkov. Za začetne študije je priporočljivo uporabiti pet različnih koncentracij v večjih medsebojnih razmikih.
- d) Vsak list gostiteljske rastline posebej je potrebno namočiti v testno raztopino insekticida za 5 sekund, ga ob tem nežno mešati in nato položiti na papirnato brisačo, da se osuši. Paziti je treba, da se listi ne izsušijo in ovenijo. Pripraviti je potrebno enako število listov za vsa tretmaja (koncentracije). Količina listov mora biti dovolj velika, tako, da ne pride do stradanja žuželk tekom poskusa (npr. pri kontroli). Najprej se pomakajo listi za postopek s kontrolo (koncentracija 0 %), nato se postopek nadaljuje proti višjim koncentracijam.

- e) Tako tretirane in osušene liste testnih rastlin je potrebno zložiti v označene testne posode, ki morajo biti dovolj velike, da gre vanje dovolj rastlinskega materiala, ki bo v dobrem stanju zdržal do 3 dni.
- f) V tako pripravljene posode z listi se doda enako število žuželk, ki so vključene v testiranje. Vsakemu postopku mora biti izpostavljenih najmanj 40 osebkov, razdeljenih v štiri ponovitve/posode. Pri vrstah, kjer je lahko problem kanibalizem med ličinkami (npr. *Helicoverpa* spp.), je potrebno zmanjšati število ličink na posodo in povečati število ponovitev.
- g) Tako pripravljene posode je potrebno shraniti na mestih, kjer niso izpostavljene direktnemu soncu ali ekstremnim temperaturam. Beležijo se maksimalne in minimalne temperature. Če je mogoče je priporočljiva temperatura okoli 25 °C.
- h) V primeru hitro delujočih snovi se končno ocenjevanje smrtnosti žuželk opravi po 48 urah. Pri počasi delujočih snoveh pa se prvo ocenjevanje naredi po 72 urah. Takrat je treba tudi zamenjati liste z novimi, enako tretiranimi v raztopinah, kot na začetku. Dobljeni rezultati o smrtnosti žuželk se izrazijo kot odstotek smrtnosti, korigiran s smrtnostjo pri netretirani kontroli, po Abbottovi formuli. Tudi smrtnost pri netretirani kontroli mora biti zabeležena.

Ob ocenjevanju se žuželke ocenijo bodisi kot:

- nepoškodovane; to so vse, ki se normalno odzivajo na dražljaje (npr. koordinirano hodijo), če jih vzpodbudimo z nežnim dotikom; ali
- kot mrtve oz. poškodovane; če se nenormalno odzivajo na dražljaje, nekoordinirano hodijo ali če se pojavi nenormalna rast (opis) ali se spremeni njihova barva. Odstotek smrtnosti žuželk vključuje oboje, mrtve in poškodovane žuželke.

Za izvajanje teh poskusov priporočajo uporabo plastičnih posod, odpornih na poškodbe zaradi insekticidov. Možna je tudi raba steklenih posod, vendar jih je po vsaki uporabi oz. pred novo rabo potrebno očistiti z ustreznim organskim topilom.

3.2.2 Potek poskusov

Poskuse smo izvajali v laboratoriju Oddelka za varstvo rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije, v letih 2006 in 2007. Neposredno pred vsakim poskusom smo pripravili po 100 ali 200 ml navedenih insekticidnih raztopin (odvisno od količine nabranih hroščev). Vanje smo za 5 sekund pomakali sveže nabrane krompirjeve liste, ločeno, vsakega posebej. Začeli smo z najnižjo koncentracijo in nadaljevali s postopkom do najvišje. V vsako raztopino smo pomočili enako število listov. Pomočene liste smo zložili na pivni papir, da so se na zraku osušili. Nato smo jih zložili v označene steklene ali plastične petrijeve posode s premerom 14 cm. V vsako posodo smo na tako pripravljene liste krompirja

položili po 10 osebkov koloradskega hrošča, ločeno ličinke L1/L2, L3/L4 in odrasle osebkke. Poskus smo izvajali v štirih ponovitvah, tako je bilo vsaki koncentraciji posamezne aktivne snovi izpostavljenih skupaj 40 osebkov enakega razvojnega stadija. V kontrolnem obravnavanju (koncentracija 0 %) smo krompirjeve lističe pomakali samo v vodo (iz pipe), brez insekticida. Tako pripravljene petrijeve posode z žuželkami smo položili v gojitveno komoro (tip RK-720 VPCH, proizvajalec: Kambič, Semič), ki omogoča nastavitev temperature (22 °C), zračne vlage (80 %) in osvetlitve (16 ur dan in 8 ur noč). Po preteku 48 ur smo pregledali posode in prešteli žive oz. mrtve osebkke. V kategorijo »živi« smo uvrstili ličinke ali hrošče, ki niso bili prizadeti in so se normalno odzivali (npr. naredili nekaj koordiniranih korakov ob rahlem dotiku). V kategorijo »mrtvi« smo uvrstili mrtve in prizadete osebkke, to je vse, ki so se na dražljaje nenormalno odzivali (nekoordinirani gibi, nezmožnost hoje).



Slika 8: Petrijeve posode z listi krompirja, pripravljene za laboratorijski poskus (Foto: M. Urbančič Zemljič)
Figure 8: Petri dishes with potato leaves prepared for the lab experiment (Foto: M. Urbančič Zemljič)

3.3 VREDNOTENJE PODATKOV

3.3.1 Probit analiza

Probit analiza je regresijski model, ki se uporablja za analizo spremenljivk, porazdeljenih z binomsko porazdelitvijo. Tako so porazdeljene spremenljivke, kjer sta možna samo dva izida, kot je to npr. pri ugotavljanju učinka (toksičnosti) FFS na rastlinske škodljivce, kjer je izid lahko samo živ ali mrtev organizem. Probit analizo pogosto uporabljajo v toksikoloških in entomoloških raziskavah, kjer ugotavljajo, kako različne koncentracije

kemičnih snovi (npr. insekticidov) vplivajo na smrtnost organizmov ali pri ugotavljanju stopnje občutljivosti škodljivih organizmov, s ciljem odkrivanja odpornih populacij. Gre za ugotavljanje regresijske povezave med koncentracijo in učinkom. Izid probit analize je možnost medsebojne primerjave količin (koncentracij) kemičnih snovi, ki so izzvale enak odziv. Najpogosteje iskane vrednosti pri tovrstnih raziskavah so vrednosti LC_{50} in LC_{95} . To so koncentracije snovi, ki so povzročile 50-odstotno oz. 95-odstotno smrtnost organizmov (Stanković in Šestović, 1983; Vincent, 2010; Bhar, 2014).

Populacijo žuželk sestavljajo različno občutljivi osebki. Za vsakega od njih obstaja odgovarjajoča, mejna koncentracija snovi (insekticida), pod katero na snov ne reagira, višja pa povzroči smrt. To mejno koncentracijo imenujemo toleranca. Njena variabilnost je lahko v populaciji zelo velika.

Toleranca je slučajnostna spremenljivka, ki v splošnem nima normalne porazdelitve, vendar z logaritemsko transformacijo porazdelitev preide v normalno. Te transformirane podatke analiziramo s probit analizo. Če postavimo v odnos normalizirane vrednosti koncentracije in odgovarjajoči procent smrtnosti, dobimo sigmoidno krivuljo.

Če deleže (odstotke) smrtnosti pretvorimo v njihove probite (Y), se sigmoidna krivulja preoblikuje v premico. Probit deleža (odstotka) P je definiran kot abscisa, ki ustreza verjetnosti P pri normalni porazdelitvi s sredino 5 in varianco 1.

Odnos med normaliziranimi koncentracijami in vrednostmi probit je linearen. S tem je med pričakovanim deležem mrtvih žuželk in koncentracijami vzpostavljena linearna zveza, probit regresija

$$Y = 5 + (X - \mu)/\sigma. \quad \dots (1)$$

Y je probit deleža (odstotka) P , X je logaritem vrednosti koncentracije. Parameter μ je center porazdelitve, koncentracija, pri kateri je dosežena 50-odstotna smrtnost, standardna devijacija σ je mera povprečne variabilnosti koncentracij (logaritemskih vrednosti). Recipročna vrednost standardne deviacije je nagib regresijske premice ali koeficident regresije b , s katerim se izraža občutljivost vrste na snov. Večji nagib pomeni večjo občutljivost.

Pri vrednosti probit 5 je smrtnost 50 %. Če to vrednost prevedemo nazaj, dobimo koncentracijo, ki jo označimo z LD_{50} . Na podoben način lahko dobimo tudi druge učinkovite koncentracije, npr. LD_{95} .

