

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Luka KUŽNIK

**UČINKOVITOST DVEH VRST
ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (*Rhabditida*) ZA
ZATIRANJE RESARJA *Hercinothrips femoralis*
(Reuter)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Luka KUŽNIK

**UČINKOVITOST DVEH VRST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC
(Rhabditida) ZA ZATIRANJE RESARJA *Hercinothrips femoralis*
(Reuter)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**EFFICIENCY OF TWO DIFFERENT ENTOMOPATHOGENIC
NEMATODE SPECIES (Rhabditida) AGAINST *Hercinothrips femoralis*
(Reuter)**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo na Katedri za entomologijo in fitopatologijo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic (*Rhabditida*) za zatiranje resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) smo ugotavljali v entomološkem laboratoriju.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomske naloge imenovala doc. dr. Stanislava Trdana.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: akad. prof. dr. Ivan Kreft
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Stanislav Trdan
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Nina Kacjan-Maršič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Luka Kužnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 632.651:632.731:632.937.1.03(043.2)
KG	<i>Hercinothrips femoralis</i> /entomopatogene ogorčice/ <i>Steinernema feltiae</i> / <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> /učinkovitost/laboratorijsko preizkušanje
KK	AGRIS H01/H10
AV	KUŽNIK, Luka
SA	TRDAN, Stanislav (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2006
IN	UČINKOVITOST DVEH VRST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) ZA ZATIRANJE RESARJA <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 73, [13] str., 30 sl., 2 pril., 73 vir.
IJ	sl
JI	sl / en
AI	Resar <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) je bil v Sloveniji prvič ugotovljen leta 2002. Razširjen je po celem svetu, v Evropi in na območjih z zmernim podnebjem, pa ga najdemo predvsem v zavarovanih prostorih, kjer povzroča poškodbe na številnih okrasnih rastlinah. V laboratorijskem poskusu smo v gojitveni komori preučevali učinkovitost dveh vrst entomopatogenih ogorčic (<i>Steinernema feltiae</i> in <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>) za zatiranje ličink in imagov resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> . Resarje smo namnoževali v insektarijih, ogorčice pa smo uvozili iz Nizozemske. Učinkovitost ogorčic smo ugotavljali pri koncentraciji 1000 infektivnih ličink/ml destilirane vode. Poskus smo izvajali pri različnih temperaturah (15°C, 20°C in 25°C), stalni relativni zračni vlagi (95 %) in razmerjem med svetlobo in temo 4: 20. Poskus je potekal v poskusnih posodicah, ki smo jih inkubirali pri danih temperaturah v gojitveni komori. Po štirih dneh smo v poskusnih posodicah prešteli mrtve in preživele ličinke (imago) resarja in z Abbottovo formulo izračunali korigirano smrtnost ličink (imagov) za vsako posodico. Podatke smo statistično obdelali in na podlagi povprečne korigirane smrtnosti ličink (imagov) resarja ugotavljali učinkovitost ogorčic. Obe vrsti ogorčic sta bili uspešni pri zatiranju ličink in imagov resarja. Bolj uspešni sta bili pri zatiranju ličink. Med vrstama ogorčic ni bilo razlik v učinkovitosti zatiranja ličink in imagov. Povprečna korigirana smrtnost obeh stadijev resarja je bila najvišja pri 25°C.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Dn
DC UDC 632.651:632.731:632.937.1.03(043.2)
CX *Hercinothrips femoralis*/entomopathogenic nematodes/*Steinernema feltiae*/*Heterorhabditis bacteriophora*/efficacy/laboratory testing
KK AGRIS H01/H10
AU KUŽNIK, Luka
AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2006
TI EFFICIENCY OF TWO DIFFERENT ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE SPECIES (Rhabditida) AGAINST *Hercinothrips femoralis* (Reuter)
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 73, [13] p., 30 fig., 2 ann., 73 ref.
LA sl
AL sl / en
AB *Hercinothrips femoralis* (Reuter) was first recorded in Slovenia in 2002. Thrips is spread throughout the world, in Europe and in temperate regions was found to be important pest in greenhouses on several ornamental plants, where it causes damage. The laboratory bioassay was carried out in a rearing chamber, aiming to examine the efficiency of two different species of entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*) for the control of larvae and adults of banded greenhouse thrips (*Hercinothrips femoralis*). Thrips was reared in glass tanks and nematodes were imported from the Netherlands. The efficiency was established at concentration of 1000 infected juveniles per ml of distilled water. A bioassay was carried out at different temperatures (15°C, 20°C, and 25°C), relative humidity (95 %) and regime of light:dark (LD 4:20). Thrips adults (larvae) were put in a small plastic boxes, treated with nematodes and then incubated in rearing chamber at determinate environmental conditions. After four days dead and alive adults (larvae) of thrips in plastic boxes were counted. Then corrected mortality was calculated for each box using Abbott's formula. The results were statistically processed and efficacy of entomopathogenic nematodes was determined. Both nematode species have ability to control larvae and adults of *Hercinothrips femoralis*. The nematodes were more effective against larvae. There were no differences in efficiency between two species of nematodes to control larvae and adults of thrips. The highest average corrected mortality of both thrips stages (larvae and adult) was recorded at 25°C.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	X
Okrajšave in simboli	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 RESARJI (Thysanoptera)	2
2.1.1 Sistematika	2
2.1.2 Razširjenost	2
2.1.3 Opis	2
2.1.4 Razmnoževanje	3
2.1.5 Škodljivost in koristnost resarjev	4
2.2 RESAR <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter)	4
2.2.1 Sistematika	4
2.2.2 Razvojni krog	5
2.2.2.1 Jajčece	5
2.2.2.2 Ličinka	5
2.2.2.3 Predpupa in pupa	6
2.2.2.4 Imago	7
2.2.3 Poškodbe	9
2.2.4 Razširjenost	11
2.2.5 Gostiteljske rastline	12
2.2.6 Resar <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) v Sloveniji	13
2.2.6.1 Ocena resarjeve gospodarske škodljivosti v Sloveniji	13
2.2.7 Preventivni ukrepi in naravi prijazno zatiranje resarjev v zavarovanih prostorih	14
2.2.7.1 Pregledovanje rastlin in nastavljanje pasti	14
2.2.7.2 Zdravstveni ukrepi	14
2.2.7.3 Uporaba mrež	15
2.2.7.4 Regulatorji rasti žuželk	15
2.2.7.5 Biotično zatiranje resarjev	15
2.3 ENTOMOPATOGENE OGORČICE	18
2.3.1 Splošne lastnosti ogorčic	18
2.3.2 Zgodovina entomopatogenih ogorčic	19
2.3.3 Klasifikacija in bionomija entomopatogenih ogorčic (Steinernematidae, Heterorhabditidae)	19

2.3.4	Simbioza entomopatogenih ogorčic z bakterijami	23
2.3.4.1	Mutualistične bakterije	23
2.3.5	Gostitelji ogorčic	25
2.3.6	Geografska razširjenost entomopatogenih ogorčic	26
2.3.7	Obnašanje ogorčic	26
2.3.8	Vpliv abiotičnih dejavnikov na preživetje entomopatogenih ogorčic.....	27
2.3.8.1	Svetloba	27
2.3.8.2	Vlaga.....	27
2.3.8.3	Temperatura.....	27
2.3.8.4	Tekstura tal	28
2.3.9	Vpliv biotičnih dejavnikov na preživetje ogorčic	28
2.3.9.1	Tekmovanje z drugimi biotičnimi agensi	29
2.3.9.2	Naravni sovražniki ogorčic.....	29
2.3.10	Formulacije entomopatogenih ogorčic za shranjevanje in aplikacijo	30
2.3.10.1	Formulacije z aktivnimi ogorčicami.....	30
2.3.10.2	Formulacije z zmanjšano gibljivostjo ogorčic.....	31
2.3.10.3	Formulacije z delno izsušenimi ogorčicami	32
2.3.10.4	Formulacije za večjo učinkovitost po aplikaciji	34
2.3.11	Kontaminacija formulacij z mikroorganizmi	34
2.3.12	Metode aplikacije.....	35
2.3.12.1	Oprema za aplikacijo	35
2.3.12.2	Aplikacija ogorčic v tla	36
2.3.12.3	Foliarna aplikacija ogorčic	36
2.3.12.4	Združljivost ogorčic z drugimi sredstvi.....	36
2.3.13	Gojenje ogorčic	37
2.3.13.1	Gojenje » <i>in vivo</i> «.....	37
2.3.13.2	Gojenje » <i>in vitro</i> « na trdem gojišču	40
2.3.13.3	Gojenje » <i>in vitro</i> « v tekočem gojišču.....	41
2.3.14	Vpliv entomopatogenih ogorčic na neciljne organizme	42
2.3.14.1	Vpliv na vretenčarje.....	42
2.3.14.2	Vpliv na mehkužce	42
2.3.14.3	Vpliv na členonožce	42
2.3.14.4	Vpliv na žuželke	43
2.3.15	Entomopatogene ogorčice v prihodnosti	44
2.3.16	Možnosti zatiranja resarjev z entomopatogenimi ogorčicami	44
2.3.16.1	Zgledi foliarnega zatiranja resarjev	47
3	METODE DELA	49
3.1	NAMNOŽEVANJE RESARJEV	49
3.2	ENTOMOPATOGENI OGORČICI <i>Steinernema feltiae</i> in <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	50
3.2.1	<i>Steinernema feltiae</i> (Filipjev)	50

3.2.2	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Poinar).....	50
3.3	DOLOČANJE KONCENTRACIJE SUSPENZIJE	51
3.4	PRIPRAVA POSKUSNIH POSODIC	51
3.5	POTEK POSKUSA	52
3.6	IZRAČUN KORIGIRANE SMRTNOSTI RESARJEV	52
4	REZULTATI.....	53
4.1	SMRTNOST LIČINK IN IMAGOV RESARJA <i>HERCINOTHRIPS FEMORALIS</i>	53
4.1.1	Smrtnost ličink in imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic.....	53
4.1.2	Smrtnost ličink in imagov resarja v odvisnosti od temperature	54
4.1.3	Smrtnost ličink in imagov resarja, neodvisna od temperature in vrste ogorčic.....	54
4.2	SMRTNOST LIČINK RESARJA <i>HERCINOTHRIPS FEMORALIS</i>	55
4.2.1	Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od vrste ogorčic	55
4.2.2	Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od temperature	56
4.2.3	Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature.....	57
4.3	SMRTNOST IMAGOV RESARJA <i>HERCINOTHRIPS FEMORALIS</i>	58
4.3.1	Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic	58
4.3.2	Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od temperature	59
4.3.3	Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature.....	60
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	62
5.1	RAZPRAVA.....	62
5.2	SKLEPI.....	63
6	POVZETEK	65
7	VIRI	67

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Razvojni krog resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) (Banded..., 2006).....	5
Slika 2: Ličinka resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter), prekrita s kapljicami izločkov (foto: L. Kužnik).....	6
Slika 3: Samica resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) z značilnim 10. zadkovim členom v obliki stožca (foto: levo, L. Kužnik), desno (Banded..., 2005)	7
Slika 4: Prvi par kril z resami na spodnji strani in setami (trnastimi dlačicami), razporejenimi v dve vrsti (Banded..., 2005)	7
Slika 5: Tipalka, sestavljena iz osmih členov, na 3. in 4. členu sta vidni vilasti čutilni dlačici (Banded..., 2005).....	8
Slika 6: Mrežasto površje glave in predprsja (foto: S. Trdan).....	8
Slika 7: Poškodbe resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) na nizkem stročjem fižolu (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) – značilna srebrna območja, ki so posledica sesanja resarja (foto: L. Kužnik).....	10
Slika 8: Črni izločki resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) na rastlini <i>Chlorophytum comosum</i> (foto: L. Kužnik).....	11
Slika 9: Stopnjevanje obsega poškodb (od leve proti desni) resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) na listih orhideje <i>Epidendrum</i> 'Ballerina yellow'. Močno napadena rastlina je propadla (foto: L. Kužnik).....	11
Slika 10: <i>Amblyseius</i> (<i>Neoseiulus</i>) <i>cucumeris</i> (Oudemans) (<i>Neoseiulus</i> ..., 2006).....	16
Slika 11: Črne mumificirane ličinke resarja, parazitirane z osico <i>Thripobius semiluteus</i> (Black..., 2006)	17
Slika 12: Odrasla tenčičarica (<i>Chrysoperla</i> sp.) (Neuroptera..., 2006)	17
Slika 13: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Clarke, 2006).....	22
Slika 14: Gosenici voščene večje (<i>Galleria mellonella</i> L.), napadeni z ogorčico <i>H. bacteriophora</i> . Gosenici se svetita v temi (bioluminiscenca) zaradi simbiotske bakterije <i>Photorehabdus luminescens</i> (Insect..., 2006).....	24
Slika 15: Ogorčica <i>Steinernema carpocapsae</i> preži na gostitelja (Using..., 2006).....	26
Slika 16: Entomopatogene ogorčice v glineni formulaciji (Insect..., 2006).....	33
Slika 17: Bela vaba – white trap (Nguyen, 2005)	38
Slika 18: Bioreaktor za gojenje ogorčice <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> v tekočem mediju (Improvement..., 2006)	41
Slika 19: Insektariji, v katerih smo namnoževali resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (Reuter) (foto: L. Kužnik).....	49
Slika 20: Mlade rastlinice <i>Mirabilis jalapa</i> , na katerih smo gojili resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> (foto: L. Kužnik).....	50
Slika 21: Ogorčici <i>S. feltiae</i> in <i>H. bacteriophora</i> v formulaciji z aktivnimi ogorčicami v gobici (foto: S. Trdan)	51
Slika 22: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> v odvisnosti od vrste ogorčic	53
Slika 23: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> pri treh različnih temperaturah	54
Slika 24: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> , neodvisna od temperature in vrste ogorčic	55

Slika 25: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> v odvisnosti od vrste ogorčic	56
Slika 26: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> pri treh različnih temperaturah	57
Slika 27: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature	58
Slika 28: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> v odvisnosti od vrste ogorčic	59
Slika 29: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> pri treh različnih temperaturah	60
Slika 30: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja <i>Hercinothrips femoralis</i> v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature	61

KAZALO PRILOG

Priloga A: Podatki po obravnavanjih o preživelih in umrlih ličinkah (imagih) resarja *Hercinothrips femoralis*

Priloga B: Statistična analiza korigirane smrtnosti resarja *Hercinothrips femoralis*

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

sod.	sodelavci
cit. po	citirano po
itd.	in tako dalje
UV svetloba	ultravijolična svetloba
gr.	grško
ZDA	Združene države Amerike
l	liter
ml	mililiter
μl	mikroliter
km	kilometer
ha	hektar
10 ⁶	milijon
10 ⁹	milijarda
kPa	kilopascal
CO ₂	ogljikov dioksid

1 UVOD

Resarji ali tripsi so majhne, vitke žuželke z resastimi krili (Trdan, 2003). Nekateri med njimi so škodljivci gojenih ali samoniklih rastlin na prostem, drugi se hranijo na rastlinah v zavarovanih prostorih. Razširjeni so po celem svetu.

V diplomskem delu je predstavljen resar *Hercinothrips femoralis* (Reuter), ki je bil v Sloveniji prvič ugotovljen leta 2002. V Evropi in ostalih območjih z zmernim podnebjem, se škodljivec pojavlja v zavarovanih prostorih in povzroča poškodbe predvsem na okrasnih rastlinah. V prihodnosti lahko pri nas pričakujemo povečanje škodljivosti vrste na različnih okrasnih rastlinah, saj se resar sorazmerno hitro širi.

Resarja *Hercinothrips femoralis* lahko dovolj učinkovito zatiramo z insekticidi, vendar dajemo v zadnjem času prednost okolju in ljudem prijaznejšim načinom varstva rastlin. Med slednje štejemo tudi uporabo entomopatogenih ogorčic, parazitskih, brezbarvnih, nesegmentiranih glistic, ki imajo zmožnost ubiti žuželke.

V naši raziskavi smo v laboratorijskih razmerah poskušali z entomopatogenimi ogorčicami zatirati ličinke in odrasle osebkke (image) resarja *Hercinothrips femoralis*. Uporabili smo dve vrsti entomopatogenih ogorčic, in sicer *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora*.

Za uspešno zatiranje moramo resarja *Hercinothrips femoralis* dobro poznati. V prvem delu diplomskega dela predstavljamo osnovne podatke o njegovi sistematiki, razvojnem krogu in poškodbah, ki jih povzroča na gostiteljih. V nadaljevanju diplomskega dela so predstavljene entomopatogene ogorčice, njihova zgodovina, klasifikacija, gostitelji, geografska razširjenost, vpliv različnih dejavnikov na aktivnost entomopatogenih ogorčic itd. Ob koncu prvega dela se bralec seznanja še z dosedanjimi raziskavami na področju zatiranja resarjev z entomopatogenimi ogorčicami.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti ali sta entomopatogeni ogorčici *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora* v laboratorijskih razmerah sposobni zatreti ličinke in odrasle osebkke resarja *Hercinothrips femoralis*. Če bi se pokazalo, da je resar občutljiv na napad entomopatogenih ogorčic, bi omenjene biotične agente lahko vključili v strategijo zatiranja preučevanega resarja. Pri različnih temperaturah in med vrstama entomopatogenih ogorčic smo pričakovali razlike v učinkovitosti pri zatiranju škodljivca, razlike pa smo pričakovali tudi v občutljivosti razvojnih stadijev resarja.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 RESARJI (Thysanoptera)

2.1.1 Sistematika

Resarji ali tripsi so majhne, vitke žuželke z resastimi krili. Po resastih krilih je red tudi dobil latinsko ime (gr. *thysanos* = resa, gr. *pteron* = krilo). Resarje delimo v dve večji skupini: Terebranti (podred Terebrantia) in Tubuliferi (podred Tubulifera) (Trdan, 2003).

V podred Tubulifera štejemo le družino fleotripid (Phlaeothripidae), ki je s 3000 znanimi vrstami tudi najštevilčnejša (Trdan, 2003). Podred Terebrantia je bolj raznolika skupina, ki vsebuje 8 družin in 2000 vrst resarjev (Mound, 2003). Najštevilčnejša družina v tem podredu je družina tripid (Thripidae) (Trdan, 2003).

Kar 93 % vrst resarjev uvrščamo v eno od teh dveh družin (Phlaeothripidae, Thripidae) in prav te tudi največkrat najdemo na gojenih rastlinah. Vendar pa le slab odstotek vrst, ki so bile doslej najdene v svetu, štejemo med škodljivce gojenih rastlin (Trdan, 2003).

2.1.2 Razširjenost

V svetu je bilo doslej opisanih okrog 5000 vrst resarjev. 50 % vseh vrst se hrani z glivami; večina s hifami, nekateri pa tudi s sporami. Druga polovica resarjev se hrani na cvetovih ali listih rastlin, nekateri pa so obligatni predatorji majhnih členonožcev (Mound, 2003). Največ različnih vrst resarjev so doslej našli v tropih, precej v območjih z zmernim podnebjem, nekaj pa jih poseljuje tudi hladnejša območja (Trdan, 2003). Doslej je bilo v Sloveniji najdenih 113 vrst resarjev (Seznam..., 2006).

2.1.3 Opis

Resarji imajo izrazito glavo in podolgovato, cilindrično, navadno rahlo sploščeno telo. V območjih z zmernim podnebjem so resarji dolgi 1-2 mm, nekatere tropske vrste pa dosežejo do 14 mm. Njihovo telo je mehko, a je pri odraslih nekoliko močnejše hitinizirano kot pri ličinkah in (pred)bubah. Tipalke resarjev so kratke in navadno sestavljene iz 6-9 členov. Pri nekaterih vrstah so dolge kot glava in oprsje skupaj, pri večini pa so krajše. Imajo par sestavljenih oči, med katerimi pa so še tri pikčasta očesca (oceli). Noge so kratke in vitke. Njihova posebnost so 1- ali 2- delna stopalca, ki se končujejo z mehurčkom. Zadek je razdeljen v 11 členov, med katerimi zadnji ni viden. Deseti zadkov člen ima pri samicah terebrantov obliko storža, pri samcih pa je nekoliko bolj robato zaobljen. Pri obeh spolih tubuliferov ima končni telesni člen cevasto obliko. Na površju telesa imajo resarji številne dlačice (sete), katerih število, velikost in smer so pomembni za določanje vrst (Trdan, 2003).

Ustni aparat resarjev je prilagojen za strganje, bodenje in sesanje. Ličinke in odrasli imajo le levo spodnjo čeljust (mandibulo) (Mound, 2003). Z njo resar prebode rastlinsko povrhnjico. Naslednji par čeljusti (maksili) pa je pokrnel v par podaljšanih bodal (stiletov). Živalce jih vsadijo v tkivo in z njimi posesajo rastlinski sok ali vsebino pršic in manjših žuželk (Trdan, 2003).

Oba para kril sta ozka, imata značilne rese in le nekaj žil ali pa so brez njih. Njihova dolžina je odvisna od skupine, vrste in spola. Pri terebrantih ležijo krila vzporedno, pri tubuliferih pa se ta delno prekrivajo, tako da je dobro viden le en par kril. Pri nekaterih vrstah so odrasle samice, samci ali oboji brez kril (Trdan, 2003).

2.1.4 Razmnoževanje

Resarji se razmnožujejo deviškoročno z delno ali popolno deviškoročnostjo (partenogenezo)¹. Takšno nespolno razmnoževanje je še posebno pomembno, ko je vrsta prvič vnesena na neko območje. Samice resarjev so vedno diploidne (imajo dvojno garnituro kromosomov), samci pa so vedno haploidni (imajo enojno število kromosomov) (Trdan, 2003).

Iz neoplojenih jajčec se lahko razvijejo haploidni samci (arhenotokija) ali pa diploidne samice (telitokija). Neoplojena jajčeca so haploidna in vsebujejo le eno garnituro kromosomov od samice. Samice resarjev lahko izležejo tudi neoplojena diploidna jajčeca, iz katerih se razvijejo samice. V anafazi mejoze se kromosomi ločijo, nato sledi fuzija dveh mejotskih produktov, kar povzroči diploidnost jajčeca (oblikovanje zigote). Iz diploidnega jajčeca se nato razvijejo samice (telitokija) (Thelytoky..., 2006).

Pri resarjih se pojavlja tudi spolna raznolikost (dimorfizem). Samci vrst, ki živijo na cvetovih in listih (številne vrste terebrantov), so navadno manjši in svetlejši od samic, tisti, ki pa se hranijo z glivami, so pogosto veliko večji od samic (Trdan, 2003).

Razvoj resarjev ima značilnost popolne in nepopolne preobrazbe (holo- in hemimetabolnega razvoja), tako da jih nekateri entomologi uvrščajo med žuželke z nepopolno preobrazbo, drugi pa med tiste s popolno. Schliephake in Klimt sta jih uvrstila v vmesno skupino, med predstavnike t.i. remetabolne preobrazbe (Trdan, 2003).

Večina resarjev leže jajčeca. Ledvičasta ali podolgovata ovalna jajčeca so navadno precej velika (v dolžino dosežejo do 0,5 mm) in so površinsko gladka. Jajčeca tubuliferov so večja od jajčec terebrantov, obe skupini pa se razlikujeta tudi po navadah pri njihovem odlaganju. Terebranti, odložijo jajčeca posamično z leglico (ovipozitorjem) v rastlinsko tkivo. Tubuliferi nimajo leglice in jajčeca z želatinastimi snovmi pritrdijo na površje gostiteljskih rastlin (Trdan, 2003).

¹ Razplojevanje z neoplojenimi jajčeci (Leksikon..., 1973)

Jajčeca so rumena, bela in drugih motnih barv. Ličinke so podobne odraslim, le da so manjše in nimajo kril. Krilne zasnove (blazinice) se oblikujejo šele pri (pred)bubah. Med stadijema jajčeca in preobraženega osebka se zvrstijo pri terebrantih navadno štirje stadiji, pri tubuliferih pa pet. Razvojni stadiji si sledijo: jajčece, ličinka prvega stadija, ličinka drugega stadija, predbuba, buba prvega stadija, buba drugega stadija (samo pri tubuliferih) in preobraženi osebek (imago). Ličinke in imagi se navadno nahajajo na nadzemskih delih rastlin in preidejo v stadij bube v tleh, na skritih mestih na svojih gostiteljih ali pod odpadlim in razkrajajočim se rastlinskim materialom v bližini talnega površja (Trdan, 2003).

2.1.5 Škodljivost in koristnost resarjev

Resarji lahko povzročajo pri hranjenju na rastlinah različne poškodbe. Najbolj značilna poškodba je srebrenje, ki je posledica vstopa zraka v celice, iz katerih je bila s predhodnim sesanjem odstranjena vsebina (Trdan, 2003).

Resarji so edini prenašalci (vektorji) rastlinam škodljivih tospovirusov (virusov iz rodu *Tospovirus*, ki spada v družino Bunyaviridae). Odnosi med resarji in virusi so kompleksni, saj lahko virusi pridejo v telo resarjev le ob hranjenju ličink prvega stadija, na drugo rastlino pa se prenesejo le ob hranjenju odraslih osebkov (Trdan, 2003).

Poznamo tudi koristne vrste resarjev. Njihova najpomembnejša vloga v okolju je verjetno opravevanje, precejšen pomen pa imajo tudi v biotičnem varstvu rastlin. Tako so bile nekatere vrste načrtno vnesene na določena območja z namenom biotičnega zatiranja nekaterih plevelov. Druge vrste resarjev so lahko pomembni plenilci manjših členonožcev, kakršni so na primer pršice (Trdan, 2003).

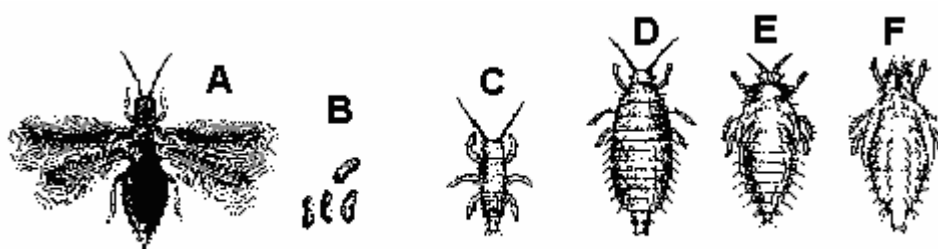
2.2 RESAR *Hercinothrips femoralis* (Reuter)

2.2.1 Sistematika

Resar je predstavnik ene od devetih znanih vrst iz rodu *Hercinothrips*. Čeprav izvirajo iz Afrike, so danes nekateri med njimi pomembni škodljivci gojenih rastlin na različnih območjih sveta. Vrsta *Hercinothrips femoralis* (Reuter) spada v poddružino Panchaethripinae, družino Thripidae, podred Terebrantia. V Sloveniji sta bili do odkritja omenjenega resarja ugotovljeni le dve vrsti iz poddružine Panchaethripinae, in sicer *Parthenothrips dracaenae* (Heeger) in *Heliethrips haemorrhoidalis* (Bouche). Večina predstavnikov iz poddružine Panchaethripinae se hrani na listih, ima površje telesa izrazito mrežasto, zgornja žila na prvem paru kril pa je zrasla s kostalno žilo. *Hercinothrips femoralis* (Reuter) je resarjevo drugo ime, saj je bil sprva poimenovan *Heliethrips femoralis* Reuter (Trdan, 2002).

2.2.2 Razvojni krog

Razvojni krog resarja je sestavljen iz štirih razvojnih stadijev med jajčecem in odraslim osebkom. Prvi dve stopnji razvoja sta stadija ličinke, ki se intenzivno prehranjujejo. Stadijema ličinke sledita še stadija predpupe in pupe, ki so neaktivne in se ne prehranjujejo. V stadiju pupe se žuželka pripravlja na preobrazbo v imaga. Trajanje posameznega razvojnega stadija je odvisno od vrste gostiteljske rastline, temperature in vlage. Razmnoževanje lahko poteka spolno ali nespolno s partenogenezo. Zaradi velike sposobnosti razmnoževanja je njihovo zatiranje težavno (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993).



Slika 1: Razvojni krog resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) (Banded..., 2006)

(A: imago, B: jajčeca, C-D: ličinki, E: predpupa, F: pupa)

2.2.2.1 Jajčece

Jajčeca resarja so valjasta in na koncih zaobljena. Jajčna lupina je gladka, nežna, blede bela ali rumena (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993). V začetku so jajčeca prosojno bela, velika 0,25 mm, pozneje pa postanejo motno bela (Banded ..., 2006). Samice jih odlagajo posamično, včasih pa tudi v vrste ob listne žile. Samice vstavijo jajčeca v zarezo, ki jo naredijo v rastlinsko tkivo s posebnim želom (podobnim žagi) za odlaganje jajčec (ovipozitorjem). Jajčeca navadno vstavijo pod liste, na slepo v listno tkivo, v mehke dele stebela, v klične liste (kotiledone) in ostale dele rastlin (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993). Iz jajčec se izležejo ličinke po treh do šestih dneh, lahko pa šele po 20 dneh (Ananthakrishnan, 1984, cit. po Ronald in Jayma, 1993).

2.2.2.2 Ličinka

Ličinke prvega stadija so bele, na začetku skoraj prozorne, pozneje se spremenijo v rumene, oranžne in celo škrlatne. Njihovo majhno telo je sestavljeno iz glave, treh prsnih segmentov, enajstih abdominalnih segmentov in treh parov nog. Ličinke prvega stadija so brez krilnih zasnov. Prvi stadij ličinke traja od enega do petih dni. Ko ličinka podvoji svojo velikost, poišče ustrezno zavarovano mesto na rastlini in se prvič levi. Ličinke drugega stadija so temnejše in imajo drugače oblikovane tipalke. Na začetku so njihove tipalke

nekoliko manjše kot pri ličinkah prvega stadija, vendar zelo hitro dosežejo velikost tipalk pri odraslih imagih (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993).

Ko so ličinke drugega stadija pripravljene za prehod v stadij pred(pupe), se navadno preselijo z vrhnjih rastlinskih delov v tla ali v steljo pri osnovi rastlin. Nato se tu levijo in preidejo v stadij predpupe in nato pupe. Stadij ličinke traja od štiri do deset dni (Ananthkrishnan, 1984, cit. po Ronald in Jayma, 1993). Ličinke resarja *Hercinothrips femoralis* so velike od 0,48 do 1,5 mm, imajo rdeče oči, so brez kril in pogosto prekrite s kapljicami izločkov (Banded..., 2006).



Slika 2: Ličinka resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter), prekrita s kapljicami izločkov (foto: L. Kužnik)

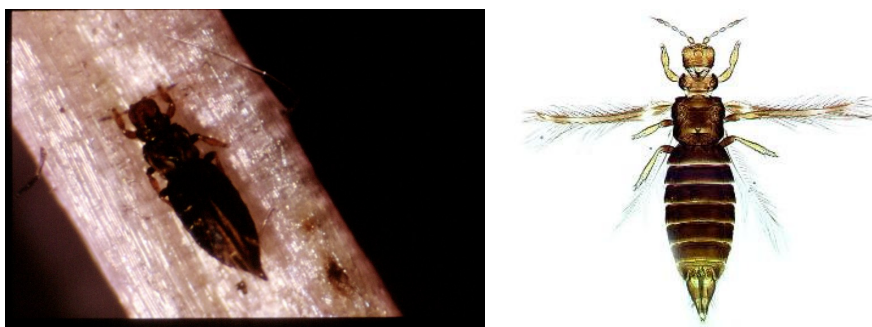
2.2.2.3 Predpupa in pupa

Prvi stadij pupe ali bube se imenuje stadij predpupe ali predbube in predstavlja vmesni stadij med ličinko in pravo pupo. Takšni osebki imajo zasnove kril, rudimentarne (nerazvite) tipalke, se ne hranijo in ne izločajo. Po levitvi predpupe sledi stadij pupe. Pupa ima že razvite tipalke, ki so zakrivljene prek glave (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma,

1993). Stadija predpupe in pupe skupaj navadno trajata od treh do desetih dni (Ananthakrishnan, 1984, cit. po Ronald in Jayma, 1993). Predpupa in pupa sta beli. Oba stadija najdemo na spodnjih listih rastlin ali v bližini talnega površja (Banded..., 2006).

2.2.2.4 Imago

Odrasel osebek (imago) resarja *Hercinothrips femoralis* ima temno rjavo telo in meri v dolžino od 1,2 do 1,5 mm (Trdan, 2002).



Slika 3: Samica resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) z značilnim 10. zadkovim členom v obliki stožca (foto: levo, L. Kužnik, desno (Banded..., 2005)

Glava, predprsje, noge in terminalni zadkovi členi so nekoliko svetlejši od ostalih delov telesa. Resar ima dva para kril. Prvi par kril je rjav, na njem so tri svetlejša območja, pri osnovi največje in na konici najmanjše svetlejše območje (Trdan, 2002). Na podlagi obarvanosti prvega para kril (menjavanje svetlih in temnih območij) so resarja poimenovali banded (obročkasti) greenhouse thrips (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993).

Rese na spodnji strani prvega para kril so valovite, sete na njih so v dveh vrstah (Trdan, 2002).



Slika 4: Prvi par kril z resami na spodnji strani in setami (trnastimi dlačicami), razporejenimi v dve vrsti (Banded..., 2005)

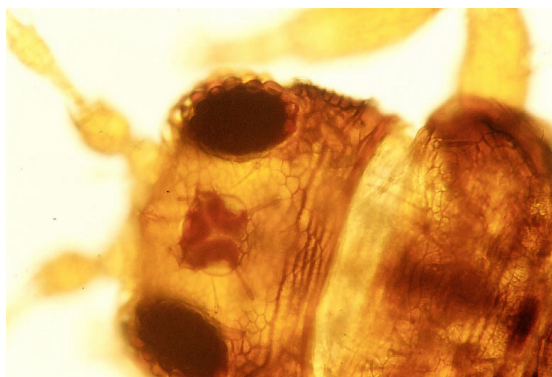
Žuželka ima 8-členaste tipalke, njen terminalni člen je izrazito ozek in daljši od 7. člena. Na 3. in 4. členu tipalk sta vilasti čutilni dlačici (Trdan, 2002). Tipalke so rjave, razen 4. in 5. člena, ki sta pri osnovi rumena (Kono and Papp, 1977, cit. po Ronald in Jayma, 1993).



Slika 5: Tipalka, sestavljena iz osmih členov, na 3. in 4. členu sta vidni vilasti čutilni dlačici (Banded..., 2005)

Samci imajo na hrbtni strani 9. zadkovega člena tri pare trnastih dlačic (set). Resar na glavi nima zatilničnega grebena, 10. zadkov člen ima obliko stožca (Trdan, 2002).

Noge so rumenkasto obarvane, razen srednjega in zadnjega stegna (femora), ki sta rjava. Samci, ki so nekoliko manjši od samic (Kono and Papp, 1977, cit. po Ronald in Jayma, 1993), so v populacijah redki (Banded..., 2006).



Slika 6: Mrežasto površje glave in predprsja (foto: S. Trdan)

Odrasle samice začnejo odlagati jajčeca dva tedna po preobrazbi v imago. Odložijo lahko od 30 do 300 jajčec, odvisno od posameznega osebka, razpoložljivosti in kakovosti hrane (Lewis, 1973, cit. po Ronald in Jayma, 1993).

Odrasli osebki so skromnejši jedci od ličink (Banded..., 2006). Samice, ki so v populacijah vrste *Hercinothrips femoralis* v veliki večini, odlagajo jajčeca na spodnjo stran listov ali vzdolž stebela. Skupno trajanje preimaginalnih razvojnih stadijev (jajčece, ličinke 1. in 2. stadija, predbuba in buba) je približno 18 dni, imagi pa lahko živijo 40 dni ali več. Kolonije ličink ter (pred)bube navadno najdemo med listnimi žilami, in sicer tako na vitalnih kot na starajočih se listih (Trdan, 2002).

Koch (1981b) navaja, da traja celoten razvojni krog (od jajčeca do imaga) resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) 586 ur (24,4 dni) pri 24°C, približno 100 % relativni zračni vlagi in razmerjem med dnevom in nočjo 12:12. Stadij jajčeca v povprečju traja 9,5 dni, stadij ličinke 1. stadija 3,9 dni. Po naslednjih 4,8 dneh se ličinka 2. stadija levi in preide v stadij predpupe. Predpupa ne kaže znakov gibanja in hranjenja 2,3 dni. Stadij pupe pa traja 4,2 dni.

Laughlin (1971) navaja, da traja razvoj resarja od jajčeca do imaga pri 27°C 19 dni. Poskus je bil izveden v laboratoriju v Avstraliji.

V Španiji resar *Hercinothrips femoralis* prezimi kot imago, ki se začne razmnoževati zgodaj spomladi. Največjo številčnost populacije so zabeležili od maja do septembra. Pupe so našli v skritih mestih na rastlinah ali na površju tal. Resarji so se pretežno razmnoževali s telitokijsko partenogenezo (Lacasa in Martinez, 1988).

2.2.3 Poškodbe

Resar povzroča poškodbe s sesanjem na listih, cvetovih, steblih in plodovih. Z ustnim aparatom preluknja rastlinsko tkivo in posesa izločen rastlinski sok (Metcalf, 1962, cit. po Ronald in Jayma, 1993). S hranjenjem na listih njihovih gostiteljev povzročajo ličinke in imagi nastanek značilnih srebrnih območij. Napadeni listi nato porjavijo in odpadejo. Estetski videz napadenih rastlin pa je zmanjšan tudi zaradi prisotnosti črnih iztrebkov na spodnji strani listov, ki jih opazimo kot majhne, črne pikice, ki se ob dotiku s prstom razmažejo (Trdan, 2002).

Resar povzroča poškodbe tudi na cvetovih. Napadeni cvetovi postanejo pegasti, deformirani in številni cvetni popki se zaradi poškodb ne odprejo in predčasno odpadejo (Metcalf, 1962, cit. po Ronald in Jayma, 1993). V cvetličarstvu resarja *Hercinothrips femoralis* obravnavajo zlasti kot škodljivca listov (Wang, 1987).

Resar *Hercinothrips femoralis* povzroča gospodarsko pomembne poškodbe tudi v nasadih banan. Kot posledica hranjenja, se na plodovih banan pojavijo srebrni in bronasti madeži (Zimmerman, 1948, cit. po Ronald in Jayma, 1993). Ko se resar pojavi v večjem obsegu ali se hkrati pojavijo še pršice in drugi škodljivci, se plodovi banan obarvajo rahlo rdečkasto, kar jim zniža tržno vrednost, kljub temu da užitnost plodov ni zmanjšana (Bianchi, 1946, cit. po Ronald in Jayma, 1993).

Buchanana (1932, cit. po Ronald in Jayma, 1993) navaja, da resar *Hercinothrips femoralis* mehansko prenaša bakterijo, povzročiteljico bolezni fižola. Doslej še ni bilo ugotovljeno, da bi resar prenašal viruse (Trdan, 2002).



Slika 7: Poškodbe resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) na nizkem stročjem fižolu (*Phaseolus vulgaris* L.) – značilna srebrna območja, ki so posledica sesanja resarja (foto: L. Kužnik).



Slika 8: Črni izločki resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) na rastlini *Chlorophytum comosum* (foto: L. Kužnik)



Slika 9: Stopnjevanje obsega poškodb (od leve proti desni) resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) na listih orhideje *Epidendrum* 'Ballerina yellow'. Močno napadena rastlina je propadla (foto: L. Kužnik).

2.2.4 Razširjenost

Resarja *Hercinothrips femoralis* najdemo skoraj po celem svetu. Razširjen je v Afriki, v Srednji in Severni Ameriki ter v Evropi. V Evropi in ostalih območjih z zmernim

podnebjem se pojavlja zlasti v zavarovanih prostorih. Na prostem pa ga najdemo predvsem v tropskem in subtropskem pasu (Trdan, 2002).

V Avstraliji so resarja prvič našli pred približno desetimi leti na bananah v zahodnem delu te celine (Houston in sod, 1991). Vrsta *Hercinothrips femoralis* je neenakomerno razširjena po ZDA, kjer je bila najprej najdena na okrasnih rastlinah iz rodu *Syngonium* (Trdan, 2002). Resar je splošno razširjen na Floridi, kot gospodarsko pomemben škodljivec pa se pogosto pojavlja na južnem in osrednjem delu te države. Tam je še posebno številčen v zavarovanih prostorih (Denmark, 1976). Čeprav je znan tudi pod imenom »resar sladkorne pese«, je gospodarsko pomemben škodljivec zlasti na različnih okrasnih rastlinah (Trdan, 2002).

2.2.5 Gostiteljske rastline

Resar *Hercinothrips femoralis* se lahko prehranjuje na več kot 50 vrstah gostiteljev, med njimi na predstavnikih iz rodov *Amaryllis*, *Aralia*, *Begonia*, *Chrysanthemum*, *Croton*, *Dieffenbachia*, *Dracaena*, *Ficus*, *Gardenia*, *Hydrangea*, *Philodendron*, *Schefflera*, *Schlumbergera* in drugih (Trdan, 2002).

To vrsto najdemo tudi povsod, kjer rastejo banane (Lewis, 1997), zato so pred resarjevo prvo najdbo v Sloveniji večjo pozornost namenjali tudi njegovemu morebitnemu vnosu z okrasnimi rastlinami iz rodu *Musa* (Trdan in Vierbergen, 2001). Med pomembnejšimi potencialnimi gostitelji resarja so še rastline iz rodu *Beta*, zelena, koruza, jajčevc, orhideje in paradižnik (Trdan, 2002).

Raziskave v ameriški državi Georgia so pokazale, da je resar *Hercinothrips femoralis* napadel 44 vrst okrasnih rastlin od 50 vrst, ki so bile vključene v poskus. Največ škode je povzročil na vrstah *Plectranthus australis*, božičnem kaktusu (*Schlumbergera bridgesii*), *Pilea cadierei* in na krizantemah (Oetting in Beshear, 1980).

Leta 1992 so na Madžarskem ugotovili številčne populacije resarja na okrasnih rastlinah v zavarovanih prostorih. Resarja so prvič zasledili na rastlinah *Chlorophytum comosum*, *Dieffenbachia maculata*, *Epipremnum aureum* [*E. pinnatum*], *Gynura aurantiaca*, *Schefflera arboricola*, *Syngonium podophyllum* in *Zebrina pendula*. Ličinke in imagi so se na nekaterih rastlinah hranili na spodnji strani listov, na drugih rastlinah pa na zgornji. Na listih so povzročali nastanek značilnih srebrnih območij, ki so se večala in spreminjala v okrogle ali nepravilne pege premera 0,5-2 cm. Ob večjem napadu so bile pege na celotni listni ploskvi (Tusnadi in Nemstothy, 1992). Denmark (1976b) navaja, da resar *Hercinothrips femoralis* povzroča poškodbe na mnogih okrasnih rastlinah, še posebno na vrstah *Philodendron selloum*, *Brassaia* [*Schefflera*] *actinophylla* in *Peperomia* spp.

Resar kaže značilno pozitivno fototaktično vedenje, saj se giblje proti viru svetlobe. V laboratoriju so opravili poskus, v katerem so ugotovili, da je bila med osvetlitvijo večina

resarjev na zgornji strani fižolovih listov. Ko je luč ugasnila, pa so se resarji preselili na spodnjo stran listov (Koch, 1981a).

2.2.6 Resar *Hercinothrips femoralis* (Reuter) v Sloveniji

V Sloveniji je bilo doslej ugotovljenih 113 vrst resarjev (Seznam..., 2006). Med njimi pripisujemo gospodarski pomen le manjšemu številu vrst. Intenziviranje meddržavnih in medcelinskih trgovinskih tokov je vplivalo tudi na hitrejše širjenje resarjev, saj je rastlinski material za njih najpomembnejši medij za prenos na velike razdalje. Po vnosu cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) v Evropo v začetku osemdesetih let, se večja pozornost namenja tudi drugim potencialno škodljivim vrstam iz reda Thysanoptera. Za resarjema *Echinothrips americanus* Morgan in *Microcephalothrips abdominalis* (Crawford) je obravnavani resar že tretja, v kratkem času najdena vrsta v Sloveniji, ki bi lahko ogrozila gospodarnost pridelave nekaterih gojenih rastlin (Trdan, 2002).

Resar *Hercinothrips femoralis* je bil pri nas prvič ugotovljen 18. januarja 2002, v enem od laboratorijev na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Številno populacijo resarjev so našli na svežih listih koruze (*Zea mays* L.). Koruza, ki je bila posajena v plastičnih posodah in je v laboratoriju rasla pri sobni temperaturi in razmerju med svetlobo in temo 1:1 (12 ur : 12 ur), je bila gojena za preučevanje mikorize. Na podlagi tipičnih morfoloških znakov, so resarja identificirali kot vrsto *Hercinothrips femoralis* (Reuter) (Trdan, 2002).

2.2.6.1 Ocena resarjeve gospodarske škodljivosti v Sloveniji

Pri resarju *Hercinothrips femoralis* gre za prvo najdbo vrste v Sloveniji. Čeprav je bilo v preteklosti načrtno vzorčenje teh žuželk na gojenih rastlinah redko – zur Strassen (1981, 1984) in Janežič (1991, 1992, 1993) sta namreč večino vrst našla na samoniklih rastlinah – sklepamo, da resar v Sloveniji še ni razširjen. Tudi v sosednjih državah, kjer je bila vrsta doslej najdena (Italija, Madžarska), poročajo o njeni razširjenosti le v zavarovanih prostorih, zato moramo resarju tudi pri nas več pozornosti nameniti prav v njih (Trdan, 2002).

Glede na obseg poškodb na listih koruze v laboratoriju na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete, je lahko gospodarska škodljivost vrste precejšnja, še posebno ob upoštevanju dejstva, da je resar polifag in se lahko prehranjuje na širokem spektru gostiteljskih rastlin. Ker pa je bila koruza vzgojena v laboratoriju, sklepamo, da je bil resar v prostor naključno vnesen s kakšno od okrasnih rastlin (Trdan, 2002).

Pravočasni in stalni pregledi rastlin, zlasti tistih, ki se gojijo v okrasne namene in posebna pozornost pri prenosu rastlinskega materiala, so zato med pomembnejšimi ukrepi, s katerimi bo v prihodnje širjenje vrste počasnejše, njena potencialna gospodarska škodljivost pa manjša (Trdan, 2002).

2.2.7 Preventivni ukrepi in naravi prijazno zatiranje resarjev v zavarovanih prostorih

Redki prispevki, ki so vezani na kemično zatiranje vrste *Hercinothrips femoralis* kažejo, da resar ni tolerant na insekticide. Tako lahko z njimi hitro in učinkovito zmanjšamo številčnost škodljivca, še preden bi se utegnil razširiti. Če je škropljenje z insekticidi potrebno, dajemo prednost okolju prijaznejšim pripravkom (Trdan, 2002).

2.2.7.1 Pregledovanje rastlin in nastavljanje pasti

Za zgodnjo detekcijo in monitoring (načrtno spremljanje številčnosti resarjev) so potrebne barvne lepljive plošče in redni enotedenski pregledi rastlin. Za pregledovanje rastlin uporabljamo ročno lečo, s katero najdemo resarje in značilne poškodbe, ki jih povzročajo (Greer in Diver, 2000).

Poslužujemo se tudi metode stresanja, pri kateri potresemo liste ali cvetove rastlin in resarje prestrežemo z belim papirjem. Na beli podlagi so namreč resarji dobro vidni. S to metodo ugotovimo zastopanost resarjev in na grobo ocenimo njihovo številčnost. Za podrobnejšo oceno številčnosti resarjev uporabljamo barvne lepljive plošče (Driesche, 1998). Roza lepljive plošče naj bi bile najbolj privlačne za lovljenje resarjev, vendar se še vedno največ uporabljajo modre (Greer in Diver, 2000).

2.2.7.2 Zdravstveni ukrepi

Pomemben zdravstveni ukrep je odstranjevanje rastlin (plevelov in drugih rastlinskih vrst, ki so gostitelji škodljivih organizmov) v zavarovanih prostorih in zunaj njih. Priporočljivo je tudi odstranjevanje ostankov prejšnjih posevkov v zavarovanih prostorih, od koder lahko škodljivci prehajajo na letošnje posevke. Idealno je, da zavarovane prostore očistimo in jih pustimo prazne vsaj en teden, preden vanje posejemo ali posadimo rastline. S tem vplivamo na zmanjšanje populacij škodljivcev (Greer in Diver, 2000).

Število resarjev v rastlinjaku lahko zmanjšamo tudi tako, da na zunanjem robu rastlinjaka (25-76 cm) ne gojimo rastlin. Še posebno je pomembno, da odstranimo rastline, ki rastejo blizu zračnikov in ostalih odprtih v rastlinjaki (Greer in Diver, 2000).

K zdravstvenim ukrepom prištevamo tudi začasno karanteno za rastline, ki so prispele iz drugih rastlinjakov in reden pregled rastlin, ki so namenjene za razmnoževanje. Ni priporočljivo, da delavci v rastlinjaki nosijo rumena oblačila, saj ta barva privlači številne škodljive žuželke, ki jih nehote prenašamo med rastlinjaki (Greer in Diver, 2000).

Uspešen zdravstveni ukrep je tudi segrevanje zaprtih prostorov. Pridelovalec mora predhodno odstraniti vse rastline, nato pa segreti (naravno ali umetno) rastlinjak, dokler

temperatura tal ne doseže 15,5°C. To temperaturo vzdržujemo tri tedne. V tem času se izvalijo vse ličinke resarja, ki umrejo zaradi pomanjkanja hrane.

Številčnost resarjev lahko uspešno zmanjšamo tudi z odstranitvijo napadenih cvetov in vršičkov, ki jih damo v plastične vrečke in jih odvržemo zunaj rastlinjaka. Veliki pridelovalci na Nizozemskem so ugotovili, da je česen učinkovito odvrčalo (repellent) za resarje (Greer in Diver, 2000).

2.2.7.3 Uporaba mrež

Spomladi se odrasli resarji preseljujejo na nove gostiteljske rastline. Resarji so slabi letalci, zato pa jih veter z lahkoto prenaša in s tem pospešuje njihovo širjenje. Da bi preprečili širjenje resarjev skozi zračnike in druge odprtine v zavarovanih prostorih, se uporabljajo mreže za žuželke. Pridelovalci v New Yorku, Severni Karolini in na Floridi so ugotovili 30-70 % zmanjšanje številčnosti škodljivcev v rastlinjakih po namestitvi mrež za žuželke. Za zagotovitev učinkovitosti takšnih mrež je potrebno izbrati ustrezno velikost odprtin (Greer in Diver, 2000). Mrežne odprtine s premerom 135 µm lahko učinkovito zmanjšajo vdor resarja v zavarovane prostore (Driesche, 1998).

2.2.7.4 Regulatorji rasti žuželk

Znani so tudi kot manj strupeni insekticidi. Regulatorji rasti žuželk vplivajo na škodljivce z motenjem njihovega razvoja, in sicer tako, da:

- »posnemajo« juvenilni hormon, tako da žuželka nikoli ne doseže spolne zrelosti,
- prekinejo tvorbo hitina, ki služi kot oklep pri večini žuželk,
- prekinejo proces levitve.

Večina rastnih regulatorjev pride v žuželke med hranjenjem. Rastni regulatorji v glavnem nimajo negativnih vplivov na neciljne organizme (ljudje, ptice, ribe in drugi vretenčarji). Na škodljivce navadno delujejo po nekaj dneh, a so učinkoviti le pri zatiranju predimaginalnih stadijev (Driesche, 1998).

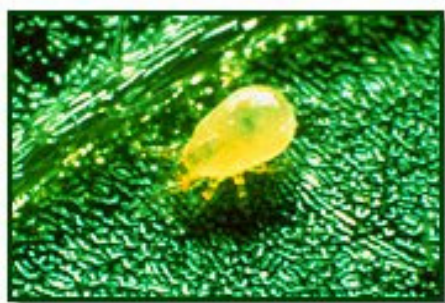
Uporaba rastnih regulatorjev ni dovoljena pri organskem kmetovanju, saj so izdelani iz sintetičnih (umetnih) snovi. Lahko pa se uporabljajo v kombinaciji z biotičnim zatiranjem, s čimer zadržujemo številčnost škodljivca pod pragom gospodarske škodljivosti. Znani tovrstni pripravki za zatiranje resarjev so Adept, Azatin, Neemazad, Neemix, Precision, Preclude (Greer in Diver, 2000).

2.2.7.5 Biotično zatiranje resarjev

Biotično zatiramo resarje s koristnimi organizmi, kot so plenilci (predatorji), parazitoidi, entomopatogene glive in entomopatogene ogorčice. Za biotično zatiranje resarjev so

ustrezne vrtnine, manj rezano cvetje, saj lahko slednje že pri majhnih kozmetičnih poškodbah hitro izgublja na ceni. Vrtnine so bolj tolerantne na poškodbe resarjev. Najbolj učinkoviti koristni organizmi za zatiranje resarjev so predatorske pršice iz rodu *Amblyseius* (*Neoseiulus*), plenilske stenice iz rodu *Orius*, v tleh živeče predatorske pršice iz rodu *Hypoaspis*, kožekrilec *Thripobius semiluteus* Bouček, tenčičarice (*Chrysoperla* sp.), polonica *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville, entomopatogene glive in entomopatogene ogorčice.

Odrasle samice predatorskih pršic iz rodu *Amblyseius* (*Neoseiulus*) (slika 10) pojedjo od enega do deset resarjevih ličink na dan. Živijo le 30 dni. Pršice napadajo le ličinke in se ne premikajo prav veliko od mesta aplikacije (Greer in Diver, 2000).



Slika 10: *Amblyseius* (*Neoseiulus*) *cucumeris* (Oudemans) (*Neoseiulus*..., 2006)

Plenilske stenice iz rodu *Orius* pojedjo od pet do 20 resarjev (vseh stadijev) na dan. Žuželke plenijo tako odrasle osebkne kot ličinke. Predstavniki iz rodu *Orius* so edini plenilci, ki resarje napadajo tudi v skritih mestih, kot so na primer cvetni popki. So dobri letalci, zato se zlahka premikajo po zavarovanih prostorih (Greer in Diver, 2000).

V tleh živeče predatorske pršice iz rodu *Hypoaspis* napadajo resarje v stadiju predpupe in pupe v tleh. Pršico navadno apliciramo le enkrat v rastni dobi (Greer in Diver, 2000).

Kožekrilec *Thripobius semiluteus* B. (slika 11) je parazitoidna osica, ki parazitira ličinke resarjev (Greer in Diver, 2000).



Slika 11: Črne mumificirane ličinke resarja, parazitirane z osico *Thripobius semiluteus* (Black..., 2006)

Tenčičarice (*Chrysoperla* sp.) vnašamo v zavarovane prostore kot jajčeca ali odrasle žuželke. Ko se ličinke izležejo, se 1-3 tedne hranijo z ličinkami resarjev. Nato se preobrazijo v odrasle osebkke (slika 12). Odrasle tenčičarice se hranijo le s cvetnim prahom in nektarjem, ki ju potrebujejo za razmnoževanje (Green ..., 2006).



Slika 12: Odrasla tenčičarica (*Chrysoperla* sp.) (Neuroptera..., 2006)

Polonica *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville je splošno razširjen koristni organizem, ki je primeren tudi za zatiranje resarjev (4,500 Ladybug..., 2006).

Entomopatogene glive okužijo škodljivce neposredno prek kutikule (Charnley in sod. 1997, cit. po Driesche, 1998). Izolati glive *Verticillium lecanii* so v Evropi že vrsto let na voljo za zatiranje resarjev in drugih škodljivcev v rastlinjakih. V zadnjem obdobju se uporabljajo tudi pripravki na podlagi glive *Beauveria bassiana*, ki so registrirani za zatiranje resarjev na okrasnih rastlinah in zelenjavi v ZDA. Aktivne substance takšnih pripravkov so konidiji. Spore naneseemo na žuželke, kjer vzklijejo in predrejo kutikulo škodljivca. Gliva se nato v telesu razmnožuje in v nekaj dneh povzroči smrt škodljivca (Driesche, 1998).

2.3 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

2.3.1 Splošne lastnosti ogorčic

Ogorčice so enostavni, brezbarvni, nesegmentirani valjasti črvi, ki so veliki od 0,1 mm do nekaj metrov. Imajo prebavni, razmnoževalni, mišični, žlezni in živčni sistem, nimajo pa respiratornega (dihalnega) in cirkularnega sistema. Prav tako nimajo razvitega vida in sluha. Lahko so enospolniki, hermafroditi (v istem organizmu so spolni organi obeh spolov) ali pa se razmnožujejo s partenogenezo (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Ogorčice živijo na kopnem, zastopane pa so tudi v sladki in slani vodi (Kaya in Koppenhofer, 1999). So kozmopoliti, tako da jih lahko med drugim najdemo tudi v ekstremnih razmerah ledene Antarktike in na območjih s tropsko vročino (Urek, 1986). Večina ogorčic je prostoživečih, nekatere vrste pa so tudi paraziti rastlin in živali, vključno z žuželkami (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Za nekatere vrste ogorčic, ki parazitirajo žuželke je značilen komenzalizem². Pri drugih vrstah ogorčic, katerih ciljni organizmi so žuželke, pa se pojavlja tudi fakultativni ali obligatni parazitizem³. Pri fakultativnem parazitizmu ogorčice živijo prosto, neodvisno od žuželk in vstopijo v parazitski krog tedaj, ko se v njihovi bližini pojavi ustrezna gostiteljska žuželka (Kaya in Koppenhofer, 1999). Fakultativni parazitizem je značilen za ogorčico *Deladenus siricidicola*, ki parazitira gozdno oso iz rodu *Sirex* (Bedding, 1993, cit. po Kaya in Koppenhofer, 1999). Pri obligatnem parazitizmu ogorčice ne morejo preživeti brez njihovega gostitelja (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Tako pri fakultativnem kot tudi pri obligatnem parazitizmu ogorčice škodujejo njihovim gostiteljem, tako da postanejo sterilni, slabše plodni, imajo krajšo življenjsko dobo, slabše letajo, povzročajo pa tudi motnje v razvoju gostitelja in druge vedenjske, morfološke in fiziološke aberacije (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Ogorčice, ki lahko parazitirajo žuželke uvrščamo v 23 različnih družin. Predstavniki iz sedmih družin so potencialno ustrezni za biotično zatiranje žuželk. Te družine so Mermithidae in Tetradonematidae (red Stichosomida), Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae, Sphaerulariidae (red Tylenchida), Heterorhabditidae in Steinernematidae (red Rhabditida). Danes za zatiranje žuželk uporabljamo le ogorčice iz družin Heterorhabditidae in Steinernematidae, ki jih v tržne namene proizvajajo številna podjetja na različnih koncih sveta (Koppenhofer, 2000).