3.3.1.1 Obdelava podatkov

Podatke o številu mrtvih osebkov in skupnem številu osebkov pri posamezni koncentraciji insekticidov, dobljeni v poskusih, smo vnesli v program Microsoft Excel 2003. Statistična obdelava je bila narejena s programom XLSTAT 7.5.

3.3.1.2 Koeficient odpornosti

Letalne koncentracije LC_{95} smo primerjali s koncentracijami aktivnih snovi pri priporočenem odmerku insekticidov in izračunali koeficient odpornosti (KO), na način kot Wegorek in sod. (2011).

Koeficient odpornosti smo izračunali po naslednji formuli:

$$KO = LC_{95} / \text{priporočena koncentracija insekticida [ppm]} \quad \dots (2)$$

Stopnjo odpornosti smo ocenili po naslednjih kriterijih:

$KO \leq 1$	- ni odpornosti,
$KO = 1.1 - 2$	- nizka odpornost,
$KO = 2.1 - 5$	- srednja odpornost,
$KO = 5.1 - 10$	- visoka odpornost,
$KO > 10$	- zelo visoka odpornost.

4 REZULTATI

4.1 OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA KLORPIRIFOS

4.1.1 Mlade ličinke (L1/L2)

Rezultati raziskave o občutljivosti mladih ličink koloradskega hrošča na klorpirifos kažejo na zmerno toksičnost te snovi za mlade ličinke. Pri koncentraciji 5000 ppm, ki je enaka priporočeni koncentraciji insekticida, je bila smrtnost pri petih vzorčnih populacijah med 95 % in 100 %, pri populacijah iz Žužemberka in Cerklj je bila 88-odstotna oziroma 90-odstotna. Pri teh dveh vzorcih se je smrtnost žuželk približala oz. dosegla 100 % šele pri koncentraciji, ki je bila 4-krat višja od priporočenega odmerka (20.000 ppm). Pri populacijah iz Domžal, Kranja, Komende, Sevnice in Črnomlja je bila razmeroma visoka smrtnost ličink dosežena tudi pri nizkih koncentracijah. Že 16,8 % koncentracija je povzročila od 78-odstotno do 95-odstotno smrtnost mladih ličink. Pri teh populacijah nadaljnja analiza podatkov o smrtnosti ni dala pričakovanih rezultatov, saj ni bilo mogoče izrisati celotne funkcijske krivulje odvisnosti smrtnosti od koncentracije.

Preglednica 5: Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos) (v %)

Table 5: Mortality of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) at nine concentrations of insecticide Dursban E-48 (chlorpyrifos) (in %)

Koncentracija (ppm)	Lipovec/ Žužemberk	Cerklje/ Krško	Domžale	Kranj	Komenda	Vrhovo/ Sevnica	Krasinec/ Črnomelj
40000	100	100	100	100	100	100	100
20000	100	98	100	100	100	100	100
10000	95	93	100	100	100	100	100
5000	88	90	95	100	98	100	95
3500	80	68	93	100	98	98	93
2450	80	65	90	98	100	93	93
1710	70	60	88	98	98	93	90
1200	50	68	80	95	85	85	90
840	55	30	78	95	80	85	88

S probit analizo izračunane letalne koncentracije LC_{50} in LC_{95} so smiselne le za populaciji iz Žužemberka in Cerklj (preglednica 6). Glede na izračunane vrednosti LC_{95} je bila priporočena koncentracija 5000 ppm znatno presežena pri obeh populacijah.

Na obstoj določene stopnje odpornosti ličink koloradskega hrošča na klorpirifos kažejo izračunane vrednosti koeficienta odpornosti (KO), ki znaša za populacijo Žužemberk 1,79 (nizka stopnja odpornosti) in za populacijo iz Cerklj 2,47 (srednja stopnja odpornosti).

Preglednica 6: Občutljivost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) na insekticid klorpirifos, izražena z vrednostmi LC₅₀ in LC₉₅

Table 6: Susceptibility level of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) to Chlorpyrifos, expressed in LC₅₀ in LC₉₅

Letalne koncentracije	Lipovec/ Žužemberk	Cerklje / Krško
LC ₅₀ (ppm) (meje zaupanja)	892,06 (221,46-1.490,55)	1.212,237 (464,33-1.920,64)
LC ₉₅ (ppm) (meje zaupanja)	8.927,48 (4.715,88-66.763,70)	12.355,93 (6.351,18-77.738,30)
Koeficient odpornosti (KO)	1,79	2,47

4.1.2 Starejše ličinke (L3/L4)

Insekticid je v priporočeni koncentraciji (5000 ppm) pri starejših ličinkah iz Kranja in Žužemberka povzročil 98-odstotno smrtnost, medtem ko je bila smrtnost ličink iz Beltincev pri isti koncentraciji komaj 68-odstotna. Tudi najvišja koncentracija (40.000 ppm) je na ličinkah iz Beltincev povzročila komaj 88-odstotno smrtnost.

Preglednica 7: Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos), izražena v %

Table 7: Mortality of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) at nine concentrations of insecticide Dursban E-48 (Chlorpyrifos), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Kranj	Beltinci	Lipovec/ Žužemberk
40000	100	88	100
20000	98	83	100
10000	98	78	100
5000	98	68	98
3500	95	53	98
2450	90	53	93
1710	83	58	80
1200	83	38	75
840	65	30	83

S probit analizo izračunana letalna koncentracija LC₅₀ je znašala pri ličinkah iz Beltincev 2.102,18 ppm (preglednica 8) in je presegla priporočeno koncentracijo 5000 ppm. Pri ostalih dveh populacijah (Kranj in Žužemberk) sta bili vrednosti LC₅₀ nižji (339,28 ppm in 380,56 ppm). Pri obeh populacijah tudi vrednosti LC₉₅ nista presegli priporočene koncentracije 5000 ppm, koeficient odpornosti pa pri nobeni ni presegel vrednosti 1, kar kaže na odsotnost rezistence pri teh dveh populacijah starejših ličink. Pri populaciji iz

Beltincev je bila izračunana vrednost LC_{95} zelo visoka (101.061,49 ppm). Iz te vrednosti izračunani koeficient odpornosti (20,22) kaže na zelo visoko stopnjo odpornosti. Vendar pa so zaradi dejstva, da tudi pri najvišji koncentraciji insekticida nismo dosegli 100 % smrtnosti (preglednica 7), izračunane meje zaupanja za LC_{95} zelo široke. Kljub vsemu pa lahko s 95 % verjetnostjo trdimo, da je LC_{95} najmanj 27.174,40 ppm (spodnja meja zaupanja) in KO 5,43, kar pomeni visoko stopnjo odpornosti starejših ličink.

Preglednica 8: Občutljivost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) na insekticid klorpirifos, izražena z vrednostmi LC_{50} in LC_{95}

Table 8: Susceptibility level of ould larvae of Colorado potato beetle (L3/L4) to Chlorpyrifos, expressed in LC_{50} in LC_{95}

Letalne koncentracije	Kranj	Beltinci	Lipovec / Žužemberk
LC_{50} (ppm) (meje zaupanja)	339,28 (0,47-847,04)	2.102,18 (637,30-4.026,35)	380,55 (0,02-854,56)
LC_{95} (ppm) (meje zaupanja)	4.877,91 (2.527,88-171.737,09)	101.061,49 (27.174,40-9.351.731,07)	3.310,74 (1.883,22-383.307,89)
Koeficient odpornosti (KO)	0,99	5,43*	0,66

* izračun iz spodnje meje zaupanja

4.1.3 Odrasli hrošči

Insekticid klorpirifos je v priporočeni koncentraciji (5000 ppm) pri odraslih hroščih iz Komende in Dorfarjev povzročil 98-odstotno oziroma 100-odstotno smrtnost, pri hroščih iz Cerkelj in Ljubljane 60-odstotno in iz Domžal 50-odstotno smrtnost. Pri populacijah iz Cerkelj, Domžal in Ljubljane tudi pri najvišji uporabljeni koncentraciji (20.000 ppm oz. 40.000 ppm) nismo ugotovili 100-odstotne smrtnosti (zaradi premalo hroščev v Cerkljah in Domžalah nismo mogli izvesti poskusa z najvišjo koncentracijo). Pri populacijah iz Komende in Dorfarjev je bila smrtnost hroščev tudi pri najnižji koncentraciji (840 ppm, kar je le 16,8 % od priporočenega odmerka) visoka, to je 88 % oziroma 93 %. Na podlagi zbranih podatkov o smrtnosti hroščev pri nobeni populaciji s probit analizo ni bilo mogoče izrisati celotne funkcijske krivulje odvisnosti smrtnosti hroščev od koncentracije. Posledično so tudi izračunane letalne koncentracije LC_{50} in LC_{95} premalo zanesljive, saj so meje zaupanja preširoke. Zato na podlagi analize smrtnosti hroščev nismo sklepali o obstoju odpornosti populacij na insekticid klorpirifos.