² odnos med dvema živalskima ali rastlinskima vrstama, ki običajno živita skupaj in kjer ima ena vrsta (komensal) korist od druge, medtem ko druga praktično ni prizadeta (Naravoslovje..., 1996).

³ pojav, pri katerem dva različna organizma živita v skupnosti, v kateri ima eden korist (parazit), drugi škodo (gostitelj), zajedavstvo (Slovar..., 1995).

Samo nekaj vrst ogorčic lahko povzroči smrt gostiteljev, vendar jih je težko gojiti (družina Tetradenematidae) ali so predrage za množično proizvodnjo (družina Mermithidae), imajo zelo specifične gostitelje, ki niso gospodarsko pomembni, imajo skromno virulentnost (družina Sphaerulariidae) ali pa so kako drugače neustrezne za množično uporabo za zatiranje škodljivcev. Edine parazitske ogorčice, ki so ustrezne za zatiranje žuželk in imajo usklajene lastnosti, ki so potrebne za biotično zatiranje, so tako imenovane entomopatogene ali insekticidne ogorčice iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* (Nematodes..., 2006).

2.3.2 Zgodovina entomopatogenih ogorčic

Glaser in Fox sta leta 1929 prvič našla parazitirano ličinko hrošča *Popillia japonica* (Newman) na igrišču za golf v kraju Tavistock blizu Haddonfielda v New Jerseyu (ZDA). Steiner je istega leta parazitsko ogorčico opisal kot *Neoplactana (Steinernema) glaseri*. Glaser in sodelavci so omenjeno ogorčico namnožili in jo leta 1930 uporabili v poljskem poskusu za zatiranje omenjenega hrošča v New Jerseyu. Ogorčice so aplicirali na 73 različnih parcelah. 14 dni po aplikaciji so na 72 parcelah odkrili parazitirane ličinke hrošča. Na različnih parcelah so odkrili od 0,3 % do 81 % parazitiranih ličink (Smart, 1995).

Glaserjevo pomembno odkritje bi v tistem času lahko pomenilo velik napredek v biotičnem varstvu rastlin, vendar se to ni zgodilo, saj so zaradi razširjenosti, visoke učinkovitosti in relativne cenenosti fitofarmaceutskih sredstev v obdobju 1940-1960 na Glaserjevo odkritje pozabili. V obdobju 1960-1970 je ameriška agencija za varstvo okolja (U.S. Environmental Protection Agency) dosegla prepoved uporabe nekaterih fitofarmaceutskih sredstev. Tako so se ljudje ponovno začeli zanimati za entomopatogene ogorčice kot sredstvo za biotično zatiranje škodljivcev. Od tedaj se je povečala številnost in intenzivnost raziskav na področju entomopatogenih ogorčic (Smart, 1995).

Entomopatogene ogorčice so prilagojene na življenje v tleh, zato so jih v začetku uporabljali kot biotične agense za zatiranje talnih škodljivcev. Danes jih uporabljajo tudi za zatiranje žuželk na nadzemskih delih rastlin, posebno na območjih z visoko zračno vlago (Kaya, 2000).

2.3.3 Klasifikacija in bionomija entomopatogenih ogorčic (Steinernematidae, Heterorhabditidae)

Entomopatogene ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae uvrščamo v red Rhabditida (Nematoda), deblo Nemata. Družini filogenetsko nista tesno povezani, na kar kažejo molekulske analize. Za dokončno filogenetsko določitev (uvrstitev) teh dveh družin pa bo potrebnih še več raziskav (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Družina Steinernematidae vsebuje 35 doslej znanih vrst ogorčic, ki jih prištevamo v rod *Steinernema*, in eno vrsto iz rodu *Neosteinernema*. Družina Heterorhabditidae pa vsebuje

10 vrst, ki pripadajo rodu *Heterorhabditis*. Od znanih vrst jih le nekaj uporabljajo v komercialne namene (Hazir in sod., 2003).

Razvojni krog entomopatogenih ogorčic sestavljajo jajčece, ličinka, ki se navadno štirikrat levi in imago (Ehlers, 2001). Življenski krog ogorčic iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae ima poseben stadij, imenovan »dauer juvenile, kar pomeni prevedeno iz nemščine, trpežen, trajen. Ta termin je vpeljal Fuchs (1915, cit. po Ehlers, 2001) in z njim opisal morfološko posebnost tega stadija, ki nastane kot posledica pomanjkanja hrane in prilagoditve na neugodne razmere zunaj gostitelja. V slovenskem jeziku ta stadij imenujemo infektivna ličinka ali tretji larvalni stadij ogorčice. Infektivne ličinke so edini prosto živeči stadij ogorčic in so zelo dobro prilagojene na življenje v tleh. Infektivne ličinke so »okužene« z 200-2000 simbiotskimi bakterijami, ki se nahajajo v prednjem delu njihovega črevesja (Ehlers, 2001).

Pri ogorčicah iz družine Steinernematidae se simbiotske bakterije nahajajo v veziklih prednjega dela črevesja, pri predstavnikih družine Heterorhabditidae pa so bakterije v črevesnem traktu (Hazir in sod., 2003). Infektivna ličinka, ki predstavlja 3. larvalni stadij ogorčice, je edini stadij, ki se pojavi zunaj gostiteljske žuželke. Infektivna ličinka vstopi v gostitelja prek naravnih odprtih (usta, dihalne odprtine - traheje, anus) ali pa prek tankih delov gostiteljeve kutikule (navadno le pri družini Heterorhabditidae). Nato preide v hemolimfo gostitelja (Hazir in sod., 2003).

Infektivne ličinke iz družine Heterorhabditidae imajo poseben prednji zob za strganje, tako da lahko neposredno prodrejo v gostitelja prek kutikule (Kaya in Koppenhofer, 1999). V hemolimfi imajo ogorčice optimalne pogoje za razmnoževanje. Tu se odzovejo na za zdaj še neznane signale, ki inducirajo nadaljnji razvoj infektivnih ličink. Aktivirata se žrelo, prebavni trakt in izločevalni metabolizem (Ehlers, 2001).

Hemolimfa je bogat medij, ki bakterijam omogoča rast, sproščanje toksinov in eksoencimov, ki ubijejo gostitelja (Burnell in Stock, 1999). Ko infektivna ličinka preide v hemolimfo, sprosti bakterije skozi anus (družina Steinernematidae) ali skozi usta (družina Heterorhabditidae) (Hazir in sod., 2003). Bakterije se nato začnejo v gostitelju namnoževati in proizvajati snovi (toksine in druge metabolite), s katerimi premagajo obrambno sposobnost gostitelja in ga približno dva dni po penetraciji ubijejo (Ehlers, 2001). Snovi, ki jih izločajo bakterije, poginule žuželke tudi varujejo pred napadi drugih mikroorganizmov (Hazir in sod., 2003).

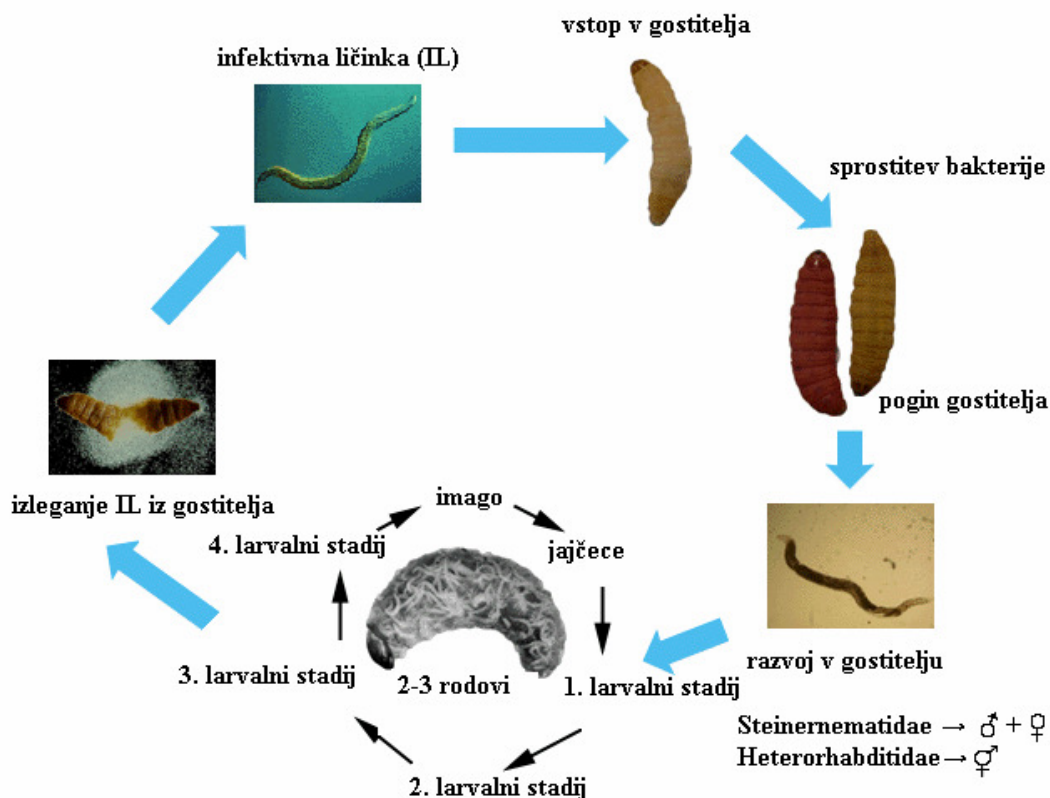
Vrste iz rodu *Heterorhabditis* ne morejo ubiti gostitelja brez prisotnosti bakterije *Photorhabdus luminescens*, medtem ko nekatere vrste iz rodu *Steinernema* proizvajajo lastne toksine, ki prispevajo k patogenosti njihovega simbionta (Ehlers, 2001). Simbiotske bakterije se hitro množijo in povzročijo smrt žuželke v 48 urah, vendar lahko pri manjših žuželkah smrt nastopi že po minuti, zaradi mehanskih poškodb, ki jih povzroči ogorčica z vstopom v gostitelja (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Bakterije se množijo in ustvarjajo ustrezne razmere za razmnoževanje ogorčic. Ogorčice nadaljujejo svoj razvoj s hranjenjem z bakterijskimi celicami in gostiteljskim tkivom, ki ga razgradijo bakterije (Hazir in sod., 2003). Ogorčice rastejo, se levijo do 4. larvalnega stadija in nato razvijejo v odrasel osebek prvega rodu. Pri gojenju ogorčic »*in vivo*« v gosenci voščene vešče (*Galleria mellonella* [Linnaeus]) so se infektivne ličinke pri 23°C preobrazile v odrasle osebkke po dveh (*S. carpocapse*) ali treh (*H.bacteriophora*) dneh (Wang in Bedding, 1996).

V gostitelju imajo ogorčice 1-3 rodove, odvisno od velikosti gostitelja (Hazir in sod., 2003). Ko v njem zmanjka hranilnih snovi, se potomstvo ogorčic razvije v infektivne ličinke, ki obdržijo simbiotske bakterije v črevesju, zapustijo gostitelja in v tleh nadaljujejo z iskanjem novega gostitelja (Ehlers, 2001). Infektivne ličinke lahko preživijo v tleh tudi več mesecev brez ustreznega gostitelja (Burnell in Stock, 1999). V idealnih razmerah infektivne ličinke iz družine Steinernematidae zapustijo svojega gostitelja 6-11 dni po vstopu vanj, ličinke iz družine Heterorhabditidae pa po 12-14 dneh (Kaya in Koppenhofer, 1999).

Ogorčice iz rodu *Steinernema* so enospolniki. Pri njih se infektivne ličinke po vstopu v gostitelja preobrazijo v moške ali ženske osebkke prvega rodu (Burnell in Stock, 1999). Zato je pomembno, da v gostitelja vstopita vsaj dve infektivni ličinki, ki se preobrazita v moški in ženski osebek. Takšna osebkka se parita in ustvarita potomstvo (Hazir in sod., 2003).

Ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* so hermafroditi, zato je dovolj, da v gostitelja vstopi le ena infektivna ličinka, ki se preobrazi v odraslega hermafrodita prvega rodu. Ta se samooplodi in ustvari potomstvo drugega rodu (Hazir in sod., 2003). Iz jajčec, ki jih odložijo hermafroditne samice, se razvijejo enospolni osebkki (samci in samice), pa tudi hermafroditne samice in infektivne ličinke (Burnell in Stock, 1999).



Slika 13: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Clarke, 2006)

Wang in Bedding (1996) sta preučevala dinamiko razvoja populacije ogorčic *H. bacteriophora* in *S. carpocapsae* v gosenici *G. mellonella*. V goseničino hemolimfo sta injicirala eno ali dve infektivni ličinki in preučevala njun razvoj. Obe vrsti ogorčic sta imeli tri rodove. Posamezna hermafroditna ogorčica *H. bacteriophora* je izlegla 1000 jajčec, ki so se razvila v drugi rod samcev in samic. Predstavniki prvega rodu hermafroditnih osebkov pa so v svojem telesu zadržali še okoli 500 jajčec. Ta so se razvila v infektivne ličinke »*via endotokia matricida*«, kar pomeni, da se iz jajčec izvalijo ličinke, ki se nadalje razvijajo v telesu ogorčice. V njej se tudi hranijo, tako da ogorčica pogine. Iz poginule ogorčice izstopijo infektivne ličinke. Predstavniki drugega rodu so odložili 6-10 jajčec, ki so se razvila v naslednji rod odraslih, ki so zadržali 30 jajčec v njihovem telesu. Iz jajčec so se razvile infektivne ličinke »*via endotokia matricida*«. Jajčeca samic tretjega rodu so se vsa razvila »*via endotokia matricida*« v infektivne ličinke, ki so zapustile svojega gostitelja.

Ogorčica *S. carpocapsae* je v prvem in drugem rodu izlegla večje število jajčec kot *H. bacteriophora*. Pri ogorčici *S. carpocapsae* se ličinke drugega rodu ne razvijejo v infektivne ličinke, dokler ne izstopijo iz materinega telesa (Burnell in Stock, 1999).

2.3.4 Simbioza entomopatogenih ogorčic z bakterijami

Vsaka vrsta entomopatogenih ogorčic je povezana z določeno vrsto simbiotskih bakterij. Na drugi strani pa je lahko ena vrsta bakterije povezana z različnimi vrstami ogorčic. Ogorčice se najbolj uspešno razmnožujejo v simbiozi z njihovimi naravnimi bakterijami (Hazir in sod., 2003).

Zvezo med ogorčico in njeno simbiotsko bakterijo imenujemo klasični mutualizem⁴. Takšna povezava omogoča organizmoma učinkovitejše izkoriščanje naravnih danosti in uspešnejše preživetje (Kvarkadabra..., 2004).

Bakterija ima v simbiozi z ogorčico naslednje koristi (Kaya in Koppenhofer, 1999):

- bakterija sama ne more preživeti v tleh, zato ji ogorčica nudi zaščito v njenem črevesju;
- ogorčica bakterijo prenese v gostiteljevo hemolimfo, saj je bakterija premalo napadalna;
- ogorčica zavira gostiteljevo antibakterijsko obrambo in s tem varuje bakterijo.

Ogorčica ima v simbiozi z bakterijo naslednje koristi (Kaya in Koppenhofer, 1999):

- bakterija hitro ubije gostitelja in ustvari s tvorbo antibiotikov, ki uničijo tekmovalne mikroorganizme, ugodno okolje za razvoj in razmnoževanje ogorčic;
- bakterija preoblikuje tkivo gostitelja v hranila, ki jih ogorčice lahko prebavijo;
- bakterije so hrana za ogorčice.

2.3.4.1 Mutualistične bakterije

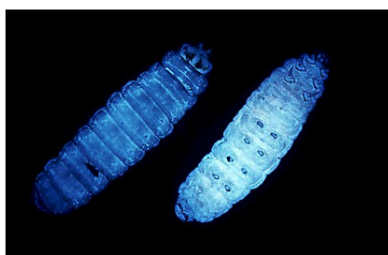
Mutualistične bakterije, ki živijo v simbiozi z entomopatogenimi ogorčicami, uvrščamo v dva rodova: *Xenorhabdus* in *Photorhabdus*. Oba rodova uvrščamo v družino Enterobacteriaceae. Bakterije iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* so premične, gram negativne, fakultativno anaerobne, ki ne sporulirajo (Hazir in sod., 2003).

V rodu *Xenorhabdus* je pet vrst, ki živijo v simbiozi z ogorčicami iz rodu *Steinernema*. To so: *X. nematophila*, *X. bovienii*, *X. poinarii*, *X. japonica* in *X. beddingii* (Hazir in sod., 2003). Rod *Photorhabdus* pa šteje tri vrste, ki so simbionti ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*. To so: *P. luminescens*, *P. temperata* in neopisana vrsta. Bakterija *Photorhabdus luminescens* ima pet podvrst: *P. luminescens* ssp. *luminescens*, *P. luminescens* ssp. *laumondii*, *P. luminescens* ssp. *akhurstii*, *P. luminescens* ssp. *kayaii* in *P. luminescens* ssp. *thraciaensis* (Hazir in sod., 2003).

⁴ pojav, da dva različna organizma živita v skupnosti, ki je za oba koristna (Slovar..., 1995).

Razlike med bakterijami iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* so naslednje (Kaya in Koppenhofer, 1999):

- za večino izolatov iz rodu *Photorhabdus* je značilna bioluminiscenca⁵, medtem ko izolati rodu *Xenorhabdus* ne bioluminiscirajo. Žuželke, ubite z bakterijami iz rodu *Photorhabdus*, se v temi značilno svetijo;
- gostitelj, ki je poginil zaradi napada ogorčice z bakterijo iz rodu *Photorhabdus*, postane rdečkast, škrlatan, oranžen, rumen, rjav ali včasih zelenkast, gostitelj ubit z bakterijo iz rodu *Xenorhabdus* pa se obarva rumenorjavo, sivo ali temnosivo.
- Izolati iz rodu *Photorhabdus* so katalitsko pozitivni, izolati iz rodu *Xenorhabdus* pa katalitsko negativni;
- Bakterije iz rodu *Photorhabdus* proizvajajo antibiotika hidroksistilben in antrokinon, bakterije iz rodu *Xenorhabdus* pa antibiotike indol, ksenoradin in ksenokumacin.



Slika 14: Gosenici voščene vešče (*Galleria mellonella* L.), napadeni z ogorčico *H. bacteriophora*. Gosenici se svetita v temi (bioluminiscenca) zaradi simbiotske bakterije *Photorhabdus luminescens* (Insect..., 2006)

Oba rodova bakterij imata dve različni celični formi: primarno formo (faza 1) in sekundarno formo (faza 2). Primarna forma je oblika celice, ki je naravno prisotna v simbiozi z ogorčico, medtem ko sekundarna forma nastane spontano, ko je bakterijska kultura v stacionarnem, nerastočem stanju. Sekundarna forma se lahko pri bakterijah iz rodu *Xenorhabdus* spremeni v primarno, medtem ko pri bakterijah iz rodu *Photorhabdus* tega pojava ne poznamo. Med primarno in sekundarno formo so številne razlike. Primarna forma proizvaja antibiotike (preprečijo sekundarno okužbo z drugimi mikroorganizmi), oddaja svetlobo (bioluminiscenca, samo pri rodu *Heterorhabditis*), absorbira določena barvila in razvije velike intracelularne vključitve, sestavljene iz kristalnih proteinov. Sekundarna forma ne proizvaja antibiotikov ali pa jih proizvaja v zelo majhnih količinah in ne absorbira barvil. Lastnosti, ki se pojavljajo pri primarni formi, so pri sekundarni formi odsotne ali pa prisotne v manjšem obsegu. Vzrok pojavljanja obeh form za zdaj še ni znan (Hazir in sod., 2003). Doslej še niso našli bakteriofaga ali plazmida, ki bi določil razliko med omenjenima formama (Akhurst, 1982).

⁵ sevanje za živali in rastline značilne svetlobe, zaradi življenjskih pojavov v organizmu, živo svetlikanje (Slovar..., 1995).

Vsi izolati bakterij iz rodu *Xenorhabdus*, gojeni »*in vitro*«, se pojavljajo v obeh formah. Vse ogorčice, ki so bile izolirane na prostem, so bile v simbiozi le s primarno fazo bakterije. Ta faza je nestabilna pri gojenju ogorčic »*in vitro*« in občasno »*in vivo*«, zato tvori sekundarno fazo, ki je lahko tudi nestabilna in se spet spremeni nazaj v primarno fazo (Akhurst in Boemare, 1988).

2.3.5 Gostitelji ogorčic

Večina entomopatogenih ogorčic ima v laboratorijskih razmerah širok spekter gostiteljev. To jim omogočajo optimalne laboratorijske razmere, kjer so neugodni okoljski dejavniki odstranjeni in je zagotovljen kontakt z gostiteljem. Ustreznost gostiteljev v laboratorijskih razmerah ugotavljamo tako, da v petrijevko položimo vlažen filtrni papir in nanj še gostitelja. Nato na filtrni papir apliciramo ogorčice pri določeni koncentraciji suspenzije. Rezultate, ki jih pridobimo v laboratoriju, ne smemo nekritično prenesti v naravne razmere. Izolati ene vrste ogorčic iz različnih geografskih območij, držav ali celo iz različnih delov istega zemljišča, včasih kažejo razlike v specifičnosti in virulentnosti do gostitelja (Bathon, 1996).

V naravnih razmerah imajo ogorčice manjše število gostiteljev kot v laboratorijskih razmerah (Bedding, 1983, cit. po Bathon, 1996). V naravi je število gostiteljev ogorčic omejeno na vrste žuželk z enako časovno in prostorsko zastopanostjo in razporeditvijo. Entomopatogene ogorčice so omejene na življenje v tleh, kjer so zavarovane pred izsušitvijo in UV sevanjem (Ehlers in Peters, 1995, cit. po Bathon, 1996). Zato so njihovi gostitelji lahko le vrste, ki se določen čas njihovega razvoja razvijajo ali živijo v zgornjih plasteh tal. Številne holometabolne žuželke se kot ličinke hranijo na nadzemskih delih rastlin in se zabubijo v tleh. Kratek čas med prehodom ličink v tla in pojavom bube v tleh, so ličinke izpostavljene napadu entomopatogenih ogorčic (Bathon, 1996).

Na prostem imajo ogorčice manj gostiteljev, imajo pa veliko sposobnost napada specifičnih ciljnih gostiteljev in majhen vpliv na neciljne žuželke. Nove vrste ogorčic navadno izolirajo iz gosenic voščene vešče (*Galleria mellonella*), zato imajo takšne ogorčice navadno širok spekter gostiteljev iz reda Lepidoptera. Nekatere vrste ogorčic, ki so jih izolirali iz narave, imajo zelo omejeno število gostiteljev. Takšna je ogorčica *S. scapterisci*, ki napada bramorja (*Gryllotalpa gryllotalpa* L.), medtem ko druge vrste žuželk napade le redko. Tudi ogorčica *S. kushidai* napada v glavnem le ličinke iz družine Scarabaeidae (Kaya, 2000).

Nekateri gostitelji so razvili posebne obrambne mehanizme, s katerimi se branijo pred napadom ogorčic. Tako nekatere ličinke žuželk preprečijo napad ogorčic s praskanjem in grizenjem (Gaugler, 1994, cit. po Bathon, 1996), druge pa so razvile posebne mehanizme obrambe s telesnimi izločki (Bathon, 1996).

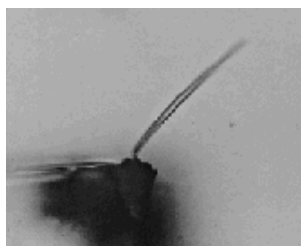
Informacije o naravnih gostiteljih so redke, saj gostitelj hitro razpade in izgine kmalu po izleganju infektivnih ogorčic. Večino za zdaj znanih vrst ogorčic so izolirali iz vzorcev tal in ne iz njihovih naravnih gostiteljev (Peters, 1996, cit. po Bathon, 1996).

2.3.6 Geografska razširjenost entomopatogenih ogorčic

Doslej ugotovljene vrste entomopatogenih ogorčic so izolirali iz tal na različnih območjih sveta. *S. carpocapsae* in *S. feltiae* sta razširjeni v zmernem podnebnem pasu, *H. bacteriophora* je pogosta na območjih s celinskim in sredozemskim podnebjem, vrsto *H. indica* pa najdemo v tropskem in subtropskem podnebnem pasu. Nekatero druge vrste, kot so *S. rarum*, *S. kushidai*, *S. ritteri* in *H. argentinensis* niso splošno razširjene (Hazir in sod., 2003).

2.3.7 Obnašanje ogorčic

Entomopatogene ogorčice imajo razvite različne strategije iskanja in napadanja njihovih gostiteljev. Nekatero ogorčice enostavno čakajo in prežijo na svoje gostitelje v bližini talnega površja. Ta skupina ogorčic je le malo aktivna in napada mobilne gostitelje (gosenice, bramorja). Takšni ogorčici sta *S. carpocapsae* in *S. scapterisci* (Kaya, 2000).



Slika 15: Ogorčica *Steinernema carpocapsae* preži na gostitelja (Using..., 2006)

Naslednja skupina entomopatogenih ogorčic je zelo mobilna in je zastopana v vsem talnem profilu. Takšne ogorčice so dobro prilagojene za napadanje manj mobilnih gostiteljev. Značilna predstavnika, ki spadata v skupino dobro mobilnih ogorčic, sta vrsti *S. glaseri* in *H. bacteriophora* (Kaya, 2000).

Večino entomopatogenih ogorčic pa prištevamo med srednje mobilne vrste, ko obravnavamo njihovo strategijo napada gostiteljev. Značilna predstavnika sta ogorčici *S. riobrave* in *S. feltiae* (Kaya, 2000).

Za infektivne ličinke je značilno posebno vedenje, pri katerem lahko 30-95 % telesa za nekaj sekund dvignejo nad talno površje. Nekatero vrste ogorčic lahko dvignejo nad talno površje več kot 95 % njihovega telesa in ga držijo pokončno brez premikanja. Predstavniki, ki na gostitelja čakajo blizu talnega površja, so dvignjeni nad tlemi več kot 70 % časa. Vrste, ki so srednje mobilne, delajo to manj pogosto in ne tako dolgo (S.

riobrave) ali pa sploh ne (*S. feltiae*). Za zelo mobilne ogorčice tako vedenje ni značilno. Dobro mobilne ogorčice se zelo dobro odzivajo na ogljikov dioksid, ki ga izločajo gostitelji. S pomočjo CO₂ ogorčice zaznajo gostitelja in ga tudi poiščejo (Kaya, 2000).

Infektivne ličinke, ki imajo zmožnost nepremičnega držanja telesa nad tlemi, lahko tudi skačejo. Skočijo lahko neposredno na svojega gostitelja, kar je značilno le za tiste vrste, ki prežijo na svoje gostitelje (Kaya, 2000).

2.3.8 Vpliv abiotičnih dejavnikov na preživetje entomopatogenih ogorčic

2.3.8.1 Svetloba

UV svetloba v minuti inaktivira in ubije ogorčice, zato je pomembno, da ogorčice apliciramo zgodaj zjutraj ali zvečer, ko je UV sevanje najšibkejše. Za nanašanje ogorčic v tla čas aplikacije ni tako pomemben, če jih z zadostno količino vode hitro speremo v tla. Za aplikacijo ogorčic na nadzemske dele rastlin je čas odločilnega pomena, saj so takšne ogorčice izpostavljene močnemu UV sevanju (Koppenhofer, 2000).