Preglednica 9: Smrtnost odraslih hroščev koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Dursban E-48 (klorpirifos), izražena v %

Table 9: Mortality of Colorado potato beetle adults at nine concentrations of insecticide Dursban E-48 (Chlorpyrifos), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Komenda	Cerklje/Krško	Domžale	Dorfarji	Ljubljana
40000	100	-	-	100	88
20000	100	80	70	100	78
10000	98	65	48	100	65
5000	98	60	50	100	60
3500	98	53	60	100	50
2450	95	85	50	93	38
1710	93	35	43	90	40
1200	90	45	43	90	45
840	93	25	33	88	35

O odpornosti koloradskega hrošča na klorpirifos lahko zanesljivo sklepamo le na podlagi rezultatov z ličinkami. V poskusu z mladimi ličinkami L1/L2 smo ugotovili nizko stopnjo odpornosti pri populaciji iz Žužemberka (KO=1,79) in srednjo pri populaciji iz Krškega (KO=2,47). V poskusu s starejšimi ličinkami pa je bila visoka stopnja odpornosti ugotovljena pri populaciji iz Beltincev (KO=5,43).

Preglednica 10: Koeficient (KO) in klasifikacija odpornosti populacij ličink koloradskega hrošča na insekticid klorpirifos

Table 10: Resistance coefficient (RC) and resistance classification of populations of Colorado potato beetle for chlorpyrifos

Razvojni stadij	Populacija	KO	Razvrstitev
L1/L2	Lipovec/Žužemberk	1,79	nizka
	Cerklje/Krško	2,47	srednja
L3/L4	Kranj	0,99	ni odpornosti
	Beltinci	5,43*	visoka
	Lipovec/Žužemberk	0,66	ni odpornosti

* izračun na podlagi spodnje meje zaupanja

4.2 OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA LAMBDA-CIHALOTRIN

4.2.1 Mlade ličinke (L1/L2)

Smrtnost mladih ličink je bila pri koncentraciji 320 ppm, ki ustreza priporočenemu odmerku insekticida, razmeroma nizka, in sicer od 40-odstotna do 75-odstotna.

Preglednica 11: Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon 5 CS (lambda-cihalotrin), izražena v %

Table 11: Mortality of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) at nine concentrations of insecticide Karate Zeon 5 CS (Lambda-cyhalothrin), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Kranj	Komenda	Vrhovo/Sevnica	Lipovec/Žužemberk	Cerklje/Krško	Krasinec/Črnomelj	Domžale
2560	100	98	100	85	100	100	100
1280	95	90	90	68	88	90	90
640	88	78	83	43	63	78	80
320	75	58	70	40	48	65	65
220	65	55	68	23	35	60	55
160	53	53	60	15	33	58	63
110	60	53	55	25	35	60	50
80	58	63	55	-	15	60	53
50	50	60	50	23	18	53	48

Preglednica 12: Občutljivost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC₅₀ in LC₉₅

Table 12: Susceptibility level of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) to Lambda-cyhalothrin, expressed in LC₅₀ in LC₉₅

Letalne koncentracije	Kranj	Komenda	Vrhovo / Sevnica
LC ₅₀ (ppm) (meje zaupanja)	73,96 (17,65-133,69)	68,70 (3,06-156,03)	73,28 (13,06-140,97)
LC ₉₅ (ppm) (meje zaupanja)	1.720,16 (681,02-34.123,76)	7.107 (1.491,62-32.219.678,05)	2.551,38 (871,01-116.983,40)
Koeficient odpornosti (KO)	5,37	4,66*	7,98
	Cerklje / Krško	Krasinec / Črnomelj	Domžale
LC ₅₀ (ppm) (meje zaupanja)	285,95 (181,95-466,96)	67,73 (6,22-142,64)	90,98 (22,32-168,70)
LC ₉₅ (ppm) (meje zaupanja)	3.038,82 (1.363,14-17.516,47)	3.997,01 (1.101,08-1.084.121,90)	3.065,70 (1.018,98-128.382,38)
Koeficient odpornosti (KO)	9,48	3,44*	9,57

* izračun iz spodnje meje zaupanja

Populacije ličink iz Kranja, Sevnice, Krškega, Črnomlja in Domžal so 100-odstotno smrtnost dosegle šele pri osemkratniku priporočene koncentracije (2560 ppm), medtem ko pri ličinkah iz Komende in Žužemberka 100-odstotna smrtnost ni bila dosežena niti pri najvišjih uporabljenih koncentracijah.

Izračunane letalne koncentracije LC_{50} so znašale pri mladih ličinkah od 67,73 ppm do 90,98 ppm, pri populaciji iz Cerkelj pri Krškem je bila ta vrednost 285,95 ppm, pri populaciji iz Žužemberka pa celo 584,52 ppm. Pri tej populaciji ni bil mogoč izris celotne funkcijske krivulje in izračun letalne vrednosti LC_{95} , ker 100 % smrtnost v poskusu ni bila dosežena. Sicer pa so letalne koncentracije LC_{95} pri vseh populacijah presegle priporočeno koncentracijo (320 ppm). Izračunani koeficient je pokazal visoko stopnjo odpornosti mladih ličink na insekticid lambda-cihalotrin pri vseh populacijah (preglednica 12), pri ličinkah iz Komende in Črnomlja celo zelo visoko. Vendar so meje zaupanja pri teh dveh populacijah zelo široke. Ob upoštevanju spodnje meje zaupanja lahko s 95-odstotno zanesljivostjo trdimo, da je odpornost v Komendi in Črnomlju najmanj srednje stopnje. Tudi za populacijo iz Žužemberka lahko na podlagi primerjave vrednosti LC_{50} sklepamo na visoko stopnjo odpornosti.

4.2.2 Starejše ličinke (L3/L4)

Insekticid lambda-cihalotrin je v priporočeni koncentraciji (320 ppm) pri starejših ličinkah pokazal nizko stopnjo toksičnosti, saj je povzročil le 50-odstotno do 83-odstotno smrtnost.

Preglednica 13: Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon 5 CS (lambda-cihalotrin), izražena v %
Table 13: Mortality of old larvae of Colorado potato beetle (L3/L4) at nine concentrations of insecticide Karate Zeon 5 CS (Lambda-cyhalothrin), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Kranj	Beltinci	Lipovec/ Žužemberk
2560	100	93	80
1280	98	88	73
640	90	75	63
320	83	73	50
220	75	68	30
160	63	68	43
110	63	68	33
80	65	68	43
50	55	45	28

V Kranju je bila 100-odstotna smrtnost ličink dosežena šele pri 800-odstotni koncentraciji (2560 ppm), medtem ko pri ličinkah iz Beltincev in Žužemberka tudi najvišja koncentracija insekticida ni bila smrtna za vse žuželke.

Preglednica 14: Občutljivost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC₅₀ in LC₉₅

Table 14: Susceptibility level of old larvae of Colorado potato beetle (L3/L4) to Lambda-cyhalothryn, expressed in LC₅₀ in LC₉₅

Letalne koncentracije	Kranj	Beltinci	Lipovec / Žužemberk
LC ₅₀ (ppm) (meje zaupanja)	52,90 (7,55-101,44)	45,34 (0,22-120,57)	297,89 (121,17-833,11)
LC ₉₅ (ppm) (meje zaupanja)	1.140,36 (485,17-22.631,35)	6.861,91 (1.355,64-399.641966,02)	29.008,59 (4.349,86-84.034,807,97)
Koeficient odpornosti (KO)	3,57	4,2*	13,5*

* izračun iz spodnje meje zaupanja

S probit analizo izračunane letalne vrednosti LC₅₀ znašajo od 45,34 ppm (Beltinci) do 297,89 ppm (Žužemberk), koncentracije LC₉₅ pa od 1.140,36 ppm (Kranj) do 29.008,59 ppm (Žužemberk). Koeficient odpornosti v Kranju kaže na srednjo stopnjo odpornosti (KO=3,57), vrednosti pri Beltincih in Žužemberku pa na zelo visoko stopnjo. Vendar so tudi pri teh dveh populacijah meje zaupanja za LD₉₅ zelo široke, ker v poskusu nismo dosegli 100 % smrtnosti pri najvišji uporabljeni koncentraciji. Kljub temu pa lahko s 95-odstotno verjetnostjo trdimo (če za LD₉₅ upoštevamo spodnjo mejo zaupanja), da je populacija iz Beltincev vsaj srednje odporna, populacija iz Žužemberka pa zelo odporna na insekticid lambda-cihalotrin.