2.3.8.2 Vlaga

Vlaga je najpomembnejši dejavnik preživetja ogorčic. Ogorčice potrebujejo vodo za učinkovito gibanje. Ogorčice se v tleh gibajo z vodnim filmom, ki zapolnjuje zračne pore. Če vodni film postane pretanek (v suhih tleh) ali pa postanejo zračne pore nasičene z vodo, je gibanje ogorčic omejeno (Koppenhofer, 2000). Ogorčice lahko preživijo tudi v obdobjih, ko vode primanjkuje. Tedaj znižajo njihov metabolizem. S postopnim izločanjem vode iz telesa se prilagodijo na sušno obdobje. Infektivne ličinke lahko preživijo sušna obdobja tudi tako, da ostanejo v svojem gostitelju, dokler se razmere ne izboljšajo (Hazir in sod., 2003).

Ogorčice lahko preživijo le, če se vsebnost vode v okolju zmanjšuje postopno. Tako imajo čas, da preidejo v neaktivni stadij. To se navadno zgodi v tleh, kjer je relativna zračna vlaga v talnih porah blizu 100 %. Zmerno vlažna tla so pogoj za dobro delovanje ogorčic. Na površju rastlin in drugih izpostavljenih delih ogorčice preživijo le nekaj ur, razen, če je relativna zračna vlaga blizu 100 %. Pri aplikaciji ogorčic na nadzemske dele rastlin je potrebno suspenziji ogorčic dodajati snovi, ki ohranjajo vlago in izboljšajo obstojnost ogorčic (Koppenhofer, 2000). Morska voda nima negativnega vpliva na preživetje mnogih vrst iz rodu *Heterorhabditis*, saj so veliko vrst iz omenjenega rodu izolirali prav iz slanih tal blizu obale (Hazir in sod., 2003).

2.3.8.3 Temperatura

Vpliv temperature na ogorčice je odvisen od vrste. Na splošno so ogorčice pri nižjih temperaturah (<10-15°C) slabo mobilne, medtem ko so pri višjih temperaturah (>30-40°C) neaktivne. Najbolj ustrezne temperature za dobro učinkovitost ogorčic se pri večini

komercialno pomembnih vrst gibljejo med 20 in 30°C. Izjema sta ogorčici *S. feltiae*, ki je najučinkovitejša med 12 in 25°C in *S. riobrave* z dobro učinkovitostjo med 25 in 35°C. Izpostavljenost temperaturam pod 0°C in nad 40°C je za večino entomopatogenih ogorčic smrtna, vendar je pomemben tudi čas izpostavljenosti. Za ogorčice je optimalna temperatura, pri kateri preživijo najdlje, od 5-15°C. Višje temperature vplivajo na povečanje metabolne aktivnosti in s tem na večjo porabo rezervnih snovi, kar posledično skrajša življensko dobo ogorčic (Koppenhofer, 2000).

2.3.8.4 Tekstura tal

Preživetje ogorčic je v fino strukturiranih tleh slabše, smrtnost pa je najvišja v glinenih tleh. Višja smrtnost v fino strukturiranih tleh je povezana z manjšim deležem kisika v majhnih talnih porah. Prav tako pa je kisik omejujoči dejavnik preživetja tudi v tleh, ki so nasičena z vodo in v tleh z veliko organske snovi. Pri pH vrednosti tal med 4 in 8 ni razlik v preživetju ogorčic, medtem ko se pri pH 10 smrtnost ogorčic naglo poveča (Koppenhofer, 2000).

2.3.9 Vpliv biotičnih dejavnikov na preživetje ogorčic

Vpliv biotičnih dejavnikov na preživetje entomopatogenih ogorčic sta obsežno obravnavala Kaya in Koppenhofer (1996). Ugotovila sta, da imajo nekatere snovi, ki jih izločajo korenine, škodljiv vpliv na ogorčice v tleh. Te snovi ogorčice motijo pri iskanju gostiteljev. Če je takšna snov prisotna v gostiteljih, je zmanjšana tudi njihova zmožnost za napad in razmnoževanje ogorčic v njih.

Tudi tekmovanje ogorčic znotraj vrste, kadar v gostitelja vstopi preveliko število infektivnih ličink, lahko ogorčice oslabi. Posledično se zmanjša preživetvena sposobnost potomstva (Kaya in Koppenhofer, 1996).

Tekmovanje za gostitelja med dvema vrstama ogorčic navadno povzroči lokalni pogin ene od vrst. Dve ali več vrst ogorčic lahko istočasno sobivata v istem habitatu zaradi različnih strategij napada na žuželke ali pa zaradi različnih gostiteljev (Kaya in Koppenhofer, 1996).

Tekmovanje se lahko pojavi tudi med ogorčicami in drugimi patogeni, ki napadajo žuželke, posebno kadar jih apliciramo na isto mesto kot ogorčice. Rezultat takšnega tekmovanja za gostitelja je odvisen od kompetitorja (entomopatogene glive, bakterije, virusi), časa napada in okoljskih dejavnikov, kot sta temperatura in vlažnost tal (Kaya in Koppenhofer, 1996).

Med naravnimi sovražniki ogorčic so bile entomopatogene glive doslej najbolj preučevane. Naravni sovražniki so pokazali sposobnost zmanjšanja populacij ogorčic v tleh v laboratorijskih razmerah, vendar njihov vpliv na ogorčice v naravnih razmerah ni dovolj raziskan (Kaya in Koppenhofer, 1996).

2.3.9.1 Tekmovanje z drugimi biotičnimi agensi

Povezavo med entomopatogenimi ogorčicami in ostalimi biotičnimi agensi za zatiranje žuželk (virusi, bakterije, glive) lahko opredelimo kot indirektni antagonizem. Ogorčice in drugi agensi med seboj tekmujejo za gostitelja in ne med seboj. Gostitelje, ki so okuženi z bakterijo *Bacillus thuringiensis*, lahko napadeta tudi entomopatogeni ogorčici *S. carpocapsae* ali *H. bacteriophora*, vendar je njun nadaljnji razvoj odvisen od časa okužbe gostitelja z bakterijo. Gostitelji iz reda Lepidoptera so bili 24 ur izpostavljeni napadu ogorčic in nato še bakteriji *B. thuringiensis*, vendar je razvoj ogorčic v gostitelju potekal nemoteno. Ko pa so gostitelja najprej za 24 ur izpostavili okužbi z bakterijo in nato napadu ogorčice, je bil razvoj ogorčic moten ali pa ga sploh ni bilo. V zadnjem zgledu je bakterija *B. thuringiensis* preprečila razvoj simbiotski bakteriji ogorčice, v prvem zgledu pa je simbiotska bakterija ogorčice preprečila bakteriji *B. thuringiensis* nadaljnji razvoj (Kaya, 2002).

Barbercheck in Kaya (1990, cit. po Kaya, 2002) sta ugotovila, da se ogorčici *S. carpocapsae* ali *H. bacteriophora*, ki sta bili v gosenico voščene večče (*Galleria mellonella*) aplicirani istočasno z entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana*, normalno razvijata, imata potomstvo in skoraj vedno preprečita razvoj glivi. Razvoj glive preprečijo antibiotiki, ki jih izločata simbiotski bakteriji *Xenorhabdus nematophilus* in *Photorhabdus luminescens*. V primeru, ko so voščeno veččo najprej okužili z glivo in nato izpostavili napadu ogorčic, pa je prišlo med njima do antagonizma. Gliva namreč lahko izloča mikotoksine, ki so ogorčicam škodljivi.

Ogorčice se v tleh izogibajo gostiteljev, ki so okuženi z glivo *B. bassiana* in raje poiščejo novega gostitelja. Takšno ravnanje zelo zmanjša antagonistične interakcije med glivo in ogorčico (Kaya, 2002).

2.3.9.2 Naravni sovražniki ogorčic

Med naravne sovražnike ogorčic štejemo viruse, bakterije, protozoe, nematofagne glive in nevretenčarje. Edini virusni naravni sovražniki simbiotskih bakterij so fagi. Lizogene fage so izolirali iz simbiotske bakterije *Photorhabdus luminescens* in iz rodu *Xenorhabdus*. Ti fagi imajo lahko katastrofalne posledice, če se pojavijo pri množičnem namnoževanju ogorčic. Lizogeni fag bakterijskega simbionta zmanjša zaloge hrane za razvijajoče se ogorčice in s tem negativno vpliva na učinkovitost infektivnih ličink (Kaya in sod., 1998).

Iz prosto živečih ličink ogorčic so izolirali tudi bakterije iz rodu *Pasteuria*, ki naj bi bile ogorčicam potencialno škodljive (Kaya in sod., 1998). Iz ogorčic so izolirali tudi protozoa *Pleistophora schubergi* (Wilson) in *Nosema mesnili* (Paillot), ki sta patogena za žuželke, prav tako pa okužujeta tudi ogorčico *S. carpocapsae* (Kaya in sod., 1998).

V tleh se pojavljata dve formi nematofagnih gliv. Predatorska ali loveča gliva ogorčico ujame s pomočjo specializiranih hif, ki prodrejo v telo gostitelja. Druga forma pa je endoparazitska gliva, ki svojega gostitelja okuži s konidiji ali zoosporami. Konidiji ali zoospore lahko okužijo kutikulo ogorčic ali pa jih ogorčice zaužijejo. V telesu ogorčic zrastejo hife, ki prodrejo njihovo telesno votlino (Kaya in sod., 1998).

Predatorske glive lahko preživijo kot saprofiti, medtem ko so endoparazitske glive v naravi obligatni paraziti (Kaya in sod., 1998). Najbolj znana in preučena endoparazitska nematofagna gliva je *Hirsutella rhossiliensis* Minter and Brady, najbolj znana rodova nematofagnih predatorskih gliv pa sta *Arthrobotrys* in *Monacrosporium*. Nematofagne glive imajo zelo specifične gostitelje ali pa so generalisti, ki kažejo zelo različno virulenco do različnih vrst ogorčic (Kaya in sod., 1998).

Infektivne ličinke so velikokrat plen nevretenčarjev, kot so skakači (Collembolla), pršice, vodne žuželke in druge. Tudi mravlje, ki se hranijo z žuželkami, ki so jih ubile ogorčice, lahko prispevajo k zmanjšanju populacije ogorčic z uničenjem razvijajočih se ogorčic v gostitelju (Kaya in sod., 1998).

2.3.10 Formulacije entomopatogenih ogorčic za shranjevanje in aplikacijo

Shranjevanje entomopatogenih ogorčic je težavno, saj imajo velike potrebe po kisiku in vlagi, so občutljive na temperaturne ekstreme, poleg tega moramo upoštevati tudi obnašanje infektivnih ogorčic, kar tudi zmanjša uporabnost različnih formulacij. Glavni cilji pri razvijanju različnih formulacij so ohranjanje kakovosti ogorčic, povečanje stabilnosti hranjenja, enostavnost transporta in uporabe ogorčic, zmanjšanje stroškov transporta in povečanje preživetja ogorčic med in po aplikaciji (Grewal, 2002).

Infektivne ličinke entomopatogenih ogorčic lahko nekaj dni do nekaj tednov shranjujemo v hladilnih zbiralnikih v vodi, ki ji dodajamo kisik. Ta metoda shranjevanja ogorčic ni najbolj ustrezna, saj v vodi težko vzdržujemo koncentrirano suspenzijo ogorčic ($>6 \times 10^5$ infektivnih ličink/ml), zahteva visoko koncentracijo kisika, kontaminacija povečuje stroške shranjevanja in zmanjšuje kakovost ogorčic. Zato so razvili številne ustrežnejše formulacije ogorčic (Grewal, 1998).

2.3.10.1 Formulacije z aktivnimi ogorčicami

Primerne so za shranjevanje manjšega števila ogorčic pri nižjih temperaturah (Grewal, 1998). V teh formulacijah so ogorčice polno aktivne in se prosto gibljejo po substratu. Inertne substance so poceni in enostavne za izdelavo, vendar je potrebno inertne formulacije med transportom in shranjevanjem hladiti. To pa poveča stroške, zato so takšne formulacije drage (Grewal, 2002).

A) Polieter-poliuretanska gobica

Tekočo suspenzijo ogorčic v koncentraciji 500-1000 infektivnih ličink/cm² nanesejo na površje gobice. Navadno na gobico nanesejo 5-25x10⁶ infektivnih ličink in jo vstavijo v plastično posodico. Ogorčice na gobici lahko shranjujemo 1-3 mesece pri 5-10°C (Grewal, 1998).

Pred aplikacijo gobico namočimo v vodo in z ožemanjem ogorčice speremo v vodo. Ta formulacija je ustrezna za uporabo na majhnih vrtovih in dvoriščih in ne za večje površine, kjer je potrebno večje število ogorčic (Grewal, 1998).

B) Vermikulit

Vermikulit ima številne prednosti pred shranjevanjem ogorčic na gobici. V vermikulitu je višja koncentracija ogorčic, omogoča daljši rok shranjevanja in bolj priročno aplikacijo. Tekočo suspenzijo ogorčic zmešajo s finim vermikulitom in jo nato shranijo v polietilenskih vrečkah. V vermikulitu lahko ogorčico *S. feltiae* hranimo 4-5 mesecev, ogorčico *H. megidis* pa več kot 3 mesece pri 3-5°C (Grewal, 1998).

Vermikulit z ogorčicami dodamo v vodo, premešamo in apliciramo s škropilnikom ali z namakalnim sistemom. Slaba stran te formulacije je slaba sposobnost shranjevanja pri sobni temperaturi (Grewal, 1998).

2.3.10.2 Formulacije z zmanjšano gibljivostjo ogorčic

V inertnih materialih so ogorčice visoko aktivne, shranjeno energijo hitro porabijo in včasih celo uidejo iz formulacije. Zato so razvili formulacije, s katerimi zmanjšajo gibljivost ogorčic, in sicer s fizičnim ujetjem ogorčic ali pa z uporabo metabolnih inhibitorjev. Inhibitorji se uporabljajo pri alginatnem gelu, tekoči gelski formulaciji in tekočem koncentratu (Grewal, 2002).

A) Alginatni gel

Uporablja se prevleka kalcijevega alginata, ki je nanesen na plastično mrežico. Ogorčice tako ostanejo ujete v gelu. Pred aplikacijo alginatni gel raztopimo v vodi s pomočjo natrijevega citrata in tako sprostimo ogorčice. Pripravki ogorčice *S. carpocapsae* na podlagi alginatnega gela so bili prvi, ki so pri sobni temperaturi ohranili kakovost ogorčic 3-4 mesece. Ta formulacija je neustrezna za aplikacijo na večjih površinah, zlasti zaradi zamudne ekstrakcije ogorčic in velikega števila odpadnih plastičnih mrežic (Grewal, 1998).

Tekočo gelsko formulacijo so razvili nekoliko pozneje. Ima nekatere izboljšave, njena prednost pa je zlasti enostavnejša uporaba. V tej formulaciji so ogorčice ujete v viskoznem

tekočem gelu, ki ga enostavno izstisnemo iz papirnate tube neposredno v posodo za škropljenje. Ta formulacija je enostavnejša za uporabo, vendar je rok uporabe ogorčic v tekočem gelu krajši kot v alginatnem gelu (Grewal, 1998).

B) Aktivno oglje

Yukawa in Pitt (1985, cit. po Grewal, 2002) sta opisala formulacijo, kjer so ogorčice ujete med aktivnim ogljem v prahu, ki služi kot adsorbent. Oglje, pomešano z ogorčicami, se hrani v zaprti embalaži, da se zmanjša vsebnost kisika. Ta formulacija ima številne pomanjkljivosti. Je slabo stabilna pri sobni temperaturi, nepriročna za uporabo, poleg tega pa so stroški te formulacije previsoki. Zato je ta formulacija tržno manj zanimiva (Grewal, 2002).

C) Tekoči koncentrat

Ta formulacija sestoji iz suspenzije ogorčic, kateri so dodani metabolični inhibitorji in antimikrobne snovi. Metabolični inhibitorji zmanjšajo potrebe ogorčic po kisiku in s tem omogočijo preživetje ogorčic v skoraj brezračnem prostoru. Ta formulacija omogoča poceni transport velike koncentracije ogorčic ($7-8 \times 10^6$ infektivnih ličink/ml) pri sobni temperaturi. $7-7,5 \times 10^9$ ogorčic *S. caprocapsae* lahko shranjujemo več kot šest dni pri sobni temperaturi v 10-litrski posodi (Grewal, 1998).

2.3.10.3 Formulacije z delno izsušenimi ogorčicami

Ogorčice potrebujejo za svoj optimalni metabolizem, aktivnost in gibanje okrog telesa vodni film. Energijske rezerve, shranjene v ogorčicah, se med njihovo aktivnostjo stalno porabljajo. Cilj teh formulacij je zmanjšati aktivnost ogorčic in s tem porabo shranjenih energijskih rezerv. V nekaterih formulacijah so to dosegli z izsuševanjem ogorčic. Entomopatogene ogorčice so zmožne le delne izsušitve (Grewal, 2002).

A) Gel

Bedding in Butler (1994, cit. po Grewal, 2002) sta razvila formulacijo, v kateri so ogorčice zmešane s poliakril amidom, ki zmanjša vodno aktivnost gela in ogorčice delno izsuši. Preživetje ogorčic v tej formulaciji je pri sobni temperaturi zelo nizko. Poleg tega je formulacija slabo topna v vodi in maši škroplilne šobe (Grewal, 2002).

B) Glina

Pri tej formulaciji so infektivne ličinke zmešane z glino. Glina odstrani odvečno površinsko vlago in povzroči delno dehidracijo ogorčic. Bedding je formulacijo opisal kot sendvič, ki je sestavljen iz ene plasti ogorčic med dvema plastema gline. Slabosti te

formulacije so, da je ne moremo hraniti pri sobni temperaturi, se slabo topi v vodi, maši škropilne šobe in ima slabo razmerje med ogorčicami in glino (Grewal, 1998).



Slika 16: Entomopatogene ogorčice v glineni formulaciji (Insect..., 2006)

C) Močljivi prah

S to formulacijo je bil dosežen napredek v shranjevanju ogorčic (predvsem pri rodu *Heterorhabditis*), saj so ogorčice iz omenjenega rodu znane, da se slabo shranjujejo. Formulacija je podobna tisti na podlagi vermikulita in je enostavna za aplikacijo, ker se prah dobro zmeša z vodo. Formulaciji so dodani absorbenti, ki ogorčice delno izsušijo. Ta formulacija omogoča shranjevanje ogorčice *H. megidis* 2-3 mesece pri sobni temperaturi (Grewal, 1998).

D) Zrnata formulacija

Capinera in Hibbard (1987, cit. po Grewal, 1998) sta opisala zrnato formulacijo ogorčic, v kateri so zrna sestavljena iz lucerninega zdroba in pšenične moke. Pozneje so Connick in sod. izdelali zrna s pšeničnim glutenskim matriksom, na katerega so nanесли ogorčice. Ta formulacija se je imenovala »Pesta«. Cilj formulacije je bil zmanjšati vlažnost, kar je preprečilo migracijo ogorčic in zmanjšalo možnost kontaminacije. Granule so zaradi izsušitve postale zelo trde in zato težko topne v vodi. Preživetje ogorčic v takšni formulaciji je bilo nizko (Grewal, 1998).

Velik napredek je bil narejen z odkritjem granul WDG (water dispersible granule). Ogorčice so zaprte v zrnih premera 10-20 mm. Zrna so sestavljena iz mešanice različnih tipov kremenca, gline, celuloze, lignina in škroba. Zrna oblikujejo tako, da kapljice suspenzije ogorčic razpršijo po omenjeni mešanici. Ko kapljice z ogorčicami pridejo v stik z mešanico prahu, se začnejo oblikovati zrna. Kapljice adsorbirajo prah, ki se nalaga okoli zrn. Ko se okrog kapljice naredi ovoj, zrna presejejo, zapakirajo in pripravijo za transport. Zrnati matriks prepušča kisik, ki ga ogorčice potrebujejo med transportom in shranjevanjem. Ogorčice v zrnih so izpostavljene fiziološkemu procesu sušenja in preidejo v delno izsušeno stanje (Grewal, 1998).

WDG formulacija je obstojna tako pri shranjevanju v hladilniku, kot tudi pri sobni temperaturi. Takšni pripravki so bolj tolerantni na ekstremne temperature, enostavnejši za uporabo, prednost pa predstavlja tudi manjša količina odpadnega materiala (mrežice in embalaža). Ogorčico *S. carpocapsae* lahko v WDG formulaciji hranimo 4-5 mesecev pri 25°C, vrsti *S. feltiae* in *S. riobrave* pa 2-3 mesece (Grewal, 1998).

2.3.10.4 Formulacije za večjo učinkovitost po aplikaciji

Infektivne ličinke imajo nizko stopnjo preživetja po nanosu v tla, kar zmanjšuje njihovo učinkovitost. Z razvojem formulacij, s katerimi bodo ogorčice zavarovane pred ekstremnimi okoljskimi dejavniki med in po aplikaciji, lahko izboljšamo učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri parazitiranju gostiteljev (Grewal, 2002).

A) Voščena vešča (*Galleria mellonella* L.)

Ogorčice lahko apliciramo v tla tudi posredno, z napadenimi gosenicami voščene vešče, v katerih so razvijajoče se ogorčice. Formulacija je sestavljena iz napadenih gosenic, ki so prekrite z glino. Glina varuje mrtve gosenice, da ne razpadejo in da se med seboj ne sprimejo. Napadene gosenice položimo na tla. Iz njih začnejo počasi izhajati infektivne ličinke, ki preidejo v tla, kjer začnejo iskati svoje gostitelje (Grewal, 2002).

B) Kapsule

Kapsule so navadno sestavljene iz kalcijevega alginatnega gela, v katerem so ujete ogorčice. Ko kapsule položimo na mokra tla, jih večina ogorčic zapusti v tednu dni (Grewal, 2002).

C) Vabe

Formulacija v obliki vab je sestavljena iz infektivnih ličink, inertnega nosilca (koruzni zdrob, pšenični otrobi) in spodbujevalca hranjenja (glukoza) ali feromonov. Hrana ali feromoni privabljajo žuželke v vabo, kjer so izpostavljene napadu ogorčic. Takšna formulacija je posebno učinkovita pri ogorčicah, ki svojega gostitelja čakajo v zasedi in zato ne zapuščajo formulacije. Takšni vrsti sta *Steinernema carpocapsae* in *S. scapterisci*. Ta formulacija, ki ogorčicam zagotavlja stik s ciljnimi škodljivcem, se je v nekaterih primerih izkazala za bolj učinkovito od nekaterih kemičnih pripravkov. Takšne vabe so bile učinkovite pri zatiranju muh in ščurkov v stanovanjih (Grewal, 2002).

2.3.11 Kontaminacija formulacij z mikroorganizmi

Velika težava pri formulacijah ogorčic je kontaminacija z mikroorganizmi. Shranjevanje formulacij pri sobni temperaturi in visoki vsebnosti vlage nudi optimalne razmere za razvoj različnih bakterij (*Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans* in *E. gergoviae*), kvasovk

(*Candida guilliermondi*) in gliv (*Penicillium expansum* Link, *P. chrysogenum* in *Mucor circinelloides* van Tieghen). Kontaminacija z mikroorganizmi ne vpliva vedno na razvoj ogorčic, vendar pa zmanjša sposobnost formulacije za mešanje z vodo, kar lahko povzroči zamašitev škropilnih šob. Za zmanjšanje kontaminacij z mikroorganizmi, v formulacijah ogorčic uporabljamo antimikrobne snovi (Grewal, 1998).

2.3.12 Metode aplikacije

Entomopatogene ogorčice večinoma uporabljamo kot kurativno sredstvo, priporoča pa se tudi njihova profilaktična (varovalna) aplikacija v tla, v bližino semena in sadik (Grewal in Georgis, 1998, cit. po Grewal, 2002).

2.3.12.1 Oprema za aplikacijo

Za nanašanje ogorčic se uporabljajo navadne naprave za aplikacijo tekočine, s katerimi sicer nanašamo fitofarmacevtska sredstva in gnojila. Ogorčice lahko apliciramo tudi prek namakalnih sistemov. Za učinkovito zatiranje talnih žuželk, je priporočljivo aplicirati 750-1890 l vode ha⁻¹. Ta odmerek je ustrezen za škropilnike z velikimi šobami. Mnogi sodobni škropilniki porabijo manj tekočine, navadno 200-400 l/ha. Ogorčice lahko apliciramo tudi z manjšo količino vode, vendar je potrebno pred in po aplikaciji zemljišče namakati, da nadomestimo primankljaj vode. Z namakanjem pred aplikacijo namočimo tla, kar ogorčicam omogoči gibanje. Z namakanjem po aplikaciji, pa ogorčice, ki so ostale na rastlinah, speremo v tla. Po aplikaciji ogorčic moramo zemljišče namakati, še preden se nanesene kapljice na rastlinah posušijo (Grewal, 2002).

Mrežice in filtri pri škropilnih napravah morajo imeti dovolj velike odprtine, da omogočajo nemoten prehod ogorčic. Ogorčica *S. carpocapsae* lahko prehaja skozi mrežico škropilnika z odprtinami velikosti 100 µm. Ogorčice večjih vrst, kot sta *S. glaseri* in *H. megidis*, pa potrebujejo večje odprtine za nemoten prehod skozi mrežico škropilnika. Priporočljivo je, da pred aplikacijo ogorčic v škropilni napravi odstranimo filter in mrežico (Grewal, 2002).

Visok pritisk in kroženje tekočine po škropilnem (črpalnem) sistemu, lahko poškodujeta ogorčice. Ogorčice ne smejo biti izpostavljene pritisku, večjemu od 2070 kPa. Ko temperatura v škropilni posodi, škropilnih ceveh ali šobah preseže 30°C, oprema ni ustrezna za uporabo (Grewal, 2002).

Pomanjkanje kisika v škropilni posodi in ceveh lahko prav tako inaktivira ogorčice. To se navadno zgodi, ko je oprema za aplikacijo izpostavljena neposrednemu soncu, kar zviša temperaturo in poveča potrebo ogorčic po kisiku. Ogorčice, ki jim primanjkuje kisika, so manj gibljive in zato bolj nagnjene k poškodbam zaradi sonca in dehidracije (Grewal, 2002).

2.3.12.2 Aplikacija ogorčic v tla

Nanašanje ogorčic na zemeljsko površje je najbolj pogosta metoda njihove aplikacije. Velik vpliv na preživetje in gibanje ogorčic v tleh imata vlažnost in tip tal. Na splošno je preživetje in aktivnost ogorčic manjša v glinenih kot v peščenih tleh (Kaya, 1990, cit. po Grewal, 2002). Ogorčice potrebujejo tanek vodni film za gibanje. Če so tla nasičena z vodo, je gibanje ogorčic onemogočeno. Vsebnost vode v tleh vpliva na sposobnost ogorčic za iskanje gostitelja. Dobro gibljivi vrsti *H. bacteriophora* in *S. glaseri*, ki gostitelje iščeta aktivno, sta bolj občutljivi na ekstremna nihanja vode v tleh, v primerjavi z vrsto *S. carposapsae*, ki na svoje gostitelje čaka in preži (Grewal in Webber, 1995, cit. po Grewal, 2002). Vzdrževanje optimalne vlage v tleh po aplikaciji poveča aktivnost in učinkovitost ogorčic (Shetlar in sod., 1988, cit. po Grewal, 2002).

Tudi temperatura tal vpliva na učinkovitost ogorčic. Višje temperature zmanjšajo preživetveno sposobnost ogorčic, medtem ko nižje temperature vplivajo na njihovo manjšo aktivnost in učinkovitost (Grewal in sod., 1994, cit. po Grewal, 2002). Temperatura tal med 12 in 28°C je ustrezna za aplikacijo večine vrst ogorčic. Če je temperatura tal višja od 28°C je priporočljivo, da tla pred aplikacijo namakamo, ker s tem znižamo njihovo temperaturo (Grewal, 2002).

2.3.12.3 Foliarna aplikacija ogorčic

Pri foliarni aplikaciji ogorčic je pomembna velikost kapljic in razporeditev poškropljene suspenzije ogorčic po površju rastlin. Klasični hidravlični razpršilniki naredijo veliko drobnih kapljic, ki pa so premajhne, da bi bile v njih infektivne ličinke. Nanos ogorčic na rastline lahko izboljšamo z dodajanjem nekaterih snovi v suspenzijo ogorčic, ki jo apliciramo (Grewal, 2002).

Foliarna aplikacija je manj uspešna zaradi neprilagodljivosti ogorčic na izsušitev, ekstremne temperature in UV sevanje. Večina ogorčic gostitelje ne napada pri temperaturah nad 32°C, razlikujejo pa se po odpornosti na UV sevanje in izsušitev (Grewal, 2002).

2.3.12.4 Združljivost ogorčic z drugimi sredstvi

Entomopatogene ogorčice pridejo pogosto v stik z drugimi sredstvi, kot so fitofarmacevtska sredstva, gnojila in druge snovi, s katerimi oskrbujemo rastline. Pogosto se priporoča mešanje večih snovi in njihova skupna aplikacija, ker s tem prihranimo precej časa in denarja. Ogorčice so odporne na večino kmetijskih kemikalij, vključno s herbicidi, fungicidi, akaricidi in insekticidi, če so jim izpostavljene krajši čas (2-6 ur). Zato jih lahko nanašamo skupaj. Nekateri fitofarmacevtski pripravki lahko zmanjšajo učinkovitost in preživetveno sposobnost ogorčic. Snovi, ki so dodane fitofarmacevtskim sredstvom, so lahko tudi toksične za ogorčice. Okolju spejmljiv insekticid Neemazal-T/S v priporočenih koncentracijah ni toksičen, vendar navadno vsebuje detergente, ki so lahko zelo toksični.