4.2.3 Odrasli hrošči

Insekticid lambda-cihalotrin je pri odraslih hroščih pokazal nizko stopnjo toksičnosti. V priporočeni koncentraciji (320 ppm) je povzročil le od 13-odstotno do 53-odstotno smrtnost žuželk. Tudi pri najvišji uporabljeni koncentraciji insekticida nismo dosegli 100-odstotne smrtnosti hroščev pri nobeni od analiziranih populacij. Najvišjo smrtnost smo pri koncentraciji 2560 ppm dosegli pri hroščih iz Dorfarjev (90 %) in iz Ljubljane (88 %).

Preglednica 15: Smrtnost odraslih osebkov koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Karate Zeon 5 CS (lambda-cihalotrin), izražena v %

Table 15: Mortality of Colorado potato beetle adults at nine concentrations of insecticide Karate Zeon 5 CS (Lambda-cyhalothrin), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Komenda	Cerklje/Krško	Domžale	Vrhovo/Sevnica	Lipovec/Žužemberk	Dorfarji	Ljubljana
2560	65	50	73	57	60	90	88
1280	50	40	68	55	38	88	80
640	40	33	33	53	33	70	65
320	18	30	35	18	13	53	53
220	18	28	30	18	28	38	20
160	8	15	30	18	25	28	35
110	18	18	8	23	15	40	18
80	5	18	13	18	15	13	18
50	8	8	13	5	3	5	13

Preglednica 16: Občutljivost odraslih osebkov koloradskega hrošča na insekticid lambda-cihalotrin, izražena z vrednostmi LC₅₀ in LC₉₅

Table 16: Susceptibility level of Colorado potato beetle adults to Lambda-cyhalothrin, expressed in LC₅₀ in LC₉₅

Letalne koncentracije	Dorfarji	Ljubljana
LC ₅₀ (ppm) (meje zaupanja)	308,20 (200,66-499,53)	381,20 (240,41-677,20)
LC ₉₅ (ppm) (meje zaupanja)	3.157,09 (1.499,19-16.493,42)	5.082,01 (2.033,04-39.239,24)
Koeficient odpornosti (KO)	9,87	15,87

Izračunane letalne vrednosti LC₅₀ znašajo za hrošče od 308,20 ppm (Dorfarji) do 2.476,74 ppm (Cerklje pri Krškem). Ker smo se v poskusu približali 100-odstotni smrtnosti hroščev le pri populacijah Dorfarji in Ljubljana, so izračunane koncentracije LC₉₅ podane le za ti dve populaciji. Pri ostalih namreč ni bil mogoč izris celotne funkcijske krivulje in so zato meje zaupanja izračunanih vrednosti preširoke. V Dorfarjih znaša vrednost LC₉₅ 3.157,00 ppm, v Ljubljani pa 5082,01 ppm, oboje visoko nad priporočeno koncentracijo 320 ppm,

Koeficient odpornosti za Dorfarje kaže na visoko stopnjo odpornosti koloradskega hrošča na lambda-cihalotrin (KO=9,87), za Ljubljano pa na zelo visoko stopnjo odpornosti (KO=15,87). Sodeč po vrednostih LC₅₀, ki so bile pri vseh lokacijah višje v primerjavi z Ljubljano in Dorfarji, lahko sklepamo, da so hrošči na teh lokacijah še manj občutljivi na lambda-cihalotrin, da je torej stopnja odpornosti še višja.

Preglednica 17: Koeficient (KO) in klasifikacija odpornosti populacij koloradskega hrošča na insekticid lambda-cihalotrin

Table 16: Resistance coefficient (RC) and resistance classification of Colorado potato beetle populations for Lambda-cyhalothryn

Razvojni stadij	Populacija	KO	Razvrstitev
L1/L2	Kranj	5,37	visoka
	Komenda	4,66*	srednja
	Vrhovo / Sevnica	7,98	visoka
	Cerklje / Krško	9,48	visoka
	Krasinec / Črnomelj	3,44*	srednja
	Domžale	9,57	visoka
L3/L4	Kranj	3,57	srednja
	Beltinci	4,2*	srednja
	Lipovec / Žužemberk	13,5	zelo visoka
H	Dorfarji	9,87	visoka
	Ljubljana	15,87	zelo visoka

4.3 OBČUTLJIVOST KOLORADSKEGA HROŠČA NA IMIDAKLOPRID

4.3.1 Mlade ličinke (L1/L2)

Pri mladih ličinkah smo ugotovili visoko stopnjo toksičnosti insekticida imidakloprid. Smrtnost žuželk je bila pri vseh populacijah 100-odstotna, tudi pri najnižji uporabljeni koncentraciji, 21 ppm (preglednica 18).

Preglednica 18: Smrtnost mladih ličink koloradskega hrošča (L1/L2) pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidakloprid), izražena v %

Table 18: Mortality of young larvae of Colorado potato beetle (L1/L2) at nine concentrations of insecticide Confidor SL 20 (Imidacloprid), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Kranj	Komenda	Vrhovo / Sevnica	Lipovec / Žužemberk	Cerklje / Krško	Krasinec / Črnomelj
1000	100	100	100	100	100	100
500	100	100	100	100	100	100
250	100	100	100	100	100	100
125	100	100	100	100	100	100
87	100	100	100	100	100	100
61	100	100	100	100	100	100
43	100	100	100	100	100	100
30	100	100	100	100	100	100
21	100	100	100	100	100	100

4.3.2 Starejše ličinke (L3/L4)

Tudi starejše ličinke koloradskega hrošča so pokazale veliko občutljivost na insekticid imidakloprid. Pri populaciji iz Kranja je bila smrtnost žuželk najmanj 98-odstotna, pri populaciji iz Beltincev pa najmanj 95-odstotna. Probit analiza in izračun letalnih koncentracij ni bila smiselna.

Preglednica 19: Smrtnost starejših ličink koloradskega hrošča (L3/L4) pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidakloprid), izražena v %

Table 19: Mortality of young larvae of Colorado potato beetle (L3/L4) at nine concentrations of insecticide Confidor SL 20 (Imidacloprid), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Kranj	Beltinci
1000	100	100
500	100	100
250	100	100
125	100	100
87	98	100
61	98	100
43	98	100
30	98	95
21	98	98

4.3.3 Odrasli hrošči

Insekticid imidakloprid je pokazal veliko stopnjo toksičnosti tudi za odrasle osebe koloradskega hrošča.

Preglednica 20: Smrtnost odraslih osebkov koloradskega hrošča pri devetih koncentracijah insekticida Confidor SL 20 (imidakloprid), izražena v %

Table 20: Mortality of Colorado potato beetle adults at nine concentrations of insecticide Confidor SL 20 (Imidacloprid), expressed in %

Koncentracija (ppm)	Komenda	Cerklje / Krško	Domžale	Ljubljana
1000	100	100	100	100
500	100	100	100	100
250	100	100	100	100
125	100	100	100	100
87	100	100	100	100
61	100	100	100	98
43	100	95	100	93
30	100	98	100	80
21	95	95	100	93

Pri vseh populacijah je bila smrtnost hroščev pri priporočeni poljski koncentraciji 125 ppm 100-odstotna. Najnižja smrtnost (80-odstotna) je bila dosežena pri populaciji iz Ljubljane pri koncentraciji 30 ppm. Glede na dobljene podatke o smrtnosti nadaljnja obdelava s probit analizo ni smiselna.

Trdimo lahko, da ima insekticid imidakloprid iz skupine neonikotinoidov visoko stopnjo strupenosti za vse razvojne stadije koloradskega hrošča. Učinkovitost insekticida je bila odlična tudi pri najnižji uporabljeni koncentraciji.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Odpornost škodljivih organizmov na fitofarmacevtska sredstva (FFS) predstavlja veliko težavo v varstvu rastlin, še zlasti pri tistih organizmih, katerih zatiranje je mogoče le s FFS. Tudi zmanjševanje škodljivosti koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*) še vedno v največji meri temelji na uporabi sintetičnih insekticidov, kljub temu, da je mnogo raziskav v svetu in tudi pri nas namenjenih iskanju raznih alternativnih načinov njegovega zatiranja (Trdan in sod., 2007, 2009; Rojht in Trdan 2009; Laznik in sod., 2010). Eden od razlogov za potrebo po drugačnih načinih zatiranja koloradskega hrošča je njegova velika sposobnost prilagajanja različnim okoljskim razmeram, tudi insekticidom. Koloradski hrošč je namreč škodljivec, ki je na različnih območjih sveta, po določenem času uporabe, razvil odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov (Forgash, 1985; Wegorek, 2005; Alyokhin, 2009). Tudi v naši raziskavi so populacije koloradskega hrošča iz različnih območij Slovenije izkazale visoko stopnjo odpornosti na insekticid lambda-cihalotrin iz skupine piretroidov ter določeno stopnjo odpornosti na organski fosforjev ester klorpirifos.