Tudi različne formulacije enakega fitofarmacevtskega pripravka se lahko razlikujejo v toksičnosti do ogorčic. Zaradi vedno novih aktivnih dodatkov in formulacij, se stalno spreminja tudi strupenost fitofarmacevtskih pripravkov, kar predstavlja precejšnjo težavo pri njihovem združevanju z entomopatogenimi ogorčicami (Grewal, 2002). Ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* so bolj občutljive na nekatera fitofarmacevtska sredstva kot ogorčice iz rodu *Steinernema* (Grewal, 2002).

Nekateri fitofarmacevtski pripravki imajo sinergističen⁶ vpliv na ogorčice; pri aplikaciji izboljšajo učinkovitost ogorčic. Sinergistično delovanje na entomopatogene ogorčice imajo na primer imidakloprid, teflutrin in patogeni, kot sta *Paenibacillus popillae* in *Bacillus thuringiensis*. Ogorčice so kompatibilne tudi z večino anorganskih gnojil, ki pa negativno vplivajo na naravne populacije ogorčic. Kompostirana gnojila in urea nimata negativnih vplivov na ogorčico *S. carposapsae*, medtem ko svež gnoj zmanjšuje njeno virulentnost (Grewal, 2002).

2.3.13 Gojenje ogorčic

Entomopatogene ogorčice so ustrezne za masovno proizvodnjo. Prvič so bile gojene že pred več kot 70 leti. Danes ogorčice tržno gojijo s tremi metodah: »*in vivo*«, »*in vitro*« na trdih gojiščih in »*in vitro*« v tekočih gojiščih. Vsaka od metod ima svoje prednosti in slabosti, ki so povezane s stroški proizvodnje in znanjem, potrebnim za uspešno in kakovostno proizvodnjo (Shapiro in Gaugler 2002).

2.3.13.1 Gojenje » *in vivo*«

Gojenje »*in vivo*« je metoda, pri kateri entomopatogene ogorčice gojimo v njihovih gostiteljih. Pri tem sistemu uporabljamo tako imenovane bele vabe (angl. white traps), v katere ujamemo infektivne ogorčice, ko po izleganju migrirajo iz svojih gostiteljev (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gostiteljske žuželke izpostavimo ogorčicam v petrijevkah, ki jih prekrijemo z absorpcijskim (filtrirnim) papirjem. Po 2-5 dneh napadene gostitelje premestimo na bele vabe. Če je gostitelj, preden ga premestimo na bele vabe, predolgo izpostavljen infektivnim ličinkam, lahko pride do motenj v razmnoževanju ogorčic (Shapiro in Gaugler, 2002).

Bela vaba je sestavljena iz narobe obrnjene petrijevke, prekrite s filtrirnim papirjem, na katerega položimo napadene gostitelje. To petrijevko položimo v nekoliko večjo petrijevko, ki je napolnjena z vodo. Robovi filtrirnega papirja se dotikajo vode, s čimer se ohranja vlažnost napadenih gostiteljev, iz katerih se bodo izlegle ogorčice. Infektivne

⁶ pojav, pri katerem kombinirano delovanje dveh snovi povzroči večji učinek, kot bi pričakovali iz posameznega učinka vsake snovi (Naravoslovje..., 1996).

ličinke, ki se izležejo iz gostiteljev, migrirajo prek filtrirnega papirja v vodo, kjer se ujamejo. Ogorčice nato odstranimo iz vode in jih uporabimo (Shapiro in Gaugler, 2002).



Slika 17: Bela vaba – white trap (Nguyen, 2005)

Za tržne namene je potrebno povečati koncentracijo ujetih ogorčic, preden jih ustrezno formuliramo. To lahko dosežemo z vakuumsko filtracijo ali centrifugacijo. Preden ogorčice formuliramo, jih lahko hranimo v prezračevanih posodah več kot tri mesece. Možnost kontaminacije ogorčic je pri metodi z belimi vabami minimalna, saj infektivne ličinke migrirajo stran od poginulega gostitelja in vse potencialne povzročitelje okužbe pustijo za sabo. Možnost okužb lahko dodatno zmanjšamo z uporabo nekaterih antimikrobnih snovi, v katerih spiramo izlegle ogorčice (Shapiro in Gaugler, 2002).

Najpogosteje se za gostitelja uporablja zadnji stadij gosenice voščene vešče (*Galleria mellonella*). Voščena vešča je zelo ustrezna, ker je dovzetna za napad večine vrst entomopatogenih ogorčic, je zelo razširjena, enostavna za gojenje in ima številno potomstvo (Shapiro in Gaugler, 2002).

Kakovost ogorčic je boljša, če za gojenje izberemo gostitelje, ki živijo v naravnem okolju ogorčic. Ogorčice se dobro prilagodijo gostitelju, v katerem so gojene, vendar se lahko njihova učinkovitost na ciljne gostitelje zmanjša, če ti niso v sorodu z gostiteljem, v katerem so bile vzgojene. Voščena vešča je najbolj učinkovit gostitelj za gojenje entomopatogenih ogorčic, vendar ni najbolj ustrezna za visoko učinkovitost na ciljne organizme (Shapiro in Gaugler, 2002).

Proizvodnja ogorčic »in vivo« je odvisna tudi od števila ogorčic, ki jim je izpostavljen gostitelj. Če je število ogorčic premajhno, je smrtnost gostiteljev nizka, če pa je število preveliko, je njihova proizvodnja skromna zaradi znotrajvrstne tekmovalnosti. Selvan in sod. (1993, cit. po Shapiro in Gaugler, 2002) navajajo, da optimalna začetna gostota ogorčic na gostitelja (100 osebkov *H. bacteriophora* ali *S. carpocapsae* na eno ličinko *G. mellonella*) poveča plodnost in preživetje ogorčic (Shapiro in Gaugler, 2002).

Optimalna temperatura za gojenje ogorčic v ličinki *G. mellonella* je za 12 vrst entomopatogenih ogorčic med 18 in 28°C. Za razvoj ogorčic je potrebna tudi zadostna

zračnost in vlažnost. V belih vabah mora biti substrat stalno vlažen, da se napadene gosenice ne izsušijo in da omogočimo izleglim ogorčicam, da migrirajo stran od gostitelja. Prevelika količina vode ogorčicam onemogoči gibanje in ovira izmenjavo kisika (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje »*in vivo*« in »*in vitro*« je podvrženo tudi izrojevanju sojev ogorčic. Ko ogorčice izoliramo iz narave in jih gojimo v laboratorijih ali masovno v tržne namene, so izpostavljene razmnoževanju v sorodstvu. To lahko vpliva na poslabšanje kakovosti in virulence, zmanjšanje tolerance na okoljske dejavnike in poslabšanje razmnoževalnih sposobnosti (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje »*in vivo*« zahteva najmanj tehničnega znanja in denarnega vložka. Kakovost ogorčic, proizvedenih s to metodo, je enaka ali celo boljša od kakovosti ogorčic, proizvedenih z ostalimi metodami. Metoda pa je manj ustrezna zaradi višjih stroškov dela in žuželk, ki jih moramo imeti stalno na voljo (Shapiro in Gaugler, 2002).

Stroške proizvodnje pa lahko občutno zmanjšamo z mehaniziranjem sistema. Tak izpopolnjen sistem gojenja »*in vivo*« je opisal Lotek. Lotkov sistem omogoča večjo in bolj mehanizirano proizvodnjo ogorčic. Pri metodi belih vab je potrebna začetna inokulacija z ogorčicami in nato prestavitev napadenih gosenic voščene vešče na mesto, kjer ogorčice ulovimo. Ta postopek zahteva veliko dela in s tem povezanih stroškov. Lotkov sistem je sestavljen iz perforiranega (naluknjane) in avtomatskega sistema za lovljenje ogorčic, pri katerem infektivne ličinke z vodo spiramo navzdol v zbiralnik. Pri metodi belih vab je število zbranih ogorčic manjše, kadar izlegle ogorčice ne dosežejo petrijevke z vodo, ki služi kot zbiralnik, iz katerega pobiramo izlegle ogorčice. Lotkov sistem ima pršilec, ki spira ogorčice v zbiralnik, ki ga zato dosežejo skoraj vse ogorčice. Zaradi manjših izgub se v tem sistemu poveča proizvodnja ogorčic. Lotkov sistem omogoča, da na majhnem prostoru, prej in z manj dela pridobimo več ogorčic, kot pri metodi belih vab (Shapiro in Gaugler, 2002).

Druga metoda, ki omogoča večjo proizvodnjo ogorčic »*in vivo*«, je metoda, pri kateri ogorčice gojimo v gostiteljih, ki jih nato neposredno apliciramo na zeleno mesto. Iz gostitelja infektivne ličinke ogorčic preidejo neposredno v tla. S to metodo se izognemo številnim stroškom proizvodnje: prestavljanju napadenih gostiteljev, zbiranju, pobiranju in koncentriranju ogorčic. Rezultati raziskav kažejo, da so ogorčice, ki preidejo iz gostitelja neposredno v tla, bolj napadalne do svojih gostiteljev in se bolje razporedijo v tleh kot ogorčice, aplicirane v tekočih formulacijah (suspenzijah). Napadene gostitelje ne uporabljamo za aplikacijo v tržne namene zaradi težav pri shranjevanju, transportu in občutljivosti gostiteljev. Shapiro in sod. (2001, cit. po Shapiro in Gaugler, 2002) so ugotovili, da s tem, ko gostitelje prevlečemo s plastjo škroba in gline, povečamo njihovo toleranco na izsušitev, stabilnost in preprečimo prelom ali sprijemanje med aplikacijo (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje ogorčic z metodo »*in vivo*« je ustrezno predvsem za domačo uporabo, zaradi prej omenjenih omejujočih dejavnikov. Metoda je ustrezna tudi za manjšo proizvodnjo, kjer so tržne niše, kjer ni konkurence proizvodnje »*in vitro*«, za države v razvoju, kjer je delovna sila poceni (Shapiro in Gaugler, 2002).

2.3.13.2 Gojenje »*in vitro*« na trdem gojišču

Entomopatogene ogorčice so na začetku gojili »*in vitro*« na trdem gojišču, brez predhodnega nanosa bakterij na gojišče. Nato so spoznali, da je rast ogorčic boljša z bakterijami na gojišču. Tako so spoznali pomen naravnega simbionta in monoksenične kulture so postale podlaga za gojenje »*in vitro*« (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje »*in vitro*« na trdem gojišču je sprva potekalo v dvodimenzionalnem prostoru, največkrat v petrijevkah, z različnimi mediji na podlagi hrane za pse, svinjskih ledvic, goveje krvi in drugih živalskih proizvodov. Wouts (1981, cit. po Shapiro in Gaugler, 2002) je razvil novo gojišče iz kvasnega ekstrakta, hranljive juhe, rastlinskih olj in sojine moke (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje »*in vitro*« na trdem gojišču je hitro napredovalo, še posebno po odkritju tridimenzionalnega gojitvenega sistema z ogorčicami na zdrobljeni polieter-poliuretanski peni. Pri tem tekoče gojišče zmešajo s peno in ga nato avtoklavirajo. Nato na gojišče najprej nanesejo bakterije, tri dni pozneje pa ogorčice. Ogorčice lahko začnemo pobirati 2-5 tednov po nanosu na medij (Shapiro in Gaugler, 2002).

Kakovost gojišč se je še naprej hitro izboljševala. Nekaj časa so še uporabljali gojišča živalskega izvora (svinjska ledvica, kurje drobovje...), ki so jih pozneje zaradi manjših stroškov in boljše obstojnosti izboljševali z dodajanjem različnih snovi, kot so pepton, kvasni ekstrakt, jajca, sojina moka in svinjska mast (Shapiro in Gaugler, 2002).

Bedding (1981, cit. po Shapiro in Gaugler, 2002) je prvi razvil metodo gojenja ogorčic »*in vitro*« v erlenmajerici. Entomopatogene ogorčice in bakterije so gojili v erlenmajerici na zdrobljeni poliuretanski peni, prepojeni s hranljivim medijem. Najprej so nanegli bakterije, nekaj dni pozneje pa še ogorčice. Kmalu so spoznali, da lahko bakterije in ogorčice nanesejo na gojišče istočasno, če bakterije uporabijo v dovolj visoki koncentraciji (Shapiro in Gaugler, 2002).

Za večjo proizvodnjo ogorčic so razvili številne izboljšave, ki omogočajo boljše zračenje, avtomatsko mešanje, avtoklaviranje in pobiranje ogorčic z uporabo centrifugalnih sit. Sestavine hranljivega gojišča imajo velik pomen pri proizvodnji ogorčic. Povečanje kakovosti in količine maščob v gojišču, vpliva na večjo proizvodnjo in kakovost ogorčic. Maščobe, ki imajo podobno sestavo kot naravni gostitelji ogorčic, so najustreznejše. Neposreden vpliv na proizvodnjo ogorčic imajo tudi beljakovine in soli v gojišču (Shapiro in Gaugler, 2002).

2.3.13.3 Gojenje »*in vitro*« v tekočem gojišču

Z razvojem gojenja ogorčic v tekočem mediju v bioreaktorju, so se pojavile težave z zagotavljanjem zadostne količine kisika v gojišču. Vendar so kmalu razvili različne inovacije v mešanju in zračenju gojišča (Shapiro in Gaugler 2002).

Gojenje ogorčic v tekočem gojišču poteka tako, da v gojišče najprej dodajo bakterije in nato infektivne ogorčice. Tekoče gojišče sestavljajo različne sestavine, kot so sojina moka, kvasni ekstrakt, koruzno olje, olje osata, jajčni rumenjaki, kazein, pepton, mleko v prahu, jetrni ekstrakt in holesterol. Čas gojenja je odvisen od gojišča in vrste ogorčic in lahko traja tri tedne, vendar pa večina vrst ogorčic doseže največjo proizvodnjo v dveh tednih ali manj. Ko je gojenje končano, ogorčice odstranijo iz gojišča s centrifugiranjem (Shapiro in Gaugler, 2002).

Glavna sestavina tekočega medija so lipidi. Povečanje lipidov za 2,5-8 %, občutno poveča proizvodnjo ogorčic. Na proizvodnjo pozitivno vpliva tudi koncentrat glukoze in kvasni ekstrakt (Shapiro in Gaugler, 2002).

Gojenje ogorčic v tekočem mediju »*in vitro*« je najcenejša metoda za proizvodnjo ogorčic (Shapiro in Gaugler, 2002). Ta tehnologija ima najmanjše stroške masovne proizvodnje in je ustrezna za večje podjetja. Za uspešno gojenje je potreben ustrezen medij, zastopanost le ene bakterije in dodaten kisik. Prenos kisika v reaktorju mora biti nadzorovan, da se ogorčice ne poškodujejo.

Številne vrste ogorčic uspešno gojijo v 7500–80000 litrskih bioreaktorjih. Proizvedejo lahko 250000 infektivnih ogorčic/ml, odvisno od vrste ogorčic (Hazir, 2003). Proizvodnja ogorčic iz rodu *Heterorhabditis* je v tekočem mediju zelo nestabilna. Takšne ogorčice imajo tudi daljši razvoj (Koppenhofer in Kaya, 2002).



Slika 18: Bioreaktor za gojenje ogorčice *Heterorhabditis bacteriophora* v tekočem mediju (Improvement..., 2006)

2.3.14 Vpliv entomopatogenih ogorčic na neciljne organizme

Ogorčice imajo na populacije neciljnih organizmov le majhen vpliv, vendar je potrebno te odnose kljub temu pozorno spemljati (Bathon, 1996).

2.3.14.1 Vpliv na vretenčarje

Negativen vpliv ogorčic na vretenčarje so v laboratorijskih razmerah ugotovili pri paglavcih žab *Bufo marinus* (L.), *Pseudacris regilla* (Baird and Girard) in *Xenopus laevis* (Daudin). Paglavce so izpostavili 20-100 infektivnim ličinkam/cm² vodne površine. Ugotovili so, da so ogorčice napadle paglavce stare 2-4 dni. Ogorčice so izolirali le iz manjšega števila mrtvih paglavcev, v katerih ni bilo zaznati razmnoževanja ogorčic (Bathon, 1996).

V laboratorijskih razmerah so zabeležili tudi smrt kuščarja *Anolis marmoratus* Dumeril and Bibron, ki so ga hranili z visoko koncentrirano suspenzijo ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*. Glede na to, da se kušcar v naravnih razmerah prehranjuje s členonožci, sadjem in drugimi deli rastlin, je zelo malo verjetno, da bi prišel v stik s tako visoko koncentracijo entomopatogenih ogorčic. Prav tako ne bi bilo škodljivih posledic, če bi ogorčice aplicirali na površje kuščarja (Bathon, 1996).

Entomopatogene ogorčice nimajo negativnega vpliva na višje vretenčarje, kot so podgane, zajci ali opice. Zaradi ogorčic so v laboratorijskih razmerah poginili le plazilci in dvoživke, ki so bili izpostavljeni zelo visokim koncentracijam ogorčic (Bathon, 1996).

Vse raziskave kažejo, da vretenčarji niso gostitelji entomopatogenih ogorčic in da aplikacija ogorčic za zatiranje škodljivcev nima škodljivih vplivov nanje (Bathon, 1996).

2.3.14.2 Vpliv na mehkužce

Ogorčice *H. heliothidis*, *S. glaseri*, *S. carpocapsae* in *S. feltiae* v laboratorijskih razmerah povzročijo smrt polža *Oncomelania hupensis*. Najbolj učinkovita je vrsta *S. glaseri*, ki se v polžu uspešno razvija in razmnožuje. Nadaljnji poskusi pa bodo potrebni, da se ugotovi ali je omenjena vrsta polža gostitelj ogorčic tudi v naravnih razmerah. Možnost okužbe kopenskih polžev je v naravnih razmerah majhna, saj je gostota ogorčic v zgornji plasti tal nizka (Bathon, 1996).

2.3.14.3 Vpliv na členonožce

Številni pajkovci so bili v laboratorijskih razmerah izpostavljeni napadu entomopatogenih ogorčic. Ogorčica *S. carpocapsae* napada klopa *Ixodes scapularis* Say, pri katerem povzroči smrt s penetriranjem prek genitalnih por. Ta klop živi v zgornjih plasteh tal, kjer ogorčice lahko vplivajo na zmanjšanje njegovih populacij (Bathon, 1996).

2.3.14.4 Vpliv na žuželke

Večina podatkov o vplivu ogorčic na gostitelje je bilo pridobljenih s testi v petrijevkah, kjer so žuželke (ličinke, bube, imagi) izpostavljene visokim koncentracijam ogorčic na koščku filtrirnega papirja. Z metodo talnega poskusa želimo posnemati razmere, ki jih imajo ogorčice in njihovi gostitelji v naravi. Tako so pridobljeni rezultati veliko bolj relevantni. S to metodo je Jungova preizkusila delovanje dveh vrst ogorčic (*H. bacteriophora*, *S. feltiae*) na nekatere koristne žuželke. Plastično posodico (100 ml) je napolnila s 70 g tal in dodala $0,5-2 \times 10^6$ infektivnih ličink/m². Nato je v posodico dodajala ličinke različnih vrst žuželk in opazovala smrtnost ličink in bub, ki so se zabubile v tleh. Smrtnost ličink muhe *Eupeodes corollae* (Fabricius) je bila 30 %, medtem ko je bila smrtnost ličink in bub talnih hroščev *Platynus dorsalis* (Pontoppidan) in *Poecilus cupreus* (Linnaeus) 90 %. Podobno študijo sta naredila tudi Polking in Heimbach (1992, cit. po Bathon, 1996), ki sta ugotovila 60 % smrtnost ličink hrošča *Aleochara bilineata* (Gyll.) po aplikaciji ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*. Na podlagi rezultatov talnega poskusa, ki je bliže naravnim razmeram, vpliva ogorčic na neciljne organizme ne moremo izključiti. Za potrditev rezultatov pa bodo potrebne še številne raziskave v naravnih razmerah (Bathon, 1996).

Po aplikaciji se populacija ogorčic hitro zmanjšuje (Smits, 1996, cit. po Bathon, 1996). Njihova obstojnost je navadno kratka. Hitro zmanjševanje populacije ogorčic po aplikaciji zmanjša verjetnost njihovega napada na neciljne organizme (Bathon, 1996).

Entomopatogene ogorčice se širijo počasi in le na manjše razdalje. Daljše razdalje lahko prepotujejo le v njihovih gostiteljih, ki so lahko preneseni na nova območja. Tako je odrasel bramor transportno sredstvo za ogorčico *S. scapterisci*. Parkman (1994, cit. po Bathon, 1996) je našel tega gostitelja, napadenega z ogorčico *S. scapterisci*, več kot 20 km stran od mesta nanosa ogorčic. Razširitev entomopatogenih ogorčic od mesta aplikacije tako ne moremo povsem izključiti (Bathon, 1996).

Entomopatogene ogorčice se uporabljajo za zatiranje škodljivcev v mnogih državah in na skoraj vseh celinah. Zaradi omejene možnosti širjenja ogorčic, je njihov vpliv na organizme omejen le na območja, kjer jih apliciramo (Bathon, 1996).

Preden ogorčice vnesemo v določeno okolje, moramo najprej preučiti njihov vpliv na neciljne organizme. Mnoge laboratorijske raziskave kažejo, da je večina ogorčic polifagnih. Pri polifagnih naravnih sovražnikih je večja verjetnost, da bodo napadli neciljne organizme in s tem vplivali na sestavo celotne favne. Vendar doslej večjega vpliva ogorčic na neciljne organizme v naravnih razmerah niso ugotovili (Bathon, 1996).

Večina držav (tudi Slovenija) regulira vnos neendemičnih vrst ogorčic v naravno okolje. Nekatere države ne dovolijo vnosa tujerodnih vrst ogorčic, dokler niso narejene ustrezne raziskave, s katerimi potrdijo, da je vnos določene tujerodne vrste upravičen in da ne škodi domorodni favni (Bathon, 1996).

2.3.15 Entomopatogene ogorčice v prihodnosti

Z gojenjem ogorčic v laboratoriju lahko vplivamo na izgubo variabilnost genetskega materiala (parjenje v sorodstvu, neustrezna selekcija). Težave se pojavijo že pri premajhni populaciji ogorčic, ki jih izoliramo iz določenega geografskega območja, s čimer zmanjšamo genetsko raznolikost. Da bi ohranili genetsko raznolikost, bi morali določeno vrsto ogorčic izolirati iz večih geografskih območij in izolate med seboj križati, da bi pridobili hibride (Hazir, 2003).

Ogorčice lahko izboljšamo s selektivnim razmnoževanjem ali genetskim inženiringom. Rezultat uspešnega selektivnega razmnoževanja je povečana toleranca ogorčic na mraz, izboljšana učinkovitost in odpornost na namaticide. Hashmi in sod. (1995, cit. po Hazir, 2003) so plazmid, ki so ga izolirali iz prosto živeče ogorčice *Caenorhabditis elegans* vstavili v ogorčico *H. bacteriophora* in s tem dosegli višjo toleranco na visoke temperature (Hazir, 2003).

Pri simbiotskih bakterijah poskušajo doseči genetski napredek predvsem na področju izboljšanja patogenosti bakterij, večje specifičnosti do gostiteljev in odpornosti na ekstremne okoljske dejavnike. Nekatere gene, ki nosijo zapis za proteine z insekticidnim delovanjem, so izolirali iz bakterij in ugotovili, da imajo potencial za zatiranje žuželk. Preučujejo možnosti, da bi gene za ta protein vstavili v rastline in s tem dosegli odpornost na določene vrste žuželk (Hazir, 2003).

2.3.16 Možnosti zatiranja resarjev z entomopatogenimi ogorčicami

Mnoge raziskave kažejo, da resarje (Thysanoptera) lahko uspešno zatiramo z entomopatogenimi ogorčicami. Največ raziskav je bilo narejenih s cvetličnim resarjem (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), ki je ena od najbolj razširjenih vrst resarjev v svetu. Škodo povzroča na številnih poljščinah, okrasnih rastlinah in vrtninah. Razvojni krog cvetličnega resarja sestavlja jajčece, ličinka prvega in drugega stadija, predpupa, pupa in odrasli osebki. Odrasli osebki in ličinke se navadno hranijo na listih in cvetovih rastlin, včasih celo na plodovih. Pupe se nahajajo v skritih delih rastlin ali v tleh. V stadiju pupe se žuželka ne hrani in se premika le tedaj, ko jo zmoti kakšen zunanji dejavnik, na primer plenilec. Kemično zatiranje cvetličnega resarja je težavno, saj se zadržuje na skrith delih rastlin, kjer ga kapljice insekticida težko dosežejo. Poleg tega je resar razvil toleranco na mnoge insekticide (Chyzik in sod., 1996a).

Predpupe in pupe cvetličnega resarja se navadno zadržujejo v tleh tretjino razvoja. V tleh pa so izpostavljene napadu apliciranih entomopatogenih ogorčic. Chyzik in sod. (1996) so naredili laboratorijski poskus, v katerem so poskušali zatreti cvetličnega resarja z različnimi vrstami ogorčic. Resarje so namnoževali na listih fižola (*Phaseolus vulgaris* L.) v 720 ml steklenih kozarcih. V vsak kozarec so dodali 20 mladih samic resarjev, ki so jih 2-3 dni gojili pri $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ relativni zračni vlagi in razmerjem med dnevom in

nočjo 16:8. Nato so samice odstranili in pri enakih razmerah počakali, da so se resarji izlegli in prešli v stadij predpupe in pupe. Predpupe in pupe so nato uporabili za nadaljnje poskuse (Chyzik in sod., 1996a).

Prvi poskus so izvedli v 100 ml plastičnih posodicah, ki so jih napolnili s 15 ml sterilnih peščenih tal (0,7 cm sloj). V vsako posodico so dodali eno vrsto ali sev ogorčic *Steinernema riobravus*, *Steinernema feltiae* sev Ger. in sev UK, *Heterorhabditis bacteriophora* sev HP88 in sev IS5. Vsako obravnavanje je vsebovalo kontrolo (voda brez ogorčic), 500, 1000, 5000 in 10000 infektivnih ličink v 1 ml vode. V vsako posodico so skupaj s fiziološkim listom položili 20 predpup in pup resarja. Vsako obravnavanje je imelo 10 ponovitev. Posodice so zaprli in jih devet dni hranili pri $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 70 ± 5 % relativni zračni vlagi in razmerjem med dnevom in nočjo 16:8. Učinkovitost ogorčic so ugotavljali s štetjem izleglih imagov, ki so jih ujeli 5., 7. in 9. dan od začetka poskusa. Najvišjo smrtnost predpup in pup sta povzročili ogorčici *S. feltiae* sev UK (35,5-50 %) in *H. bacteriophora* sev HP88 (41,8-73,4 %) in sicer pri vseh koncentracijah suspenzij. *S. feltiae* sev Ger. in *S. riobravus* sta povzročili visoko smrtnost resarjev le pri višjih koncentracijah, ko je bilo v 1 ml suspenzije 5000 in 10000 infektivnih ličink (56,1-75 % smrtnost resarjev pri izpostavljenosti ogorčici *S. feltiae* sev Ger. in 36,5-71,7 % smrtnost pri izpostavljenosti ogorčici *S. riobravus*). Ogorčica *H. bacteriophora* sev IS5 je pri različnih koncentracijah dosegla najmanjšo smrtnost resarjev (najvišja smrtnost je bila 15,4 %) (Chyzik in sod., 1996a).

V drugem poskusu so uporabili enake posodice, ki so jih napolnili s 75-80 ml sterilnih peščenih tal (4 cm sloj). Vanje so posadili seme bombaža. Ko je seme vzklilo, so posodice prenesli v 720 ml steklen kozarec. Nato so v vsak kozarec dodali 15 oplojenih samic resarjev in jih dva dni gojili pri temperaturi $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Nato so samice odstranili. Čez 10 dni so resarji že dosegli stadij predpupe. Nato so na površje tal v posodice nanесли ogorčice. V tem poskusu so uporabili ogorčice *S. riobravus*, *S. feltiae* sev UK in *H. bacteriophora* sev HP88. Ogorčice so na površje tal nanесли v enakih koncentracijah kot v prvem poskusu, le da tokrat niso uporabili koncentracije 500 infektivnih ličink/ml vode. Učinkovitost ogorčic so ugotavljali na 5., 7. in 9. dan s štetjem izleglih imagov. Vsako obravnavanje je imelo 10 ponovitev (Chyzik in sod., 1996a).