Na obstoj odpornosti žuželk na insekticid lahko sklepamo takrat, kadar žuželke preživijo tudi po tem, ko so bile izpostavljene insekticidu v priporočeni koncentraciji. V laboratorijskih razmerah smo preživetje žuželk po izpostavljenosti priporočeni koncentraciji insekticida lambda-cihalotrin ugotovili pri vseh preučevanih populacijah in pri vseh treh razvojnih stadijih (mlade ličinke, starejše ličinke, odrasli hrošči). S tem smo potrdili našo prvo hipotezo. Pri ličinkah so bile letalne koncentracije LC_{50} med 45,34 ppm in 297,89 ppm, LC_{95} pa vsaj 1.720,16 ppm in več, kar je precej nad priporočeno koncentracijo 320 ppm. Še manjša občutljivost na insekticid je bila opazna pri odraslih osebkih koloradskega hrošča, kar dokazujejo tudi višje izračunane letalne koncentracije. Pri hroščih iz Dorfarjev je bila vrednost LC_{50} 381,20 ppm, LC_{95} pa 3157,09 ppm. Manjša občutljivost odraslih hroščev na insekticide je pričakovana. Hroščev običajno ne zatiramo z insekticidi razen v izjemnih primerih, zatiramo ličinke, ki so bolj občutljive na insekticide.

Tudi pri insekticidu klorpirifos je bila smrtnost žuželk po tem, ko smo jih izpostavili priporočenemu odmerku, pri nekaterih populacijah nižja od 100 %, kar kaže na možnost obstoja odpornosti. Največja strupenost klorpirifosa je bila opazna pri mladih ličinkah, kjer je bilo preživetje žuželk najmanjše. Izračunana letalna koncentracija LC_{50} je bila pri populaciji iz Žužemberka 892,06 ppm in iz Krškega 1.212,23 ppm, LC_{95} pa 8.927,48 in 12.355,93 ppm. Glede na priporočeno koncentracijo 5000 ppm je bila izkazana stopnja odpornosti nizka do srednja. Pri starejših ličinkah je bila pri eni populaciji (Beltinci) izražena visoka stopnja odpornosti. Takšni rezultati potrjujejo našo tretjo raziskovalno hipotezo. Insekticid klorpirifos je v priporočeni koncentraciji 5000 ppm pri odraslih hroščih povzročil od 50-odstotno do 100-odstotno smrtnost v laboratorijskih razmerah. Podatki o smrtnosti hroščev so bili zelo raznoliki in v nekaterih primerih nelogični, zato stopnje odpornosti nismo mogli izračunati. Vendar ne glede na to, je zadovoljivo delovanje insekticida klorpirifos mogoče pričakovati le pri rabi proti mladim ličinkam koloradskega hrošča.

Insekticid imidakloprid je izkazal veliko strupenost za koloradskega hrošča pri vseh populacijah, ki so bile vključene v raziskavo. V laboratorijskih razmerah je povzročil visoko smrtnost žuželk pri vseh uporabljenih koncentracijah in vseh razvojnih stadijih koloradskega hrošča (mlade ličinke L1/L2, starejše ličinke L3/L4 in odrasli osebk). S tem smo potrdili drugo hipotezo, saj smo ugotovili značilne razlike med insekticidi v stopnji odpornosti.

Takšni rezultati do bili deloma pričakovani. Sintetični piretroidi so bili pri nas v uporabi že konec osemdesetih let prejšnjega stoletja, tudi za zatiranje koloradskega hrošča (Maček in Kač, 1990). Trenutno je za njegovo zatiranje registriranih devet pripravkov iz te skupine na podlagi štirih aktivnih snovi (piretrin, beta-ciflutrin, lambda-cihalotrin in tau-fluvalenat) (FITO-INFO, 2014). Tudi potrditev odpornosti koloradskega hrošča na insekticid klorpirifos je pričakovana, saj so se organski fosforjevi estri za zatiranje koloradskega hrošča uporabljali približno trideset let. Pred nekaj leti je bil klorpirifos zaradi toksikoloških lastnosti v Sloveniji umaknjen iz prometa.

V zadnjih letih so proti koloradskemu hrošču najbolj učinkoviti neonikotinski pripravki, ki jih pridelovalci tudi največ uporabljajo. Trenutno je pri nas registriranih pet pripravkov iz te skupine na podlagi štirih aktivnih snovi; to so Actara 25 WG (a.s. tiametoksam), Calypso SC 480 (tiakloprid), Mospilan 20 SG (a.s. acetamiprid), Naprid 200 SC in Mido SL 200 (a.s. imidakloprid). Zaradi odlične učinkovitosti jih pridelovalci krompirja zadnja leta tudi najpogosteje uporabljajo. Po raziskavi (Urek in sod., 2012) so v letih 2009 in 2010 pridelovalci krompirja v Sloveniji v povprečju opravili 1,2 škropljenji proti koloradskemu hrošču. V 90,9 % škropljenj je bil uporabljen eden od neonikotinskih insekticidov, največkrat tiametoksam. Kljub trenutno dobri učinkovitosti je tudi pri neonikotinoidih razvoj odpornosti verjeten, o čemer so v tujini že poročali (Olson in sod., 2000; Zhao in sod., 2000; Alyokhin in sod., 2007). Zato si je treba prizadevati za čim bolj dolgo »zadrževanje« pojava odpornosti. Odlična učinkovitost neonikotinskih insekticidov ne bi smela zavesti pridelovalcev k enostranski uporabi omenjenih sredstev. Eden od pglavitnih ukrepov za preprečevanje (zadrževanje) pojavov odpornosti je izmenična raba insekticidov iz različnih skupin oz. z različnimi mehanizmi delovanja in zatiranje škodljivcev v mladih razvojnih stadijih, ko so le ti najbolj občutljivi (IRAC: Resistance: The facts ... 2014). Preprečevanje razvoja odpornosti škodljivih organizmov na FFS je nenazadnje tudi eden od glavnih načel integriranega varstva rastlin (Urek in sod., 2013).

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata*) je najpomembnejši škodljivec krompirja, zato je njegovo zatiranje obvezen agrotehnični ukrep, vendar si obvladovanja tega škodljivca brez kemičnega varstva z insekticidi ne moremo zamisliti. Koloradski hrošč je eden izmed škodljivcev, ki ga odlikuje izjemna sposobnost prilagajanja razmeram v okolju, tudi insekticidom. Razvil je odpornost proti vsem skupinam sintetičnih insekticidov. Problem odpornosti na fitofarmacevtska sredstva je v varstvu rastlin vse večji, zato smo se odločili, da raziščemo stanje pri populacijah koloradskega hrošča v Sloveniji.

V letih 2006 in 2007 smo izvajali poskuse, v katerih smo ugotavljali občutljivost populacij koloradskega hrošča na tri insekticide, ki so bili takrat pri nas registrirani za zatiranje tega škodljivca. Poskusi so potekali v laboratoriju Oddelka za varstvo rastlin na Kmetijskem inštitutu Slovenije. V raziskavo smo vključili insekticide iz različnih kemičnih skupin z različnimi mehanizmi delovanja: organski fosforjev ester klorpirifos v komercialnem pripravku Dursban E- 48, s 480 g/l aktivne snovi, sintetični piretroid lambda-cihalotrin v komercialnem pripravku Karate Zeon 5 CS, s 5 % aktivne snovi, in imidakloprid iz skupine neonicotinoidnih insekticidov, v komercialnem pripravku Confidor 200 SL, z 20 % aktivne snovi. V raziskavo smo vključili osebke koloradskega hrošča iz Gorenjske, Dolenjske, Bele krajine, Prekmurje, Posavja in okolice Ljubljane, v različnih razvojnih stadijih, to je ličinke v prvi oz. drugi larvalni stopnji (L1/L2), ličinke v tretji oz. četrti larvalni stopnji (L3/L4) in odrasle osebke (hrošče). Žuželke smo izpostavili desetim različnim koncentracijam insekticidov, od 0 % (kontrola) do 800 %. 100-odstotna koncentracija je bila enaka priporočenemu odmerku pripravka (l/ha) po navodilih proizvajalca ob porabi vode 400 l/ha. Po 48 urah smo ovrednotili smrtnost žuželk. Iz podatkov o mrtvih in preživelih osebkih smo izračunali smrtnost žuželk v % po Abbottovi formuli za vsako koncentracijo insekticida. Podatke o smrtnosti žuželk smo statistično obdelali s probit analizo in izračunali letalne koncentracije LC_{50} in LC_{95} pri 95-odstotni meji zaupanja. Letalne koncentracije LC_{95} smo primerjali s priporočenimi koncentracijami insekticidov in izračunali koeficiente odpornosti (KO).