V drugem poskusu, kjer so imeli v posodicah 4 cm sloj tal, je visoko smrtnost resarjev povzročila le ogorčica *H. bacteriophora* sev HP88. Smrtnost resarjev je bila 36,1 %, 42,1 % in 48,8 % pri koncentracijah 1000, 5000 in 10000 infektivnih ličink/ml. Ogorčici *S. riobravus* in *S. feltiae* sev UK sta bili manj učinkoviti. Najvišja smrtnost resarjev, ki sta jo dosegli, je bila le 19,9 % (Chyzik in sod., 1996a).

Chyzik in sod. (1996a) so preučevali tudi vpliv ogorčic na razmnoževanje cvetličnega resarja. 20 odraslih oplojenih samic, ki so v drugem poskusu preživele tretiranje z ogorčicami pri koncentraciji 1000 in 5000 infektivnih ličink/ml, so prenesli v steklen kozarec, v katerem je bil posejan bombaž. V ta kozarec niso dodali ogorčic. Samice resarja so po treh dneh (ko so odložile jajčeca) odstranili. Nato so prešteli izlegle image

drugega rodu. Pri samicah, ki so v drugem poskusu preživele tretiranje z ogorčico *H. bacteriophora* sev HP88, so zabeležili 40 % zmanjšanje potomstva drugega rodu v primerjavi s kontrolo. Ogorčici *S. riobravis* in *S. feltiae* sev UK nista vplivali na zmanjšanje potomstva drugega rodu resarja.

Učinkovitost ogorčic je odvisna tudi od lokacije gostitelja v tleh. Ogorčica *H. bacteriophora* je dobro gibljiva vrsta, ki svoje gostitelje išče globlje v talnem profilu. Zato je bila daleč najbolj učinkovita tudi v drugem poskusu z debeljšim slojem tal. Kot kažejo rezultati raziskave, je ogorčica *H. bacteriophora* sev HP88 najbolj ustrezna za nadaljnje raziskave na področju zatiranja talnih stadijev cvetličnega resarja (Chyzik in sod., 1996a).

Ebssa in sod. (2004) so naredili podoben poskus, kjer so v laboratorijskih razmerah ugotavljali učinkovitost različnih vrst in sevov entomopatogenih ogorčic za zatiranje cvetličnega resarja. Uporabili so koncentracijo 5000 infektivnih ličink/ml vode. Ogorčice so aplicirali v tla in ugotavljali smrtnost talnih stadijev resarja (ličinka 2. stadija, predpupa in pupa). Smrtnost resarjev je bila med 2,6 in 60 %. Ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* so povzročile višjo smrtnost resarjev kot ogorčice iz rodu *Steinernema*. Z višanjem koncentracije ogorčic se je povečevala tudi smrtnost resarjev. Vrsta *Heterorhabditis indica* sev LN2 je bila najbolj učinkovita tako pri nižji (2500 infektivnih ličink/ml) kot tudi pri višji koncentracij (25000 infektivnih ličink/ml), saj je povzročila 30-90 % smrtnost resarjev.

Rezultati raziskave, ki so jo naredili Ebssa in sod. (2001a) kažejo, da le visoka koncentracija suspenzije ogorčic (10000 infektivnih ličink/ml) zagotovi visoko smrtnost vseh talnih stadijev cvetličnega resarja. Koncentracija suspenzije ogorčic od 2500–5000 infektivnih ličink/ml povzroči le 30-50 % smrtnost cvetličnega resarja.

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* sev HP88 je zelo učinkovita pri zatiranju talnih stadijev cvetličnega resarja. Ogorčice *S. riobravis*, *S. feltiae* sev Ger. in *S. feltiae* sev UK, pa so imele le majhno učinkovitost zatiranja stadijev predpupe in pupe cvetličnega resarja. Najmanjšo smrtnost resarjev je povzročila ogorčica *H. bacteriophora* sev IS5 (Chyzik in sod., 1996b).

Učinkovitost različnih sevov entomopatogenih ogorčic za zatiranje ličink poznega drugega stadija in pup cvetličnega resarja so v laboratorijskih poskusih preučevali tudi Premachandra in sod. (2003a). Ogorčica *S. feltiae* (Nemaplus) je povzročila 65 % smrtnost cvetličnega resarja, vrsta *H. bacteriophora* sev HDO1 pa 59 % smrtnost. *S. carpocapsae* (Agriotos) in *S. arenarium* (Anomali) sta povzročili 40-45 % smrtnost resarjev, medtem, ko sta imeli ogorčici *Steinernema* spp. (Morocco) in *H. bacteriophora* (Nematop) le majhen vpliv na smrtnost resarjev. Poskus so izvajali pri koncentracijah 2500, 10000 in 20000 infektivnih ličink/ml. Smrtnost resarjev pa je bila zadovoljiva le pri koncentracijah višjih od 10000 infektivnih ličink/ml.

V laboratorijskih poskusih so preučevali tudi učinkovitost ogorčice *S. feltiae* sev Sylt za zatiranje talnih stadijev cvetličnega resarja pri koncentraciji 10000 infektivnih ličink/ml. Ogorčica je učinkovito zatirala vse stadije resarja. Najvišjo smrtnost resarjev (80 %) so ugotovili, ko so populacijo resarjev predstavljale le predpupe in/ali pupe (Ebssa in sod., 2001b).

Učinkovitost ogorčic za zatiranje talnih stadijev resarja pri koncentraciji suspenzije 10000 infektivnih ličink/ml, so v laboratorijskih razmerah preučevali tudi Premachandra in sod. (2003b). Vrsta *Steinernema feltiae* sev SFN je povzročila 46 % smrtnost cvetličnega resarja, ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* sev HK3 pa 61 % smrtnost.

Ebssa in sod. (2003) so v raziskavi ugotovili, da sta bili ogorčici *H. indica* in *S. bicornutum* najbolj učinkoviti ogorčici od preučevanih in sta uspešno zatirali ličinke 2. stadija, predpupe in pupe cvetličnega resarja. Optimalna temperatura za obe ogorčici je bila 25°C. Vrsta *H. indica* izvira iz tropskih območij in je bolj učinkovita pri višjih temperaturah, medtem ko vrsta *S. bicornutum* izvira iz območja z zmernim podnebjem in ima raje nekoliko nižje temperature. Ogorčica *H. indica* je bila bolj učinkovita pri večini razmer, ki jim je bila izpostavljena v poskusu.

Nekoliko drugačen poskus so leta 1995 izvedli Helyer in sod., saj so z entomopatogenimi ogorčicami zatirali pupe in predpupe cvetličnega resarja v kompostu. Ogorčica *S. carpocapsae*, je povzročila 76,6 % smrtnost resarja pri koncentraciji 25×10^4 infektivnih ličink/liter komposta.

2.3.16.1 Zgledi foliarnega zatiranja resarjev

Znani so tudi primeri foliarnega zatiranja cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) z entomopatogenimi ogorčicami. Wardlow in sod. (2002) so ugotavljali učinkovitost ogorčice *S. feltiae* za zatiranje škodljivca v tržnih nasadih krizantem, afriških vijolic in ciklam. Sprva so uporabili standardno koncentracijo ogorčic (2500 infektivnih ličink/ml vode), nato pa so koncentracijo prilagajali številčnosti populacije resarjev in vremenskim razmeram. Ogorčicam so dodali tudi močila (0,4 ml/l), ki omogočajo boljše oprijemanje suspenzije na liste rastlin. Ogorčice so s škropilnico nanašali na rastline enkrat tedensko v popoldanskem času, da so preprečili prehitro izhlapevanje suspenzije. Na hektar zemljišča so nanесли 1000 l suspenzije. Številnost resarjev v nasadih so spremljali z rumenimi in modrimi lepljivimi ploščami. Ko se je na lepljive plošče ujelo več kot pet resarjev (prag škodljivosti), so začeli izvajati dodatne ukrepe. Če je bilo nujno, so v program vključili tudi tretiranje rastlin z insekticidi.

Uporaba entomopatogenih ogorčic je spremenila pogled gojiteljev na zatiranje škodljivcev. Kakovost nasadov se je bistveno izboljšala zaradi manjše uporabe insekticidov. Tudi število resarjev na lepljivih ploščah se je bistveno zmanjšalo. Ugotovili so, da ogorčice ne napadajo samcev cvetličnega resarja, vendar to ni tako pomembno, saj ti povzročajo le majhne poškodbe na cvetovih, v primerjavi s samicami (Wardlow in sod., 2002).

V poskusu na afriških vijolicah je bila učinkovitost ogorčic zelo dobra, saj niso izgubili rastlin zaradi poškodb na cvetovih. Insekticid so uporabili le enkrat tedensko, septembra pa so ga prenehali uporabljati. V letih, pred omenjenim poskusom, ko so v nasadu trikrat tedensko uporabljali insekticid diklorvos, so bile izgube rastlin zaradi poškodb večje (Wardlow in sod., 2002).

Bennison in sod. (1998) so v poskusu ugotovili, da je ogorčica *S. feltiae* na listih verbene v laboratoriju povzročila 83 % smrtnost ličink cvetličnega resarja, zmanjšala pa je tudi število imagov na pelargonijah v rastlinjaku.

Buitenhuis in Shipp (2005) na podlagi rezultatov poskusa navajata, da foliarna aplikacija ogorčice *S. feltiae* ne povzroča omembe vredne smrtnosti ličink in imagov cvetličnega resarja. Povzroča pa visoko smrtnost predpup in pup resarja. Poskus je potekal na krizantemah v rastlinjaku.

3 METODE DELA

Poskus smo izvajali v entomološkem laboratoriju Katedre za entomologijo in fitopatologijo. V insektarijih smo namnoževali resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter), katerega ličinke in image smo nato uporabili v poskusu.

3.1 NAMNOŽEVANJE RESARJEV

Resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) smo leta 2003 naključno našli na rastlini klorofitum (*Chlorophytum comosum*) v stanovanju v Domžalah. Žuželko smo poskušali namnoževati na omenjeni rastlini v insektariju, vendar je bila številnost potomstva na tem gostitelju premajhna za potrebe naše raziskave. Nekoliko boljše rezultate smo dobili z gojenjem resarja na orhidejah *Oncidium* Gower Ramsey in *Epidendrum* 'Ballerina yellow'. Na orhidejah so resarji povzročili poškodbe le na listih, cvetovi pa so ostali nepoškodovani. V insektariju, kjer smo resarje sprva gojili na rastlini *Chlorophytum comosum*, je poleg te rastline v lončku vzkliko nekaj semena sprva neznanih rastlin. Večina resarjev gojenih na klorofitumu, se je takoj preselila na te vznikle rastline, ki smo jih pozneje določili kot *Mirabilis jalapa*. Z opazovanjem smo ugotovili, da imajo resarji najštevilčnejše potomstvo na vzniklih rastlinah *Mirabilis jalapa*. Resarje smo pozneje gojili tudi na nizkem stročjem fižolu (*Phaseolus vulgaris* L.). Na njem so se resarji tudi dobro razmnoževali.

Ugotovili smo, da so za namnoževanje resarja *H. femoralis* najustreznejši sejanci rastline *Mirabilis jalapa* in nizki stročji fižol. Domnevamo, da resarje privlačijo mlade rastline omenjenih vrst, zlasti zaradi njihovega mehkega listnega in stebelnega tkiva, v katerem je vsebnost rastlinskega soka zelo visoka.



Slika 19: Insektariji, v katerih smo namnoževali resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter) (foto: L. Kužnik)

Nadalje smo resarje namnoževali v insektariju na mladih rastlinah *Mirabilis jalapa* in nizkem stročjem fižolu. Seme mirabilisa in fižola smo posejali v lončke, ki smo jih postavili v insektarij. Ko so rastline dosegle nekaj centimetrov, smo na njih nanесли odrasle resarje. Pri temperaturi od 19°C do 25°C in relativni zračni vlagi 36-60 %, smo po 16 dneh na rastlinah opazili prve ličinke resarja. V drugem insektariju smo pri 25°C in relativni zračni vlagi okoli 100 % ličinke opazili po 13 dneh. Resarje smo pustili, da so se nemoteno razmnoževali, dokler nismo dobili dovolj ličink in imagov za izvedbo poskusa.



Slika 20: Mlade rastlinice *Mirabilis jalapa*, na katerih smo gojili resarja *Hercinothrips femoralis* (foto: L. Kužnik)

3.2 ENTOMOPATOGENI OGORČICI *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora*

V poskusu smo uporabili dve vrsti ogorčic iz različnih rodov. Med njima smo pričakovali razlike v učinkovitosti zatiranja resarja.

3.2.1 *Steinernema feltiae* (Filipjev)

Ogorčica *S. feltiae* v naravnih razmerah najpogosteje parazitira ličinke dvokrilcev (Diptera). Je ustrezna ogorčica za zatiranje škodljivcev pri nižjih temperaturah, saj je aktivna in učinkovita tudi pri temperaturi, nižji od 10°C. Slabost te vrste pa je, da je najmanj stabilna od vseh ogorčic iz roda *Steinernema*, saj je njena življenska doba v pripravkih zelo kratka. Infektivne ličinke merijo od 736 do 950 µm (Nematodes..., 2006).

3.2.2 *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar)

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* spada v skupino ogorčic, ki aktivno iščejo svoje gostitelje. Napada ličinke hroščev (gosenice). Uspešna je zlasti pri zatiranju rilčkarjev (Curculionidae). Je ustrezna vrsta za zatiranje škodljivcev pri višjih temperaturah. Pod 20°C je njena učinkovitost manjša. Ogorčica je slabo stabilna, saj je njena življenska doba v pripravkih zelo kratka, po nanosu pa ogorčice preživijo le nekaj dni. Infektivne ličinke merijo od 512 do 671 µm (Nematodes..., 2006).

3.3 DOLOČANJE KONCENTRACIJE SUSPENZIJE

Za poskus smo uporabili ogorčice v formulaciji z aktivnimi ogorčicami v gobici. Gobice z ogorčicami smo imeli shranjene v plastični posodici v hladilniku pri 2-4°C. Pred uporabo smo v petrijevko dodali destilirano vodo, vanjo namočili gobico in jo rahlo oželi. Ogorčice so z gobice prešle v vodo. Nato smo določili ustrezno koncentracijo ogorčic (1000 infektivnih ličink/ml), ki smo jo uporabili v poskusu. Ogorčice v petrijevki smo dobro premešali, da so se enakomerno razporedile v vodi. Nato smo odpipetirali 0,1 ml vode z ogorčicami in jo nakapljali po brezbarvni foliji. V vsaki kapljici smo pod stereomikroskopom prešteli ogorčice in določili koncentracijo suspenzije. Nato smo suspenzijo z ogorčicami razredčili, da smo dobili koncentracijo 1000 infektivnih ličink/ml vode.



Slika 21: Ogorčici *S. feltiae* in *H. bacteriophora* v formulaciji z aktivnimi ogorčicami v gobici (foto: S. Trdan)

3.4 PRIPRAVA POSKUSNIH POSODIC

Poskus smo izvedli v plastičnih posodicah, v katere smo namestili po en fižolov list. Liste smo vstavili v 1,5 ml eppendorfove tube (plastične epruvete), ki smo jih napolnili z vodo. S tem smo preprečili izsušitev listov. Na liste smo nato s čopičem nanesli po 5 imagov (ličink) resarja *Hercinothrips femoralis* in jih nato poškopili s 1000 infektivnimi ličinkami

v 1 ml vode. V kontrolnih posodicah smo na fižolove liste nanegli po 5 imagov (ličink) in liste poškopili z 1 ml vode brez ogorčic. Posodice smo nato zaprli s plastičnimi pokrovčki, v katere smo izrezali luknje za zračenje in jih prekrili s tanko mrežico.

3.5 POTEK POSKUSA

Poskus je potekal v treh obravnavanjih (1 - kontrola, 2 - ogorčice *Steinernema feltiae*, 3 - ogorčice *Heterorhabditis bacteriophora*) in petih ponovitvah, v sledečih razmerah: relativna vlažnost zraka 95 %, število infektivnih ličink/ml: 1000, razmerje med svetlobo in temo 4 ure : 20 ur. V poskusu smo spreminjali le temperaturo: 15°C, 20°C, 25°C. Pripravljene posodice smo štiri dni inkubirali v gojitveni komori pri izbranih okoljskih razmerah. Po štirih dneh smo v vseh posodicah s stereomikroskopom prešteli preživele in umrle image resarja. Enak postopek smo ponovili z ličinkami. Nato smo z Abbottovo formulo izračunali korigirano smrtnost imagov (ličink) za vsako poskusno posodico in rezultate statistično obdelali s programom Statgraphics plus for Windows. Na podlagi statistične analize smo ugotavljali učinkovitost entomopatogenih ogorčic *S. feltiae* in *H. bacteriophora* za zatiranje imagov in ličink resarja pri različnih temperaturah.

3.6 IZRAČUN KORIGIRANE SMRTNOSTI RESARJEV

Pred statistično analizo smo v vsaki posodici prešteli preživele in umrle image (ličinke) in z Abbottovo formulo izračunali korigirano smrtnost osebkov v vsaki posodici.

Abbottova formula:

$$\text{Korigirana smrtnost (\%)} = 100 \times (1 - n_t/n_k) \quad \dots (1)$$

n_t število preživelih resarjev po tretiranju z ogorčicami

n_k število preživelih resarjev v kontroli

Po izračunu korigirane smrtnosti smo podatke vnesli v preglednico programa Statgraphics plus for Windows in podatke statistično obdelali.

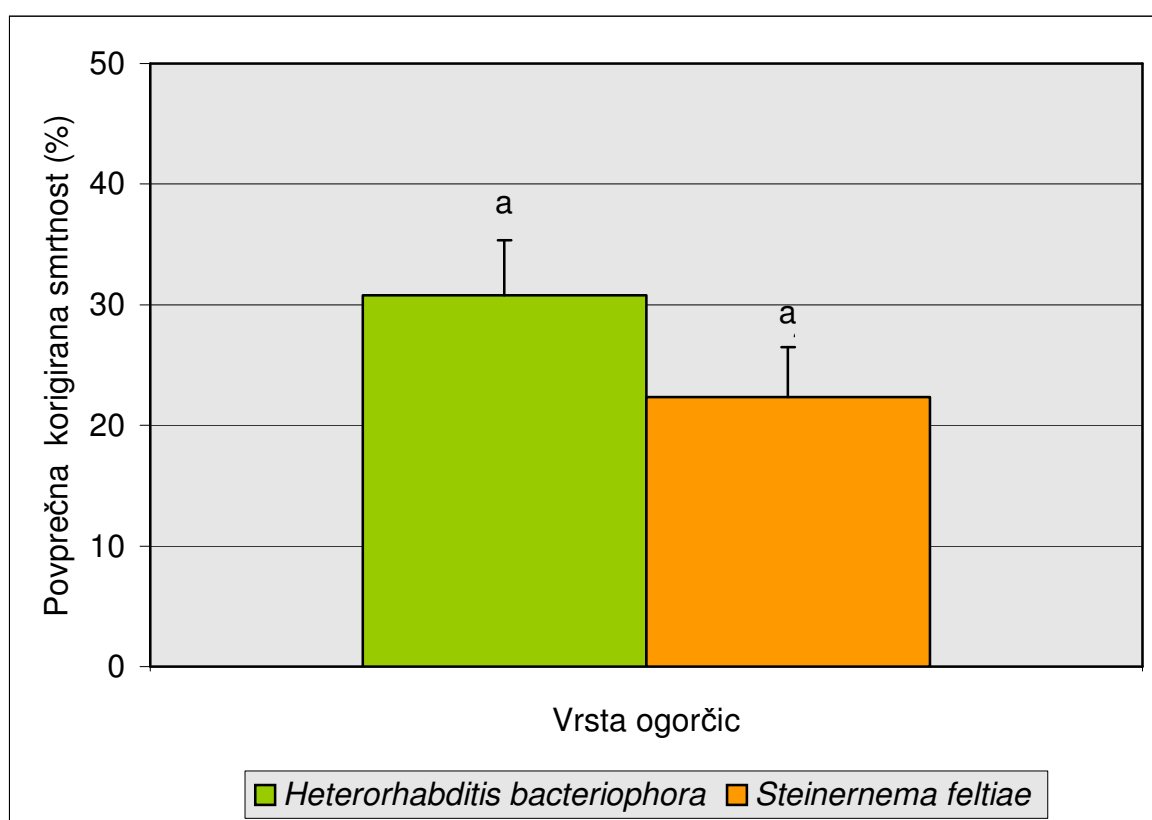
4 REZULTATI

4.1 SMRTNOST LIČINK IN IMAGOV RESARJA *HERCINOTHRIPS FEMORALIS*

Na začetku smo naredili generalno statistično analizo, s katero smo ugotavljali vpliv obeh vrst ogorčic na skupno smrtnost imagov in ličink resarja pri treh različnih temperaturah.

4.1.1 Smrtnost ličink in imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic

S statistično analizo rezultatov smo ugotovili, da med vrstama ogorčic ni bilo signifikantnih razlik v učinkovitosti zatiranja ličink in imagov resarja.

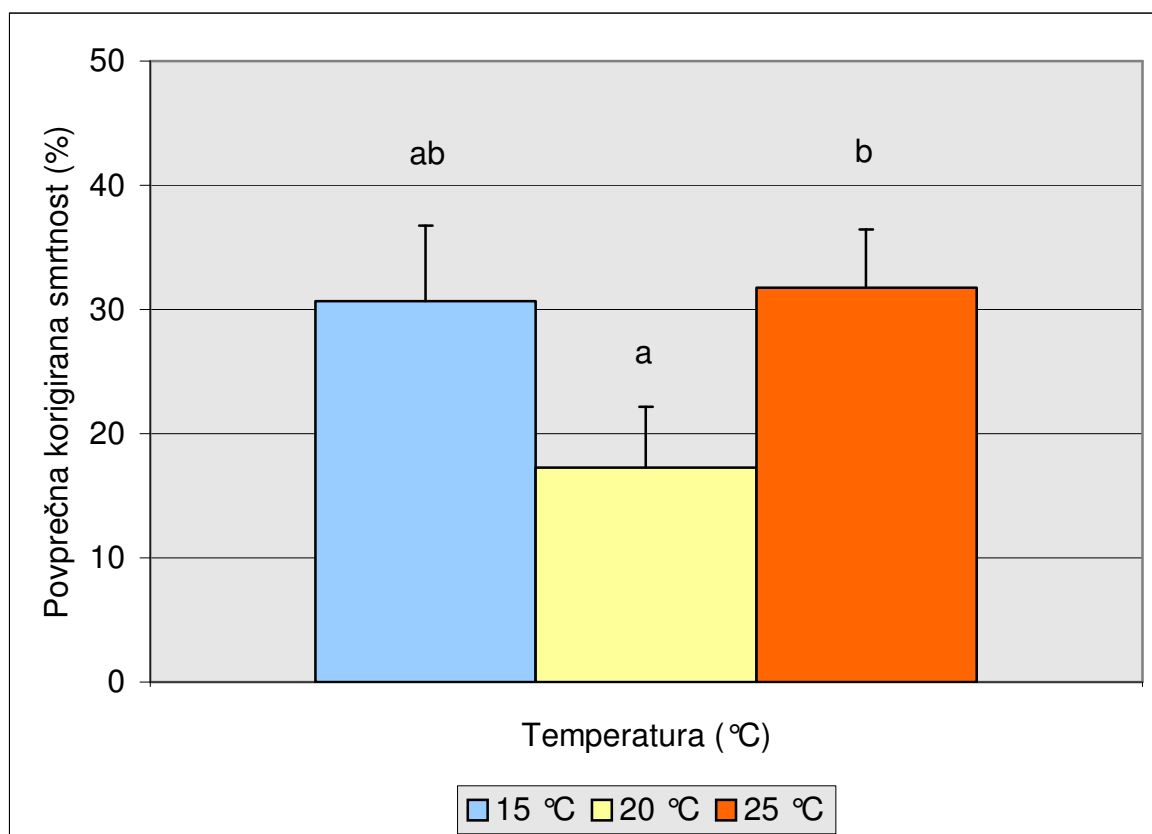


Slika 22: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja *Hercinothrips femoralis* v odvisnosti od vrste ogorčic

Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink po tretiranju z ogorčico *H. bacteriophora* je bila 30,8 %, po tretiranju z ogorčico *S. feltiae* pa 22,3 %. Opisna statistika je pokazala, da je skupna povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink, ki sta jo povzročili obe ogorčici, 26,6 % (slika 22).

4.1.2 Smrtnost ličink in imagov resarja v odvisnosti od temperature

Preizkus mnogoterih primerjav je pokazal, da med temperaturama 15 in 25°C ni bilo statistično značilnih razlik v povprečni korigirani smrtnosti ličink in imagov resarja. Statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti ličink in imagov resarja, smo zabeležili le med temperaturama 20 in 25°C.

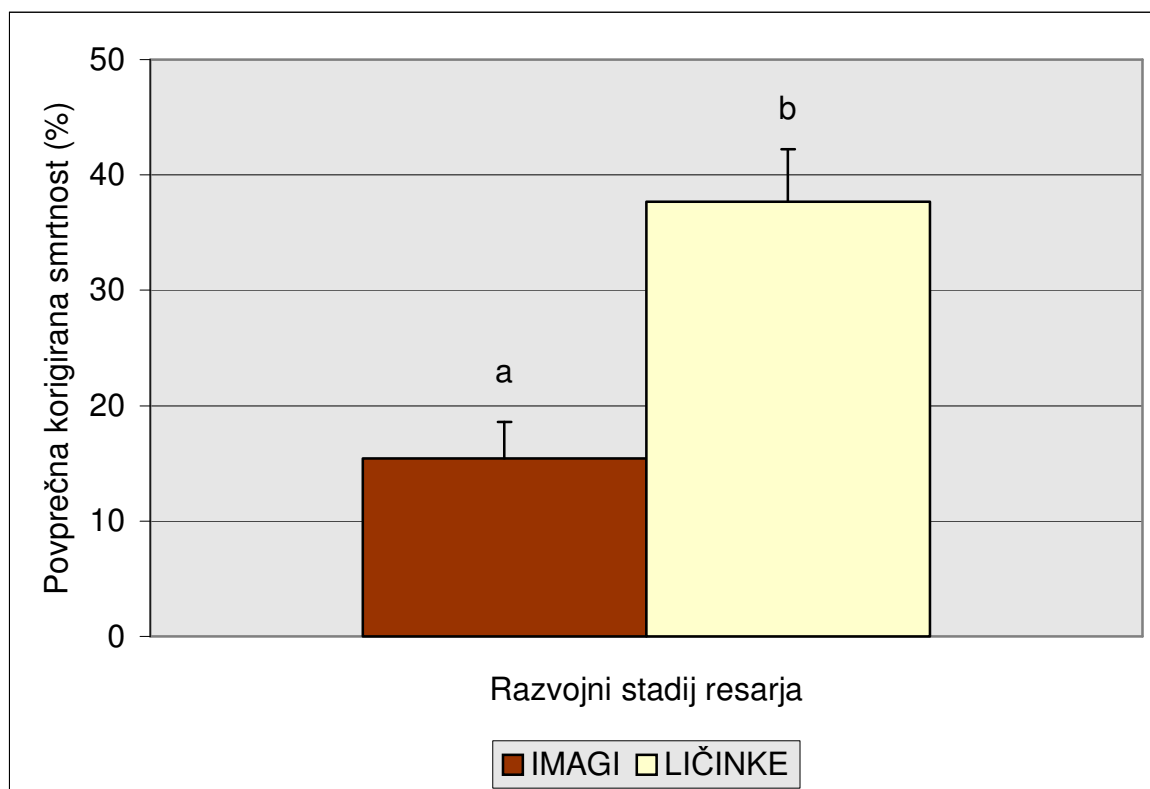


Slika 23: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja *Hercinothrips femoralis* pri treh različnih temperaturah

Najvišjo povprečno korigirano smrtnost ličink in imagov resarja smo zabeležili pri temperaturi 25°C (slika 23). Pri 25°C je bila povprečna korigirana smrtnost ličink in imagov 31,8 %, pri 20°C 17,3 %, pri 15°C pa 30,7 % (slika 23).

4.1.3 Smrtnost ličink in imagov resarja, neodvisna od temperature in vrste ogorčic

Ko smo med seboj primerjali povprečno korigirano smrtnost ličink in imagov resarja *Hercinothrips femoralis*, smo ugotovili, da so med njimi statistično značile razlike. S tveganjem, ki je manjše od 5 % trdimo, da sta ogorčici bolj učinkoviti pri zatiranju ličink, kot pri zatiranju odraslih osebkov resarjev.



Slika 24: Povprečna korigirana smrtnost imagov in ličink resarja *Hercinothrips femoralis*, neodvisna od temperature in vrste ogorčic

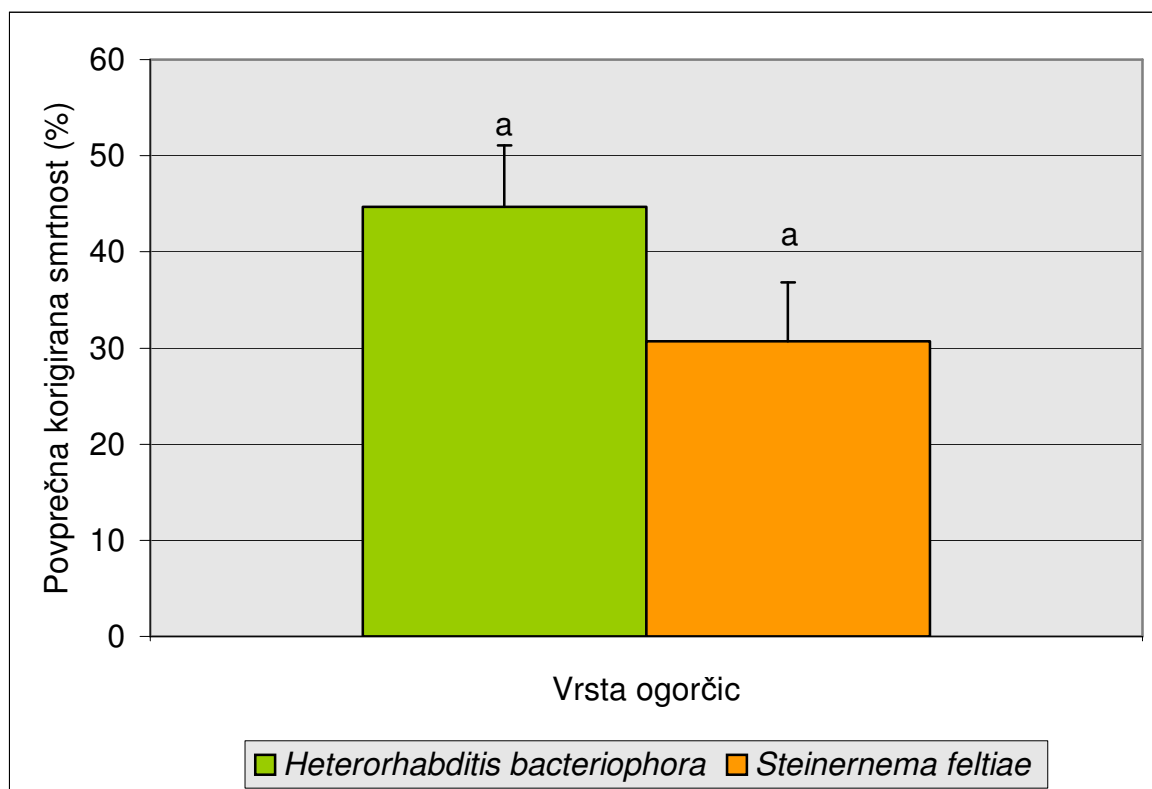
Povprečna korigirana smrtnost ličink je bila 37,7 %, povprečna korigirana smrtnost imagov pa le 15,4 % (slika 24).

4.2 SMRTNOST LIČINK RESARJA *HERCINOTHRIPS FEMORALIS*

Z individualno statistično analizo rezultatov za razvojni stadij ličink preučevanega resarja, smo ugotavljali, kje se pojavljajo statistično značilne razlike.

4.2.1 Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od vrste ogorčic

Statistična analiza je pokazala da se vrsti ogorčic ne razlikujeta v učinkovitosti zatiranja ličink resarja. Na podlagi rezultatov našega poskusa ne moremo trditi, da je ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* bolj učinkovita za zatiranje ličink resarja kot ogorčica *Steinernema feltiae*.

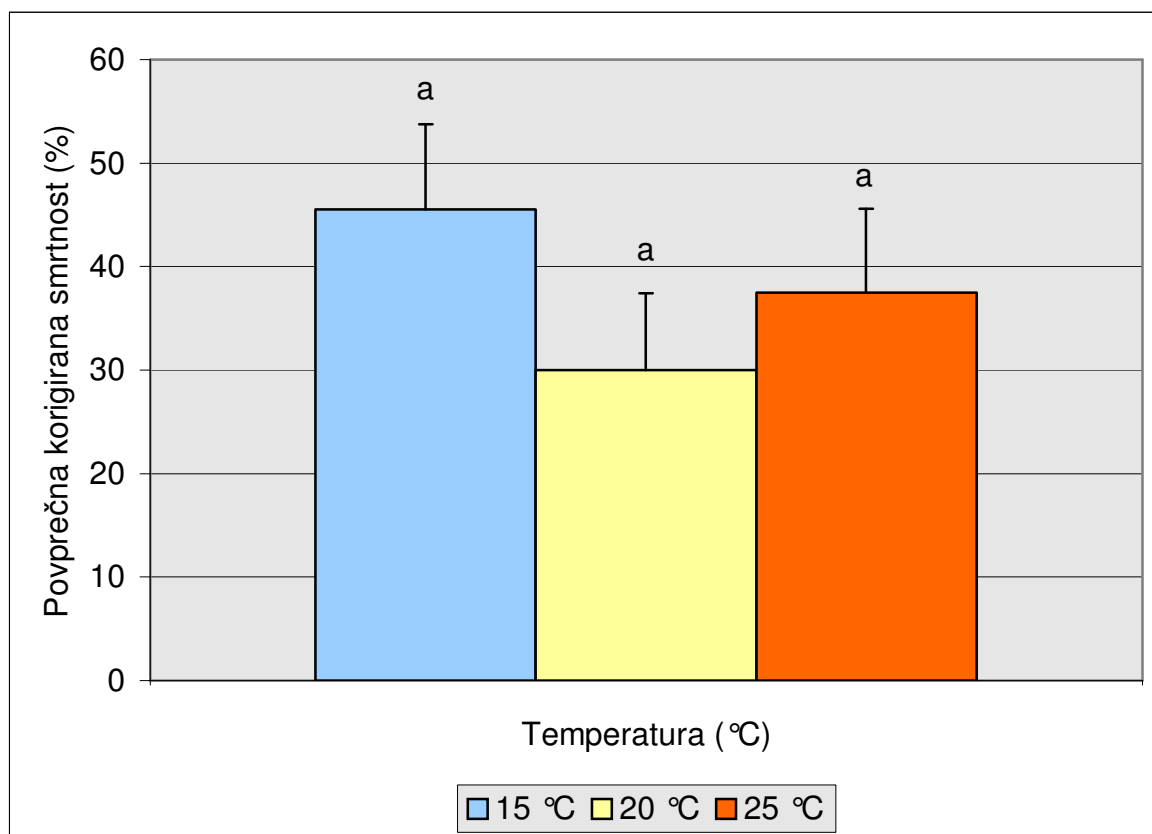


Slika 25: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja *Hercinothrips femoralis* v odvisnosti od vrste ogorčic

Povprečna korigirana smrtnost ličink, tretiranih z ogorčico *H. bacteriophora*, je bila 44,7 %, povprečna korigirana smrtnost ličink, tretiranih z ogorčico *S. feltiae*, pa 30,7 % (slika 25).

4.2.2 Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od temperature

Med povprečno korigirano smrtnostjo ličink pri različnih temperaturah ni bilo statistično značilnih razlik.

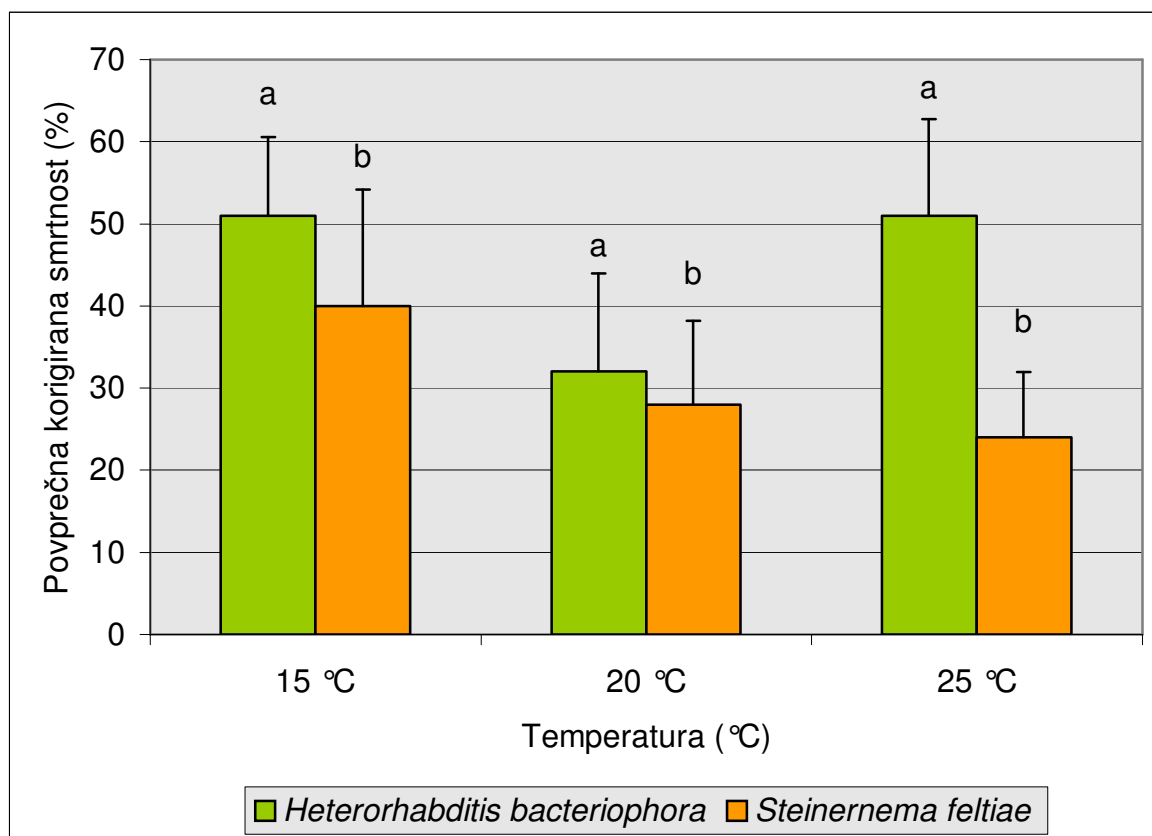


Slika 26: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja *Hercinothrips femoralis* pri treh različnih temperaturah

Povprečna korigirana smrtnost ličink pri 15°C je bila 45,5 %, pri 20°C 30,0 % in pri 25°C 37,5 % (slika 26).

4.2.3 Smrtnost ličink resarja v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature

Iz slike 27 je razvidno, da je bila pri vseh temperaturah najbolj učinkovita ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora*, vendar tega ne moremo trditi, saj statistična analiza ni pokazala statistično značilnih razlik v učinkovitosti ogorčic pri različnih temperaturah in med vrstama ogorčic.



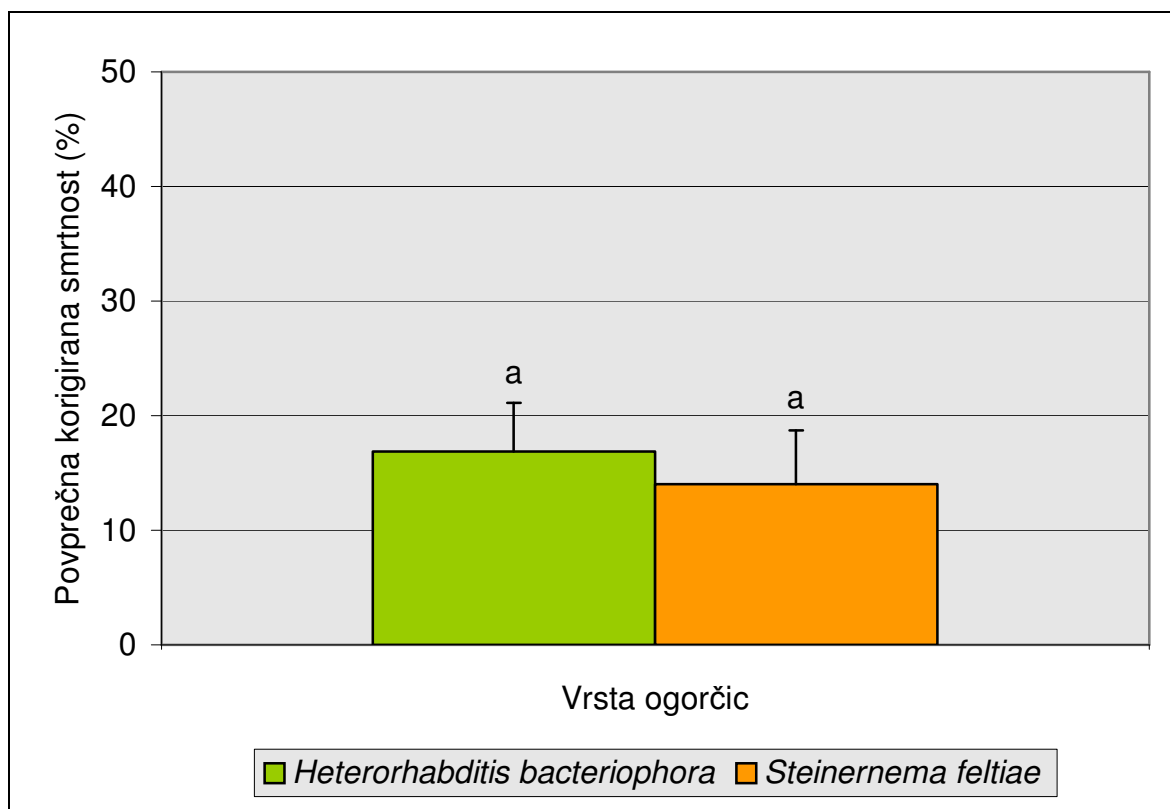
Slika 27: Povprečna korigirana smrtnost ličink resarja *Hercinothrips femoralis* v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature

Povprečna korigirana smrtnost ličink, ki jo je povzročila ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* je bila 51 %, 32 % in 51 % pri temperaturah 15, 20 in 25°C. Ogorčica *Steinernema feltiae* pa je povzročila 40 %, 28 % in 24 % povprečno korigirano smrtnost ličink pri temperaturah 15, 20 in 25°C.

4.3 SMRTNOST IMAGOV RESARJA *HERCINOTHRIPS FEMORALIS*

4.3.1 Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic

Statistično značilnih razlik v povprečni korigirani smrtnosti imagov med ogorčicama ni bilo.

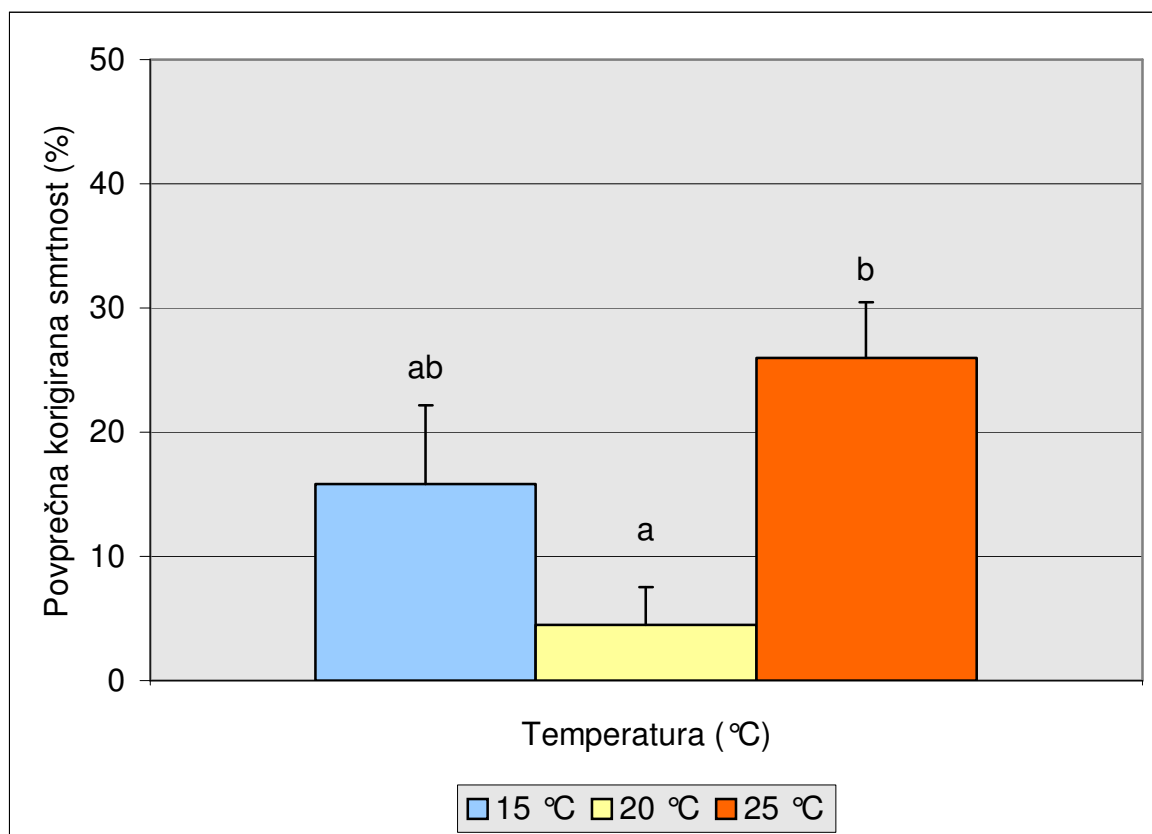


Slika 28: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja *Hercinothrips femoralis* v odvisnosti od vrste ogorčic

Povprečna korigirana smrtnost imagov, tretiranih z ogorčico *H. bacteriophora* je bila 16,9 %, povprečna korigirana smrtnost imagov, tretiranih z ogorčico *S. feltiae*, pa 14,0 % (slika 28).

4.3.2 Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od temperature

Pri treh različnih temperaturah smo ugotovili statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti imagov resarja. Z Duncanovim preizkusom mnogoternih primerjav smo ugotovili statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti imagov med 20 in 25°C (slika 28).

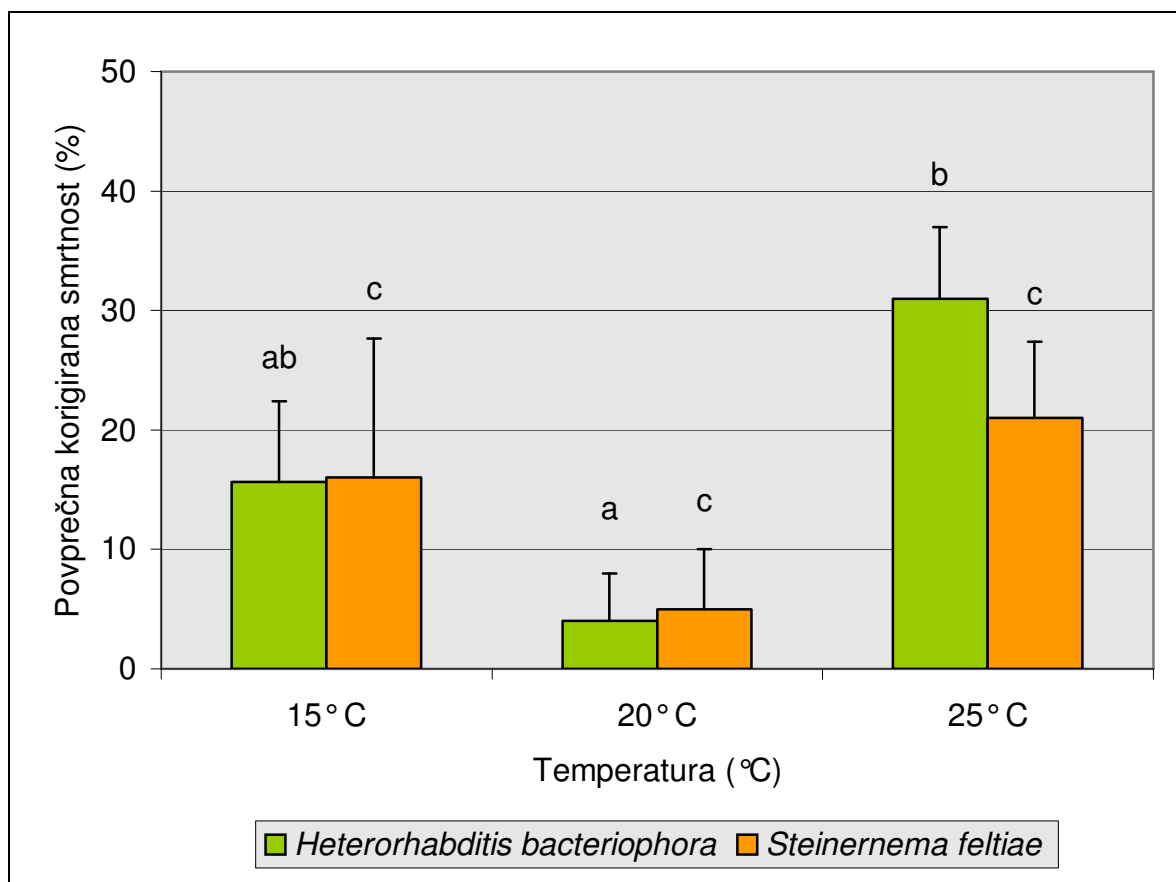


Slika 29: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja *Hercinothrips femoralis* pri treh različnih temperaturah

Povprečna korigirana smrtnost imagov pri 15°C je bila 15,8 %, pri 20°C 4,5 % in pri 25°C 26,0 %. Povprečna korigirana smrtnost imagov pri vseh temperaturah in obeh vrstah ogorčic je bila 15,4 %.

4.3.3 Smrtnost imagov resarja v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature

Naredili smo posamično statistično analizo za image, tretirane z ogorčico *Heterorhabditis bacteriophora* in nato še za image, tretirane z ogorčico *Steinernema feltiae*. Ugotovili smo, da so statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti imagov resarja le pri ogorčici *Heterorhabditis bacteriophora*, in sicer med temperaturama 20 in 25°C. Pri ogorčici *Steinernema feltiae* razlik v povprečni korigirani smrtnosti imagov med različnimi temperaturami ni bilo (slika 30).



Slika 30: Povprečna korigirana smrtnost imagov resarja *Hercinothrips femoralis* v odvisnosti od vrste ogorčic in temperature

Povprečna korigirana smrtnost imagov, tretiranih z ogorčico *Heterorhabditis bacteriophora*, je bila 15,7 %, 4,0 % in 31 % pri temperaturah 15, 20 in 25°C. Ogorčica *Steinernema feltiae* pa je povzročila 16,0 %, 5,0 % in 21,0 % povprečno korigirano smrtnost ličink pri temperaturah 15, 20 in 25°C.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Dosedanje raziskave na področju zatiranja resarjev z entomopatogenimi ogorčicami so pokazale zelo dobre rezultate (Chyzik in sod., 1996; Ebssa in sod., 2001a, 2003, 2004). Večina poskusov je bilo opravljenih s cvetličnim resarjem (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), ki je ena od najbolj škodljivih in splošno razširjenih vrst resarjev. Raziskav, v katerih bi poskušali z entomopatogenimi ogorčicami zatirati resarja *Hercinothrips femoralis* (Reuter), v strokovni literaturi nismo zasledili.

V večini dosedanjih raziskav so z entomopatogenimi ogorčicami zatirali predvsem talne stadije resarja (predpupe in pupe). Na področju zatiranja resarjev na nadzemskih delih rastlin (ličinke, imagi) je bilo narejenih malo raziskav, vendar se njihovo število povečuje (Wardlow in sod., 2002; Bennison in sod., 1998; Buitenhuis in Shipp, 2005).

Entomopatogene ogorčice so talni organizmi in so neprilagojene na življenje zunaj tal. Zato prihaja pri nanosu ogorčic na nadzemske dele rastlin, kjer so izpostavljene neugodnim vremenskim razmeram, do težav. Podvržene so izsušitvi, visokim temperaturam, UV sevanju in drugim dejavnikom. Doslej so razvili številne metode, s katerimi želijo izboljšati učinkovitost ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev. Suspenzijam ogorčic dodajajo močila, ki omogočajo boljše oprijemanje kapljic z ogorčicami na površje rastlin in ogorčice varujejo pred prehitro izsušitvijo. Suspenzijam dodajajo tudi snovi, ki ogorčice varujejo pred UV sevanjem, antimikrobne in druge snovi. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic so izboljšali tudi s selektivnim razmnoževanjem in genetskim inženiringom. Na ta način so vzgojili ogorčice, ki so odporne na višje temperature. Zaradi takšnih izboljšav se ogorčice vse bolj uporabljajo tudi za zatiranje nadzemskih škodljivcev, med njimi tudi za zatiranje resarjev.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti ali sta ogorčici *H. bacteriophora* in *S. feltiae* učinkoviti za zatiranje ličink in imagov resarja *Hercinothrips femoralis*. Zanimalo pa nas je tudi, katera ogorčica bo bolj uspešna pri zatiranju in kako različne temperature vplivajo na učinkovitost ogorčic.

V raziskavi smo uporabili dokaj nizko koncentracijo suspenzije ogorčic (1000 infektivnih ličink na 1 ml vode), ki pa se je kljub temu izkazala za učinkovito. Z analizo rezultatov, smo prišli do zanimivih zaključkov. Ugotovili smo, da je resar *Hercinothrips femoralis* dovzeten za zatiranje z obema vrstama entomopatogenih ogorčic.

Obe vrsti ogorčic sta bili učinkoviti pri zatiranju ličink in imagov resarja, bolj uspešno pa sta zatirali ličinke kot image. Povprečna korigirana smrtnost ličink je bila 37,7 %, povprečna korigirana smrtnost imagov pa le 15,4 %.

Med vrstama ogorčic *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora* ni bilo statistično značilnih razlik v učinkovitosti zatiranja imagov in ličink resarja. Glede na rezultate predhodnih raziskav smo pričakovali, da bosta ogorčici različno učinkoviti pri zatiranju resarja. V večini drugih raziskav, ki smo jih predstavili tudi v tem diplomskem delu, je bila ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* bolj učinkovita pri zatiranju resarjev kot vrsta *Steinernema feltiae*. Manjšo učinkovitost ogorčice *H. bacteriophora* lahko pripišemo različnemu izolatu ogorčice. Ogorčice istih vrst namreč izolirajo na različnih območjih po vsem svetu. Rezultati številnih raziskav kažejo, da se izolati istih vrst ogorčic zelo razlikujejo med seboj in kažejo različno učinkovitost za zatiranje škodljivcev.

Chyzik in sod. (1996) so med drugim ugotovili tudi to, da je ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* sev HP88 zelo učinkovita pri zatiranju resarjev, medtem ko je ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* sev IS5 povzročila najmanjšo smrtnost resarjev med vsemi ogorčicami v poskusu. Podobne rezultate kažejo tudi mnoge druge raziskave.

Najvišjo povprečno korigirano smrtnost obeh stadijev (ličink in imagov) resarja, smo zabeležili pri temperaturi 25°C (31,8 %). Statistika je pokazala statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti obeh stadijev resarja med temperaturama 20 in 25°C.

Pri posamični statistični analizi smo ugotovili, da je ogorčica *H. bacteriophora* povprečno povzročila 44,7 % korigirano smrtnost ličink, ogorčica *S. feltiae* pa 30,7 %. Med učinkovitostjo ogorčic nismo ugotovili statistično značilnih razlik. Prav tako statistično značilnih razlik nismo zabeležili v učinkovitosti ogorčic pri različnih temperaturah.

Pri posamični analizi, kjer smo ugotavljali učinkovitost ogorčic za zatiranje imagov, smo ugotovili statistično značilne razlike v povprečni korigirani smrtnosti imagov med temperaturo 20 in 25°C. Pri temperaturi 20°C je bila povprečna korigirana smrtnost imagov 4,5 %, pri 25°C pa 26,0 %. Statistično značilnih razlik v povprečni korigirani smrtnosti imagov med vrstama ogorčic nismo ugotovili.

5.2 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da entomopatogeni ogorčici *Heterorhabditis bacteriophora* in *Steinernema feltiae* napadata oba stadija (ličinke in image) resarja *Hercinothrips femoralis*.

Obe vrsti ogorčic bolj uspešno zatirata ličinke kot image resarja. Pri zatiranju obeh stadijev resarja sta bili ogorčici najbolj učinkoviti pri temperaturi 25°C. Statistično značilnih razlik v učinkovitosti med ogorčicama nismo ugotovili.

Pri zatiranju ličink sta bili ogorčici statistično gledano enako učinkoviti. Temperatura ni statistično značilno vplivala na učinkovitost ogorčic.

Najmanj učinkoviti sta bili ogorčici pri zatiranju imagov. S statistično analizo smo ugotovili, da obstajajo signifikantne razlike v povprečni korigirani smrtnosti imagov med temperaturama 20 in 25°C. Najvišjo povprečno korigirano smrtnost imagov sta ogorčici povzročili pri temperaturi 25°C. Med ogorčicama ni bilo statistično značilnih razlik v učinkovitosti zatiranja imagov.