Odpornost žuželk na insekticid lambda-cihalotrin smo ugotovili pri vseh populacijah koloradskega hrošča in pri vseh razvojnih stadijih. Mlade ličinke iz Kranja, Komende, Sevnice, Krškega in Domžal so izkazale visoko stopnjo odpornosti, starejše ličinke iz Kranja in Beltincev srednjo in iz Žužemberka zelo visoko stopnjo odpornosti, odrasli osebki iz Dorfarjev in Ljubljane pa visoko do zelo visoko stopnjo odpornosti.

Tudi pri insekticidu klorpirifos je bila izražena določena stopnja odpornosti koloradskega hrošča. Največja strupenost insekticida je bila opazna pri mladih ličinkah. Pri populaciji iz Žužemberka je bila izražena nizka stopnja odpornosti (KO=1,79), pri populaciji iz Krškega pa srednja stopnja odpornosti (KO=2,47). Pri starejših ličinkah smo visoko stopnjo odpornosti ugotovili pri populaciji iz Beltincev.

Insekticid imidakloprid pa je izkazal visoko stopnjo strupenosti za vse populacije koloradskega hrošča. Smrtnost mladih žuželk je bila povsod 100 %, celo pri najnižji uporabljeni koncentraciji, ki je znašala le 16,8 % od priporočene koncentracije. Pri starejših ličinkah je bila najnižja smrtnost 95 %, pri odraslih hroščih pa 80 %. Kljub trenutno dobri učinkovitosti pa lahko tudi pri neonikotinskih insekticidih pričakujemo razvoj odpornosti. Zaradi odlične učinkovitosti so insekticidi iz te skupine v zadnjih letih pri nas najpogosteje uporabljeni za zatiranje koloradskega hrošča. Vendar je ravno enostranska raba snovi z istim mehanizmom delovanja najpomembnejši razlog za razvoj odpornosti. Eden od pglavitnih ukrepov za preprečevanje (zadrževanje) pojavov odpornosti je izmenična raba insekticidov iz različnih skupin oz. z različnimi mehanizmi delovanja in zatiranje škodljivcev v mladih razvojnih stadijih, ko so le ti najbolj občutljivi. Preprečevanje razvoja odpornosti je eden od osnovnih načel integriranega varstva rastlin pred škodljivimi organizmi, ki je z letom 2014 in novo evropsko zakonodajo postal standardni način varstva rastlin.

6.2 SUMMARY

Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) is the most important pest of potato and its control is an obligatory agrotechnical measure - without chemical control and using insecticides this is unimaginable. Colorado potato beetle is one of the pests which is characterized by exceptional capability to adapt to the environment and also insecticides. It developed against all groups of synthetic insecticides. Problem of pest resistance to plant protection products is becoming bigger and bigger in the field of plant protection that is why we decided to investigate this situation in Colorado potato beetle populations in Slovenia.

In years 2006 and 2007 we conducted experiments in which we studied the susceptibility of Colorado potato beetle populations to three insecticides which we have registered for controlling this pest in Slovenia. The experiments were performed in the Laboratory of Plant Protection Department of Agricultural Institute of Slovenia. The research comprised insecticides from different chemical groups with different activity mechanisms: organophosphorus insecticide clorpyrifos (commercial product Dursban E- 48 with 480 g/l of active ingredient), a synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin (commercial product Karate Zeon 5 CS with 5 % of active ingredient), and imidacloprid from the group of neonicotinoid insecticides (commercial product Confidor 200 SL with 20 % of active ingredient). On the other side tested material were populations of Colorado potato beetle from different agricultural regions around Slovenia and in different developmental stages, namely from larva in the first and second growth stages (instars) (L1/L2), larvae in the third and fourth larval stages (L3/L4) and adults (beetles). We exposed insects to ten different insecticide concentrations, from 0 % (control) do 800 %. 100 % concentration was equal to product recommended dosage (l/ha) according to manufacturer instructions and with the water usage of 400 l/ha. After 48 hours we evaluated the insects mortality. From data on dead and survived individuals we calculated insect mortality in % according to Abbott's formula for each insecticide concentration. Insect mortality data were

statistically evaluated with Probit analysis and lethal concentrations of LC50 and LC95 at 95 % confidence interval were calculated. We compared lethal concentrations LC95 with recommended insecticide concentrations and counted up the coefficient of resistance (CR).

Resistance of insects to insecticide lambda-cyhalothrin was determined at all populations of Colorado potato beetle and in all developmental stages. Young larvae from Kranj, Komenda, Sevnica, Krško and Domžale showed higher level of resistance, older larvae from Kranj and Beltinci middle and from Žužemberk very high level of resistance and adult beetles from Dorfarji and Ljubljana showed high to very high level of resistance.

Also when insecticide clorpyrifos was applied a characteristic level of resistance by Colorado potato beetle was asserted. The highest toxicity of insecticide was noticed at young larvae. In population from Žužemberk a low level of resistance was expressed (CR=1.79) and in population from Krško a middle level (CR=2.47) has shown. In older larvae a high level resistance only was determined in Beltinci population.

On the other hand insecticide imidacloprid proved to have the highest level of toxicity for all populations of Colorado potato beetle. Mortality of young insects was 100 % in all treatments, also at the lowest concentration which amounted only 16.8 % of the recommended one. In older larvae the lowest mortality was 95 % and in adult beetles 80 %. Despite the momentary satisfying efficacy we can expect also in neonicotinoid insecticides the development of resistance. Due to excellent efficacy the insecticides from this group are in the last years and in Slovenia the most frequently used to control Colorado potato beetle. But just one-sided application of ingredient with the same control mechanism is the most important reason for the development of resistance. One of the principal measure to prevent (to hold back) the occurrence of resistance is alternating usage of insecticides from different groups or with different activity mechanism in controlling pests in juvenile developmental stages when they are the most susceptible. The prevention of resistance development is one of the basic principle in integrated plant protection programme against pest organisms and which became from year 2014 and with new European legislation a standard procedure for plant protection.

7 VIRI

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267
- Alyokhin A. 2009. Colorado potato beetle management on potatoes: current challenges and future prospects. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 3: 10-19
- Alyokhin A., Dively G., Patterson M., Castaldo C., Rogers D., Mahoney M., Wollam J. 2007. Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiametoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pesticide Management Science*, 63: 32-41
- Alyokhin A., Baker M., Mota-Sanchez D., Dively G., Grafius E. 2008. Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85: 395-413
- Alyokhin A., Udalov M., Benkovskaya G. 2012. Biology of major pests. Colorado potato beetle. V: *Insect pests of potato: global perspectives on biology and management*. Gordanengo F., Vincent C., Alyokhin A. (ur.). Academic Press: 616 str.
[http://www.amazon.com/Insect-Pests-Potato-Perspectives Management/dp/0123868955](http://www.amazon.com/Insect-Pests-Potato-Perspectives-Management/dp/0123868955) (19. mar. 2014)
- Arthropod pesticide resistance database.
<http://www.pesticideresistance.com/> (11. nov. 2011)
- Bellinger R.G. 1996. Pest resistance to pesticides. Department of Entomology. Clemson University.
ipm.ncsu.edu/safety/factsheets/resistan.pdf (26. Mar. 2014)
- Berry R. E., Liu J., Reed G. 1997. Comparison of endemic and exotic entomopathogenic nematode species for control of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 90: 1528-1533
- Bhar L. Probit analysis
http://iasri.res.in/ebook/EB_SMAR/e-book_pdf%20files/Manual%20IV/9-Probit-Analysis.pdf (17. mar. 2014)
- Boiteau G., Le Blanc JP. 1992. Colorado potato beetle: life stages. Agriculture Canada Publication 1878/E.
http://res2.agr.ca/fredericton/stud/3500/biocpb_e.htm (5. jan. 2006)
- Casagrande R. A. 1987. The Colorado potato beetle: 125 years of mismanagement. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 33: 142-150
- Devine J.G., Denholm I. 2003. Insecticide and acaricide resistance. V: *Encyclopedia of insects*. Resh V.H. in Carde R.T.(eds.). Academic Press: 569-576

- Dolničar P., Pajmon A. 1998. Odpornost koloradskega hrošča na insekticide. V: Zbornik referatov, Novi izzivi v poljedelstvu. Tajnšek A. (ur.). Ljubljana, Slovensko gronomsko društvo: 225- 229
- EPPO. 2014. Data sheets on quarantine pests: *Leptinotarsa decemlineata*.
https://www.eppo.int/QUARANTINE/insects/Leptinotarsa_decemlineata/LPTNDE_ds.pdf (12. mar. 2014)
- Ferro D. N., Logan J. A., Voss R.H., Elkinton J. S. 1985. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) temperature-dependent growth and feeding rates. *Environmental Entomology*, 14: 343-348
- FITO-INFO: Slovenski informacijski sistem za varstvo rastlin. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin.
<http://www.fito-info.si> (15. jan. 2014)
- Fishel F. 2009. Pest management and the pesticides: a historical perspective. Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Science. University of Florida.
<http://edis.ifas.ufl.edu/pi219> (15. jan 2014)
- Forgash A.J. 1984. History, evolution and consequences of insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22:178-186
- Forgash A. J. 1985. Insecticide resistance in the Colorado potato beetle. V: Proceedings of the Symposium on the Colorado Potato Beetle, 17th International Congress of Entomology. D. N. Ferro in R. H. Voss (ur.). Massachusetts Experiment Station, Amherst, University of Massachusetts, MA: 33-35
- French N.M., Heim D.C., Kennedy G.G. 1992. Insecticide resistance patterns among Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), populations in North Carolina. *Pesticide Science*, 36: 95-100
- Grafius E. 1986. Effect of temperature of pyrethroid toxicity to Colorado potato beetle (Coleoptera, Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 79: 588-591
- Hare D. J. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35: 81-100
- Heim D.C., Kennedy G.G., Duyn J.W. 1990. Survey of insecticide resistance among north carolina colorado potato beetle (Coleoptera, Chrysomelidae) populations. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1229-1235
- Hoy C.W., Head G. 1995. Correlation between behavioral and physiological responses to

transgenic potatoes containing *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin in *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 88: 480- 486

Hrzič A. 1967. Pokusi sa lindanskim preparatima na ličinke krumpirove zlatice. Letno poročilo. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 18 str.

Indić D., Vuković S., Tanasković S., Grahovac M., Kereši T., Gvozdenc S., Savičić Petrić S. 2012. Screening test for detection of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) sensitivity to insecticides. *Pesticides and Phytomedicine*, 27, 1: 59-67

Ioannidis P.M., Grafius E., Whalon M.E. 1991. Patterns of insecticide resistance to azinphosmethyl, carbofuran and permethrin in the Colorado potato beetle (Coleoptera, Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 84: 1417-1423

IRAC: Resistance management for sustainable agriculture and improved public health.
<http://www.irc-online.org/> (15. okt. 2011)

IRAC: MoA Classification Scheme, Version 7.3
<http://www.irc-online.org/documents/moa-classification/?ext=pdf> (26. feb. 2014)

IRAC: The facts – History & overview of resistance.
<http://www.irc-online.org/content/uploads/Resistance-The-Facts.pdf> (20. jan. 2014)

Janežič F. 1951. Varstvo rastlin pred boleznimi in škodljivci. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 329 str.

Jörg E. 1998. Colorado potato beetle control – loss of insecticide efficacy. *Kartoffelbau*, 49: 172-174

Jörg E., Wegorek P. 2003. Colorado potato beetle – insecticide resistance in Germany and Poland. *Kartoffelbau*, 54: 235-237

Jörg E. 2004. »Problematika odpornosti kolodarskega hrošča na insekticide«. Bad Kreuznach, ZEPP (osebni vir, maj, 2004)

Jörg E., Racca P., Preiss U., Butturini A., Schmiedl J., Wojtowicz A. 2007. Control of Colorado potato beetle with the SIMLEP decision support system. *EPPO Bulletin*, 37: 353-358

Karagac U.S. 2012. Insecticide resistance. V: *Insecticides – advances in integrated pest management*. Perveen F. (ur.). Rijeka, InTech: 469-478
<http://www.interchopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/insecticide-resistance> (25. jan. 2014)

- Kovačević Ž. 1947. Krumpirova zlatica. 2. izd. Mala poljoprivredna knjižnica. Zagreb, Poljoprivredni nakladni zavod: 92 str.
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan, S. 2010. Control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on potato under field conditions: a comparison of the efficacy of foliar application of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiametoxam. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 117, 3: 129-135.
- Liu Z., Han Z. Wang Y., Zhang L., Zhang H., Liu C. 2003. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms. *Pest Management Science*, 59, 12: 1355-1359
- Maceljki M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Čakovec, Zrinski: 517 str.
- Maceljki M. 2005. Rezistentnost koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) u Hrvatskoj. V: Zbornik predavanj in referatov 2. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 47-59
- Matsumura F. 2003. Insecticides. V: Encyclopedia of insects. Resh V.H. in Carde R.T. (ur.). Academic Press: 566-569
- Maček J., Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Ljubljana, Kmečki glas: 491 str.
- Melander A.L. 1914. Can insect become resistant to sprays? *Journal of Economic Entomology*, 7: 167-173
- Milevoj L. 1997. Učinkovitost zatiranja nekaterih parazitoidov za zatiranje listnih uši (Hom. Aphididae). V: Zbornik predavanj in referatov 3. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, 4-5. marec 1997, Portorož. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 207-213
- Milevoj L. 2011. Biotično zatiranje škodljivcev v zavarovanih prostorih. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in okolje. Ljubljana, Fitosanitarna uprava Republike Slovenije: 84 str.
- Morin S., Williamson M.S., Goodson S.J., Brown J.K., Tabashnik B.E., Dennehy T.J. 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32, 12: 1781-1791

- Olson E.R., Dively G.P., Nelson J.O. 2000. Baseline susceptibility to imidacloprid and cross resistance patterns in colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) populations. *Journal of Economic Entomology*, 93: 447-458
- Racca P., Jörg E., Preiß U., Wegorek P., Urbančič Zemljič M. 2006. Insektizidresistenz beim Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata* (SAY.)). V: 55. Deutsche Pflanzenschutztagung in Gottingen, 25-28. September 2006. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 2006: 77-78
- Resistance risk analysis. Guidelines for efficacy evaluation of plant protection products. 1999. *EPPO Bulletin*, 29: 325-347
- Rojht H., Trdan S. 2009. Vrednotenje repelentnih lastnosti izbranih rastlinskih izvlečkov z novo računalniško aplikacijo. V: Zbornik predavanj in referatov 9. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 419-423
- Roush R.T., Miller G.L. 1986. Consideration for design of insecticide resistance monitoring programs. *Journal of Economic Entomology*, 79: 293-298
- Roush R. T., Hoy C. W., Ferro D. N., Tingey W. M. 1990. Insecticide resistance in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Influence of crop rotation and insecticide use. *Journal of Economic Entomology*, 83: 315-319
- Scott J. G. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29: 757-777
- Schuler T. H., Martinez-Torres D., Thomson A. J., Denholm I., Devonshire A. L., Duce R. I., Williamson M. S. 1996. Characterisation of knockdown resistance to pyrethroid insecticides in *Plutella xylostella*. V: The management of diamondback moth and other crucifera pests. <http://web.entomology.cornell.edu/shelton/diamondbackmoth/pdf/1996papers/1996D BM36.pdf> (16. mar. 2014)
- Simončič A. 1997. Pojav in pomen odpornosti bele metlike (*Chenopodium album*) na atrazin v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 3. posvetovanja o varstvu rastlin, 4.-5. marec 1997, Portorož. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 363-368
- Simončič A. 2001. Odpornost srhodlakavega ščira na atrazin v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 5. posvetovanja o varstvu rastlin, 6.-8. marec 2001, Čatež ob Savi. Dobrovoljc D., Urek G. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 403
- Stanković J., Šestović M. 1983. Probit analiza i njena primena u toksikologiji. *Savremena poljoprivreda*, 31: 193-288

- Stanković S., Zabel A., Kostić M., Manojlović B., Rajković S. 2004. Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. *Journal of Pest Science*, 77: 11-15
- Tehnološka navodila za integrirano pridelavo poljščin. 2013. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.
http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/Kmetijstvo/Integrirana_pridelava/IPL-TN-2013_final_popravek_3.pdf (19. jan. 2014)
- Trdan S., Cirar A., Bergant K., Anjus L., Kač M., Vidrih M., Rozman L. 2007. Effect of temperature on efficacy of three natural substances to Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, 57, 4: 293-296
- Trdan S., Vidrih M., Andjus L., Laznik Ž. 2009. Activity of four entomopathogenic nematode species against different developmental stages of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Helminthologia*, 46: 14-20
- Trkulja V., Ivandija T., Marić Ivandija B. 2011. Sredstva za zaščito bilja. *Glasnik zaščite bilja*, 2-3: 1-284
- Urbančič Zemljič M., Jörg E., Racca P., Urek G., Trdan S. 2009. Ugotavljanje odpornosti koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say) v Sloveniji na izbrane insekticide. V: Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, 4.-5. marec 2009, Nova Gorica. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 425-429
- Urek G., Knapič M., Urbančič Zemljič M., Škerlavaj V., Simončič A., Persolj J., Rak Cizej M., Radišek S., Lešnik M. 2012. Raba fitofarmaceutskih sredstev in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 163 str.
- Urek G., Bolčič Tavčar M., Fras R., Jejčič V., Per M., Persolja J., Šarc L., Urbančič Zemljič M., Žerjav M. 2013. Temeljna načela dobre kmetijske prakse varstva rastlin in varne rabe fitofarmaceutskih sredstev. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, Uprava za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin, Sektor za fitofarmaceutska sredstva. Kmetijski inštitut Slovenije: 265 str.
- Vincent K. 2010. Probit analysis. The San Francisco State University. Dept. of Biology
<http://userwww.sfsu.edu/efc/classes/biol710/probit/ProbitAnalysis.pdf> (15. okt. 2011)
- Vrabl S. 1990. Varstvo kmetijskih rastlin pred boleznimi in škodljivci. Splošni del. Maribor, Višja agronomska šola: 115 str.

- Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Knjižica za pospeševanje kmetijstva. Ljubljana, Kmečki glas: 143 str.
- Weber D. C., Rowley D. L., Greenstone M. H., Athanas M. M. 2006. Prey preference and host suitability of the predatory and parasitoid carabid beetle, *Lebia grandis*, for several species of *Leptinotarsa* beetles. *Journal of Insect Science*, 6, 09: 1-14
- Wegorek P. 2005. Current status of resistance in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) to selected active substances of insecticides in Poland. *Journal of Plant Protection Research*, 45, 4: 309-319
- Wegorek P., Zamojska J., Mrowczynski M. 2011. Susceptibility level of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) to chlorpyrifos and acetamiprid in Poland and resistance mechanisms of the pest to chlorpyrifos. *Journal of Plant Protection Research*, 51, 3: 279-284
- Weisz R., Saunders M., Smilowitz Z., Huang H., Hirst B. 1994. Knowledge-based reasoning in integrated resistance management: The Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 87: 1384-1399
- Wierenga J. M., Hollingworth R.M. 1993. Inhibition of insect acetylcholinesterase by the potato glucoalkaloid-chaconine. *Natural Toxins*, 1: 96-99
- Wright, R. J. 1984. Evaluation of crop rotation for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in commercial potato fields on Long Island. *Journal of Economic Entomology*, 77: 1254-1259
- Wyman J. 2003. Managing insecticide resistance – the future of insect control in potatoes.
<http://www.pesticideresistance.org/search> (23.okt. 2011)
- Zehnder G. W., Hough-Goldstein J. 1990. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) population development and effects on yield of potatoes with and without straw mulch. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1982-1987
- Zhao J.Z., Bishop B.A., Grafius E.J. 2000. Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 93: 1508-1514

ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem mentorju, prof. dr. Stanislavu Trdanu, za pomoč, vzpodbude in nasvete pri izdelavi magistrske naloge.

Zahvaljujem se tudi dr. Erichu Jörgu in dr. Paulu Racca z inštituta ZEPP, za nasvete in pomoč pri analizi podatkov.

Za pomoč pri izvajanju poskusov se zahvaljujem sodelavcem na Kmetijskem inštitutu Slovenije.

Hvala tudi Andreju, otrokom, staršema in sestram za vzpodbude in podporo.

PRILOGA A

Probit analiza podatkov o smrtnosti odraslih osebkov koloradskega hrošča iz Dorfarjev v poskusu z različnimi koncentracijami insekticida lambda-cihalotrin.

Ocene parametrov modela

Parameter	Estimates	Standard deviation	Chi-square	Pr. > Chi-square
Intercept	-2,424	0,481	25,340	< 0.0001
Log(Conc. Ppm.)	1,628	0,322	25,618	< 0.0001

$P = \text{Probit}(-2.42356174116234 + 1.62783013898643 * \text{Log}(\text{Conc. Ppm.}))$

Ocena prilaganja regresijskega modela:

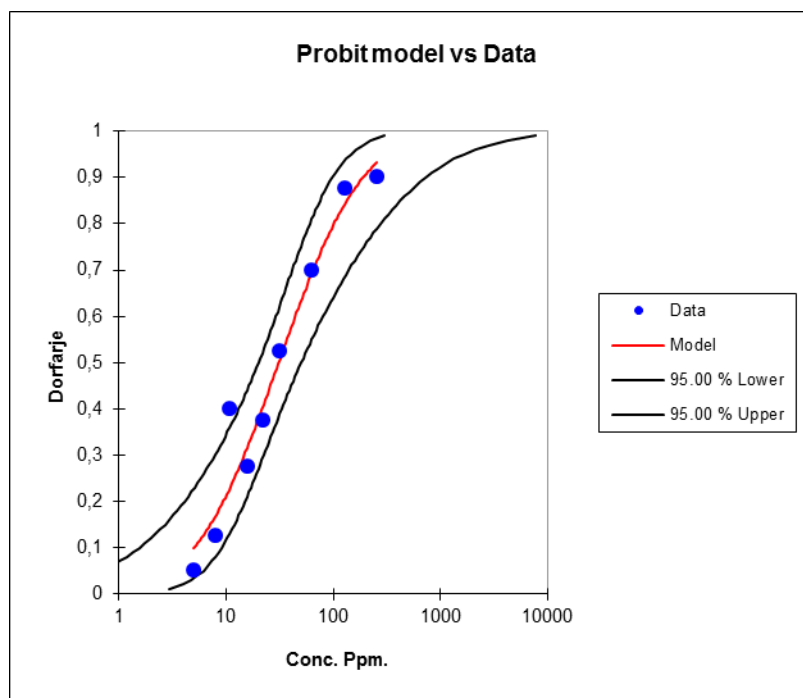
Observations	Log Like.	Log Like. (indep)	Pearson's Chi-square	DF (Chi-square)	Pr. > Chi-square
90	46,146	-62,215	2,368	7	0,937

L.R. Chi-square	DF (L.R. Chi-square)	Pr. > L.R. Chi-square	R ²	R ² (McFadden)
32,139	1	< 0.0001	0,984	0,25828879

Napovedi in ostanki:

Observations	Weight	Conc. Ppm.	Dorfarje	Model	Indep. model	Dorfarje / Weight	Model / Weight
Obs1	10,000	256,000	9,000	9,328	4,694	0,900	0,933
Obs2	10,000	128,000	8,750	8,429	4,694	0,875	0,843
Obs3	10,000	64,000	7,000	6,973	4,694	0,700	0,697
Obs4	10,000	32,000	5,250	5,106	4,694	0,525	0,511
Obs5	10,000	22,000	3,750	4,058	4,694	0,375	0,406
Obs6	10,000	16,000	2,750	3,215	4,694	0,275	0,322
Obs7	10,000	11,000	4,000	2,332	4,694	0,400	0,233
Obs8	10,000	8,000	1,250	1,702	4,694	0,125	0,170
Obs9	10,000	5,000	0,500	0,993	4,694	0,050	0,099

Standardized residuals for Model	Standardized residuals for Indep. model
-0,414	2,728
0,279	2,570
0,019	1,461
0,091	0,352
-0,198	-0,598
-0,315	-1,232
1,247	-0,440
-0,380	-2,183
-0,521	-2,658



Izračun koncentracij:

Probability	Conc. Ppm.	Lower bound 95 %	Upper bound 95 %
0,010	1,147	0,147	2,953
0,050	3,009	0,691	6,087
0,100	5,030	1,556	9,052
0,200	9,372	4,061	14,996
0,300	14,679	7,829	22,354
0,400	21,537	13,107	32,912
0,500	30,820	20,066	49,953
0,600	44,103	29,061	80,148
0,700	64,711	41,271	139,102
0,800	101,356	60,080	274,630
0,900	188,845	98,032	727,723
0,950	315,709	144,919	1649,342
0,990	827,827	297,142	7771,012