6 POVZETEK

Resarji (Thysanoptera) vse bolj otežujejo kmetijsko pridelavo. Škodljivi so na vrtninah, poljščinah, večjo škodo pa povzročajo tudi na okrasnih rastlinah. Med resarje, ki so škodljivi predvsem na okrasnih rastlinah, prištevamo tudi vrsto *Hercinothrips femoralis* (Reuter). Pri nas vrsta še ni pretirano razširjena, kljub temu pa moramo uporabiti vse možne preventivne ukrepe, da bi zmanjšali hitrost njenega širjenja. Resarja pri nas najdemo zlasti v bivalnih prostorih, zato moramo v njih večjo pozornost nameniti pregledovanju rastlin. Resarja lahko zatiramo s kemičnimi pripravki, vendar dajemo prednost naravi prijaznim sredstvom, med katere sodijo tudi entomopatogene ogorčice. To so parazitske, brezbarvne, nesegmentirane glistice, ki imajo zmožnost ubiti žuželke.

Entomopatogene ogorčice v svetu že dlje uporabljajo za zatiranje različnih vrst škodljivcev v rastlinjakih in na prostem. Uporabljajo jih za zatiranje nadzemskih in talnih stadijev žuželk. Entomopatogene ogorčice so enostavne za uporabo in imajo majhen vpliv na neciljne organizme. So zelo občutljive na ekstremne okoljske razmere, kot so visoke temperature, suša, UV sevanje in druge, zato jih apliciramo na rastline v večernem času ali v zgodnjih jutranjih urah.

Nekaj raziskav je bilo doslej opravljenih tudi na področju zatiranja resarjev z entomopatogenimi ogorčicami. Rezultati so vzpodbudni, predvsem v laboratorijskih razmerah, kjer ogorčice kažejo dobro učinkovitost predvsem za zatiranje talnih stadijev resarjev (predpupe in pupe).

V našem poskusu smo resarja *Hercinothrips femoralis* zatirali z dvema vrstama entomopatogenih ogorčic, *Heterorhabditis bacteriophora* in *Steinernema feltiae*. Za izvedbo poskusa smo ogorčici uvozili iz Nizozemske, resarja pa smo namnoževali v insektarijih v laboratoriju.

Poskus smo v celoti izvedli v laboratoriju. V poskus smo vključili tri obravnavanja: resarji poškopljani z vodo (kontrola), resarji, tretirani z ogorčico *Steinernema feltiae* in resarji tretirani z ogorčico *Heterorhabditis bacteriophora*. Vsako obravnavanje je imelo pet ponovitev. Učinkovitost ogorčic za zatiranje resarja smo ugotavljali pri standardnih razmerah: relativna zračna vlažnost 95 %, koncentracija ogorčic: 1000/ml vode, razmerje med svetlobo in temo 4 ure: 20 ur. V poskusu smo spreminjali le temperaturo: 15°C, 20°C, 25°C. V vsako poskusno posodico smo na fižolov list nanesli pet ličink resarja in nato list poškopili s suspenzijo 1000 ogorčic na 1 ml vode. V kontrolno posodico smo dodali le pet ličink resarja in list poškopili z 1 ml vode brez ogorčic. Posodice smo štiri dni inkubirali v gojitveni komori pri izbranih razmerah. Po štirih dneh smo v posodicah s stereomikroskopom prešteli preživele in umrle ličinke. Nato smo enak postopek ponovili še z imagi resarja. Iz števila po tretiranju preživelih ličink in imagov, smo z Abbottovo formulo v vsaki posodici izračunali korigirano smrtnost osebkov. Nato smo rezultate

statistično obdelali s programom Statgraphic plus for Windows in ugotavljali učinkovitost dveh različnih vrst ogorčic za zatiranje ličink in imagov resarja pri različnih temperaturah.

S statistično analizo smo ugotovili, da obe vrsti ogorčic zatirata ličinke in image resarja *Hercinothrips femoralis*. Ogorčici sta bili bolj učinkoviti pri zatiranju ličink kot imagov. Povprečna korigirana smrtnost ličink je bila 37,7 %, povprečna korigirana smrtnost imagov pa le 15,4 %. Najbolj ustrezna temperatura za zatiranje obeh stadijev resarja je 25°C, saj sta pri tej temperaturi ogorčici povzročili najvišjo povprečno korigirano smrtnost žuželke (31,8 %).

Pri posamični analizi povprečne korigirane smrtnosti ličink smo pri ogorčici *Heterorhabditis bacteriophora* zabeležili 44,7 % povprečno korigirano smrtnost, pri ogorčici *Steinernema feltiae* pa 30,7 %. Statistika ni potrdila signifikantnih razlik v učinkovitosti med ogorčicama.

Pri zatiranju imagov resarja sta bili ogorčici najmanj učinkoviti. Razlike v učinkovitosti ogorčic smo zabeležili le med temperaturama 20 in 25°C. Najvišjo povprečno korigirano smrtnost (26,0 %) sta ogorčici povzročili pri temperaturi 25°C.

Cilj naše raziskave je bil ugotoviti ali sta entomopatogeni ogorčici *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora* sposobni zatirati ličinke in image resarja *Hercinothrips femoralis*. Na podlagi rezultatov naše raziskave smo ugotovili, da sta obe vrsti ogorčic zmožni zatirati ličinke in image resarja.

Med ogorčicama smo pričakovali razlike v učinkovitosti, vendar je statistična analiza pokazala, da med njima ni tovrstnih statistično značilnih razlik. Zato lahko zaključimo, da sta entomopatogeni ogorčici *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora* enako ustrezni za zatiranje imagov, predvsem pa ličink resarja *Hercinothrips femoralis*.

7 VIRI

- Akhurst J.R. 1982. Antibiotic activity of *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. *Journal of General Microbiology*, 128: 3061-3065.
- Akhurst R.J., Boemare N.E. 1988. A numerical taxonomic study of the genus *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) and proposed elevation of the subspecies of *X. nematophilus* to species. *Journal of General Microbiology*, 134: 1835-1845.
- Banded greenhouse thrips *Hercinothrips femoralis* Reuter Thysanoptera, Terebrantia, Thripidae, Panchaetothripinae. 2005
(<http://www.padil.gov.au/viewPestDiagnosticImages.aspx?id=193>) (6. avg. 2006)
- Banded greenhouse thrips. North Carolina State University. 2006
(<http://ipm.ncsu.edu/AG136/thrips1.html>) (6. avg. 2006)
- Bathon H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 421-434.
- Bennison L.J, Maulden A.J., Wardlow A.K., Pow R.L., Wadhams M.E., 1998. Novel strategies for improving biological control of western flower thrips on protected ornamentals-potential new biological control agents. V: Brighton crop protection conference: Pests & diseases-1998: Volume 1: Proceedings of an international conference, Brighton, UK, 16-19 November 1998. British Crop Protection Council, Farnham, UK: 193-198.
- Black mummified larvae have been parasitized by *Thripobius semiluteus*. 2006
(<http://commserv.ucdavis.edu/CESanDiego/bender/clrplates.htm>) (1. avg. 2006)
- Buitenhuis R., Shipp L.J. 2005. Efficacy of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) as influenced by *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) developmental stage and host plant stage. *Journal of Economic Entomology*, 98, 5: 1480-1485.
- Burnell M.A., Stock P. S. 1999. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts-lethal pathogens of insects. V: Biodiversity in the phylum Nematoda. Gent, Belgium, 17 september 1999. (*Nematology*, 2(1)): 31-42.
- Chyzik R., Glazer I., Klein M. 1996a. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). *Phytoparasitica*, 24: 103-110.

- Chyzik R., Glazer R., Klein M. 1996b. Susceptibility of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pregande) (Thysanoptera: Thripidae) to different entomopathogenic nematode species. *Folia Entomologica Hungarica*, 62: 27-32.
- Clarke D. Two-Component signal transduction in bacteria. University of Bath. 2006
(<http://www.bath.ac.uk/bio-sci/clarke.htm>) (25. avg. 2006)
- Denmark H.A. 1976 a. The banded greenhouse thrips, *Hercinothrips femoralis* (O.M. Reuter) in Florida (Thysanoptera: Thripidae). Florida Department of Agriculture & Consumer Services, Division of Plant Industry. Entomology Circular: 110-118.
- Denmark H.A. 1976 b. The banded greenhouse thrips, *Hercinothrips femoralis* (O.M. Reuter) damage to ornamental plants. Proceedings of the Florida State Horticultural Society, 89: 330-331.
- Driesche V.R. 1998. Western flower thrips in greenhouses: A review of its biological control and other methods. Department of Entomology, University of Massachusetts, Amherst, MA, USA.
(www.biocontrol.ucr.edu/WFT.html) (7. avg. 2006)
- Ebssa L., Borgemeister L., Berndt C., Poehling O.H.M. 2001a. Efficacy of entomopathogenic nematodes against soil-dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 78, 3: 119-127.
- Ebssa L., Borgemeister L., Berndt C., Poehling O.H.M. 2001b. Impact of entomopathogenic nematodes on different soil-dwelling stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), in the laboratory and under semi-field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 11, 4: 515-525.
- Ebssa L., Borgemeister L., Poehling C.H.M. 2003. Effects of host density and temperature on the efficacy of entomopathogenic nematodes for the control western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). *Dgaae Nachrichten*, 17,1: 25-26.
- Ebssa L., Borgemeister L., Poehling C.H.M. 2004. Effectiveness of different species/strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) at various concentrations, host densities, and temperatures. *Biological Control*, 29,1: 145-154.
- Ehlers U.R. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiological Biotechnology*, 56: 623-633.
- Green Lacewing *Chrysoperla* sp. – 1,000 eggs. 2006. Arbico Organics
(<http://store.arbico-organics.com/1110001.html>) (20. avg. 2006)

- Greer L., Diver S. 2000. Greengouse IPM: Sustainable thrips control- (http://attra.ncat.org/new_pubs/attra-pub/PDF/ghthrips.pdf?id=other) (20. avg. 2006)
- Grewal S.P. 1998. Formulations of entomopathogenic nematodes for storage and application. Japanese Journal of Nematology, 28: 68-74.
- Grewal S.P. 2002. Formulation and application technology. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R. (ed.). Wallingford, CAB International: 265-287.
- Hazir S., Kaya K. H., Stock P. S., Keskin N. 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. Turkish Journal of Biology, 27: 181-202.
- Helyer N.L., Brobyn L.N., Richardson J.P., Edmondson N.P. 1995. Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande) pupae in compost. Annals of Applied Biology, 127, 3: 405-412.
- Houston K.J., Mound L.A., Palmer J.M. 1991. Two pest thrips (Thysanoptera) new to Australia, with notes on the distribution and structural variation of other species. Journal of the Australian Entomological Society, 30, 3: 231-232.
- Improvement of a process technology to scale-up liquid cultures of biocontrol nematodes (*Heterorhabditis* sp.) (2. marz 2006)
(<http://www.biomatnet.org/secure/Fair/S542.htm>) (30. avg. 2006)
- Insect Parasitic Nematodes-photo gallery. 2006
(http://www.oardc.ohio-state.edu/nematodes/photo_gallery.htm) (5. avgust 2006)
- Janežič F. 1991. Prispevek k poznanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 57: 169-178.
- Janežič F. 1992. Drugi prispevek k poznanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 59: 175-189.
- Janežič F. 1993. Tretji prispevek k poznanju tripsov ali resarjev (Thysanoptera) na rastlinah v Sloveniji. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, 61: 161-180.
- Kaya H.K., Koppenhofer A.M. 1996. Effects of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Technology, 6: 333-345.

- Kaya H.K., Koppenhofer A.M. 1999. Biology and ecology of insecticidal nematodes. V: Optimal use of insecticidal nematodes in pest management. New Brunswick, New Jersey, USA, 28-30 august 1999. Sridhar Polavarapu (ed.). Chatsworth, NJ 08019, Rutgers University, Blueberry Cranberry Research and Extension center: 1-8.
- Kaya K.H. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Riverside, California, 11-12 July 2000. Hoddle S. Mark (ed.). UC Riverside: 38-46.
- Kaya K.H. 2002. Natural enemies and other antagonists. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R. (ed.). Wallingford, CAB International: 189-203.
- Kaya K.H., Koppenhofer M. A., Johnson M. 1998. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. Japanese Journal of Nematology, 28: 13-21.
- Koch F. 1981a. The circadian phototactic behaviour of *Hercinothrips femoralis* (O.M. Reuter) (Thysanoptera, Insecta). Zoologische Jahrbucher, Abteilung fur Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere, 85, 3: 312-315.
- Koch F. 1981b. The pre-adult ontogenesis of the thysanopteran *Hercinothrips femoralis* (O.M. Reuter) (Thysanoptera, Insecta). Zoologische Jahrbucher, Abteilung fur Anatomie und Ontogenie der Tiere, 105, 3: 412-419.
- Koppenhofer M. A. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Lacey L.A., Kaya (eds). Kluwer Academic Publisher: 283-301.
- Koppenhofer M.A., Kaya K.H. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. V: Microbial biopesticides. Koul O., Dhaliwal S.G. (eds.). London and New York: 277-305.
- Kvarkadabra - časopis za tolmačenje znanosti. Slovarček naravoslovnih znanosti (30. sept. 2004)
(<http://www.kvarkadabra.net/staticpages/index.php/slovar2>) (10.avg. 2006)
- Lacasa A., Martinez M.C. 1988. Biographical notes on *Hercinothrips femoralis* (Reuter) (Thys.: Thripidae), a potential pest of ornamental plants. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 14, 1: 67-75.
- Laughlin R. 1971. A culture method for *Hercinothrips femoralis* (Reuter) (Thysanoptera). Journal of the Australian Entomological Society, 10, 4: 301-303.
- Leksikon Cankarjeve založbe. 1973. Ljubljana, Cankarjeva založba: 1080 str.

- Lewis T. 1997. Pest thrips in perspective. V: Thrips as crop pests. Lewis T. (ur.). Wallingford, UK, CAB int.: 1-13.
- Mound L. 2003. Thrips. V: Encyclopedia of insects. Resh V.H., Carde T.R (ed.).USA. Academic press. Elsevier Science : 1127-1132.
- Naravoslovje – zbirka Sopotnik. 1996. Ljubljana, Cankarjeva založba d.d.: 700 str.
- Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae). Department of Entomology, Rutgers university, New Brunswick New Jersey. 2006 (<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/nematodes.html>) (10. avg. 2006)
- Neoseiulus* (= *Amblyseius*) *cucumeris*, a predator of thrips larvae and other mites. 2006 (<http://floriculture.osu.edu/archive/apr99/pmite2.html>) (1. avg. 2006)
- Neuroptera (Lacewings and their relatives). Department of Developmental and Cell Biology, University of California. 2006 (<http://mamba.bio.uci.edu/~pjbryant/biodiv/neuropt/index.htm>) (20. avg. 2006)
- Nguyen B.K. Photographs showing how to rear Entomopathogenic nematodes. Entomology and Nematology Department. University of Florida (1. nov. 2005) (<http://kbn.ifas.ufl.edu/rearwax.htm>) (23. avg. 2006)
- Oetting R.D., Beshear R.J. 1980. Host selection and control of banded greenhouse thrips on ornamentals. Journal of the Georgia Entomological Society, 15, 4: 475-479.
- Premachandra S.T.W.D, Borgemeister C., Berndt C., Ehlers O., Poehling H. M., 2003a. Laboratory bioassays of virulence of entomopathogenic nematodes against soil-inhibiting stages of *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae). Nematology, 5, 4: 539-547.
- Premachandra S.T.W.D, Borgemeister L., Berndt C., Ehlers O., Poehling H. M. 2003b. Combined releases of entomopathogenic nematodes and the predatory mite *Hypoaspis aculeifer* to control soil-dwelling stages of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. Biocontrol, 48, 5: 529-541.
- Ronald F.L.M., Jayma L.M. *Hercinothrips femoralis* (O.M. Reuter). 1993. Department of Entomology (www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/H_femora.htm) (7. avg. 2006)
- Seznam resarjev (Thysanoptera), najdenih v Sloveniji. Inštitut za fitomedicino. 2006 (<http://www.bf.uni-lj.si/ag/fitomedicina/>) (5. avg. 2006)

- Shapiro D.I., Gaugler R. 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28: 137-146.
- Slovar slovenskega knjižnega jezika. 1995. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 1714 str.
- Smart C.G. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Supplement to the Journal of Nematology*, 27(4S): 529-534.
- Thelytoky. 2006. Wikimedia foundation, Inc. (15. june, 2006)
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Thelytoky>) (17. avg. 2006)
- Trdan S. 2002. Resar *Hercinothrips femoralis* (Reuter) ugotovljen tudi v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*, 35, 6: 242-244.
- Trdan S. 2003. Resarji - Thysanoptera. V: *Živalstvo Slovenije*. Sket B. Gogala M. Kuštor V. (ur.). Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 324-328.
- Trdan S., Vierbergen G. 2001. Nevarnost vnosa nekaterih gospodarsko škodljivih vrst resarjev (Thysanoptera) v Slovenijo. V: *Zbornik predavanj in referatov 5. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Čatež ob Savi, 6.-8. marec 2001*. Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 303-311.
- Tusnadi C.K., Nemstothy K.K. 1992. New host plants of *Hercinothrips femoralis* Reuter (Thysanoptera, Thripidae) in Hungarian greenhouses. *Novenyvedelem*, 28, 12: 495-499.
- Urek G. 1986. Nematode. *Sodobno kmetijstvo*, 2: 83-85.
- Using Insect Parasitic Nematodes-General Guidelines. 2006
(http://www.oardc.ohio-state.edu/nematodes/using_insect_parasitic_nematodes.htm)
(3. avg. 2006)
- Wang C.L., 1987. The infestation of thrips on floriculture and their control. *Chinese Journal of Entomology*, Special publication 1: 37-43.
- Wang J., Bedding R.A. 1996. Population development of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundamental and Applied Nematology*, 19: 363-367.
- Wardlow R.L., Piggott S., Goldsworthy R. 2002. Foliar application of entomopathogenic nematodes for the control of pests on ornamental plants. V: *2th conference internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux vegetaux Lille, 4.-7. mars 2002*: 512-517.

zur Strassen R. 1981. Erste Daten zur Thysanopteren Fauna des Nordwestlichen Istrien (Jugoslawien). Acta Entomologica Jugoslavica, 17, 1-2: 143-151.

zur Strassen R. 1984. Zur Thysanopteren Faunistik des Alpen Vorlandes von Slowenien, nebst einer Check List der Fransenflugler Arten von Jugoslawien. Acta Entomologica Jugoslavica, 20, 1-2: 31-51.

4,500 Ladybug beetles, *Hippodamia convergens* – Small Garden. 2006. Arbico Organics (<http://store.arbico-organics.com/1112511.html>) (20. avg. 2006)

ZAHVALA

Zahvaljujem se vsem, ki so pripomogli k izdelavi diplomskega dela, še posebno doc. dr. Stanislavu Trdanu in vsem domačim.

Luka Kužnik

PRILOGA A

PODATKI PO OBRAVNAVANJIH O PREŽIVELIH IN UMRLIH LIČINKAH (IMAGIH) RESARJA *Hercinothrips femoralis*

LABORATORIJSKE RAZMERE: relativna zračna vlaga 95 %, razmerje med svetlobo in temo 4: 20, število infektivnih ličink/ml: 1000

LIČINKE

Temperatura: 15°C

Kontrola :

preživele	4	5	5	5	5	Σ 24
umrle	1	0	0	0	0	Σ 1

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživele	5	3	2	4	1	Σ 15
umrle	0	2	3	1	4	Σ 10

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* :

preživele	1	2	3	2	4	Σ 12
umrle	4	3	2	3	1	Σ 13

Temperatura: 20°C

Kontrola :

preživele	5	5	5	4	5	Σ 24
umrle	0	0	0	1	0	Σ 1

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživele	4	4	2	4	3	Σ17
umrle	1	1	3	1	2	Σ8

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora*:

preživele	2	2	4	4	4	Σ16
umrle	3	3	1	1	1	Σ9

Temperatura: 25°C

Kontrola :

preživele	4	4	5	4	4	Σ 21
umrle	1	1	0	1	1	Σ 4

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživele	3	5	4	3	2	Σ 17
umrle	2	0	1	2	3	Σ 8

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* :

preživele	1	3	1	3	2	Σ 10
umrle	4	2	4	2	3	Σ 15

IMAGI

Temperatura: 15°C

Kontrola :

preživeli	5	3	4	4	5	Σ 21
umrli	0	2	1	1	0	Σ 4

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživeli	2	3	5	5	4	Σ 19
umrli	3	2	0	0	1	Σ 6

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* :

preživeli	5	2	4	3	4	Σ 18
umrli	0	3	1	2	1	Σ 7

Temperatura: 20°C

Kontrola :

preživeli	4	5	4	4	3	Σ 20
umrli	1	0	1	1	2	Σ 5

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživeli	5	5	4	3	4	Σ21
umrli	0	0	1	2	1	Σ4

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* :

preživeli	5	4	4	5	4	Σ22
umrli	0	1	1	0	1	Σ3

Temperatura: 25°C

Kontrola :

preživeli	4	4	5	5	5	Σ 23
umrli	1	1	0	0	0	Σ 2

Ogorčica *Steinernema feltiae* :

preživeli	4	3	4	3	4	Σ18
umrli	1	2	1	2	1	Σ 7

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* :

preživeli	3	2	4	3	4	Σ 16
umrli	2	3	1	2	1	Σ 9

PRILOGA B

STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI RESARJA *Hercinothrips femoralis*

GENERALNA STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI LIČINK IN IMAGOV RESARJA

Analysis of Variance for korigirana smrtnost - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value

MAIN EFFECTS					
A:ogorcica	1069,6	1	1069,6	2,30	0,1362
B:ponovitve	380,733	4	95,1831	0,21	0,9343
C:stadij	7407,48	1	7407,48	15,95	0,0002
D:temperatura	2609,51	2	1304,75	2,81	0,0710
INTERACTIONS					
AC	462,981	1	462,981	1,00	0,3234
AD	795,103	2	397,551	0,86	0,4317
CD	905,673	2	452,836	0,98	0,3851
ACD	90,093	2	45,0465	0,10	0,9077
RESIDUAL	20428,0	44	464,274		

TOTAL (CORRECTED)	34149,2	59			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for KORIGIRANA SMRTNOST
 with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	60	26,5555			
OGORCICA					
H	30	30,7777	3,93393	22,8493	38,706
S	30	22,3333	3,93393	14,405	30,2617
PONOVITVE					
1	12	28,3333	6,22009	15,7975	40,8691
2	12	27,7775	6,22009	15,2417	40,3133
3	12	26,6667	6,22009	14,1309	39,2025
4	12	21,6667	6,22009	9,13088	34,2025
5	12	28,3333	6,22009	15,7975	40,8691
STADIJ					
IMAGO	30	15,4443	3,93393	7,51601	23,3727
LICINKE	30	37,6667	3,93393	29,7383	45,595
TEMPERATURA					
15	20	30,6665	4,81806	20,9563	40,3767
20	20	17,25	4,81806	7,53982	26,9602
25	20	31,75	4,81806	22,0398	41,4602
OGORCICA by STADIJ					
H IMAGO	15	16,8887	5,56341	5,67632	28,101
H LICINKE	15	44,6667	5,56341	33,4543	55,879
S IMAGO	15	14,0	5,56341	2,78765	25,2123
S LICINKE	15	30,6667	5,56341	19,4543	41,879
OGORCICA by TEMPERATURA					
H 15	10	33,333	6,81376	19,6007	47,0653
H 20	10	18,0	6,81376	4,26774	31,7323
H 25	10	41,0	6,81376	27,2677	54,7323
S 15	10	28,0	6,81376	14,2677	41,7323
S 20	10	16,5	6,81376	2,76774	30,2323
S 25	10	22,5	6,81376	8,76774	36,2323
STADIJ by TEMPERATURA					
IMAGO 15	10	15,833	6,81376	2,10074	29,5653
IMAGO 20	10	4,5	6,81376	-9,23226	18,2323
IMAGO 25	10	26,0	6,81376	12,2677	39,7323
LICINKE 15	10	45,5	6,81376	31,7677	59,2323
LICINKE 20	10	30,0	6,81376	16,2677	43,7323
LICINKE 25	10	37,5	6,81376	23,7677	51,2323

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by OGORCICA

Method: 95,0 percent Duncan

OGORCICA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
S	30	22,3333	X
H	30	30,7777	X

Contrast	Difference
H - S	8,44433

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

OGORCICA	Count	Average	Standard error
H	30	30,7777	4,57918
S	30	22,3333	4,12961
Total	60	26,5555	3,10591

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by TEMPERATURA

Method: 95,0 percent Duncan

TEMPERATURA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
20	20	17,25	X
15	20	30,6665	XX
25	20	31,75	X

Contrast	Difference
15 - 20	13,4165
15 - 25	-1,0835
20 - 25	*-14,5

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

TEMPERATURA	Count	Average	Standard error
15	20	30,6665	6,10268
20	20	17,25	4,88654
25	20	31,75	4,67742
Total	60	26,5555	3,10591

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by STADIJ

Method: 95,0 percent Duncan

STADIJ	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
IMAGO	30	15,4443	X
LICINKE	30	37,6667	X

Contrast	Difference
IMAGO - LICINKE	*-22,2223

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

STADIJ	Count	Average	Standard error
IMAGO	30	15,4443	3,13583
LICINKE	30	37,6667	4,57211
Total	60	26,5555	3,10591

INDIVIDUALNA STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI LIČINK RESARJA

Analysis of Variance for KORIGIRANA SMRTNOST - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:OGORCICA	1470,0	1	1470,0	2,37	0,1392
B:TEMPERATURA	1201,67	2	600,833	0,97	0,3963
C:PONOVITVE	2428,33	4	607,083	0,98	0,4407
INTERACTIONS					
AB	695,0	2	347,5	0,56	0,5794
RESIDUAL	12391,7	20	619,583		
TOTAL (CORRECTED)	18186,7	29			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for KORIGIRANA SMRTNOST
with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit	
GRAND MEAN	30	37,6667				
OGORCICA						
H	15	44,6667	6,42694	31,2603	58,0731	
S	15	30,6667	6,42694	17,2603	44,0731	
TEMPERATURA						
15	10	45,5	7,87136	29,0806	61,9194	
20	10	30,0	7,87136	13,5806	46,4194	
25	10	37,5	7,87136	21,0806	53,9194	
PONOVITVE						
1	6	42,5	10,1619	21,3026	63,6974	
2	6	34,1667	10,1619	12,9693	55,364	
3	6	46,6667	10,1619	25,4693	67,864	
4	6	21,6667	10,1619	0,469303	42,864	
5	6	43,3333	10,1619	22,136	64,5307	
OGORCICA by TEMPERATURA						
H	15	5	51,0	11,1318	27,7795	74,2205
H	20	5	32,0	11,1318	8,77945	55,2205
H	25	5	51,0	11,1318	27,7795	74,2205
S	15	5	40,0	11,1318	16,7795	63,2205
S	20	5	28,0	11,1318	4,77945	51,2205
S	25	5	24,0	11,1318	0,779452	47,2205

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by OGORCICA

 Method: 95,0 percent Duncan

OGORCICA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
----------	-------	---------	--------------------

S	15	30,6667	X
H	15	44,6667	X

Contrast	Difference
----------	------------

H - S	14,0
-------	------

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

OGORCICA	Count	Average	Standard error
----------	-------	---------	----------------

H	15	44,6667	6,42663
S	15	30,6667	6,18883

Total	30	37,6667	4,57211
-------	----	---------	---------

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by TEMPERATURA

 Method: 95,0 percent Duncan

TEMPERATURA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-------------	-------	---------	--------------------

20	10	30,0	X
25	10	37,5	X
15	10	45,5	X

Contrast	Difference
----------	------------

15 - 20	15,5
15 - 25	8,0
20 - 25	-7,5

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

TEMPERATURA	Count	Average	Standard error
-------------	-------	---------	----------------

15	10	45,5	8,2479
20	10	30,0	7,45356
25	10	37,5	8,07087

Total	30	37,6667	4,57211
-------	----	---------	---------

INDIVIDUALNA STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI IMAGOV RESARJA

Analysis of Variance for KORIGIRANA SMRTNOST - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:OGORCICA	62,583	1	62,583	0,25	0,6239
B:TEMPERATURA	2313,52	2	1156,76	4,59	0,0230
C:PONOVITVE	943,109	4	235,777	0,93	0,4640
INTERACTIONS					
AB	190,196	2	95,098	0,38	0,6907
RESIDUAL	5045,66	20	252,283		
TOTAL (CORRECTED)	8555,07	29			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for KORIGIRANA SMRTNOST
with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	30	15,4443			
OGORCICA					
H	15	16,8887	4,10108	8,33394	25,4434
S	15	14,0	4,10108	5,44527	22,5547
TEMPERATURA					
15	10	15,833	5,02278	5,35564	26,3104
20	10	4,5	5,02278	-5,97736	14,9774
25	10	26,0	5,02278	15,5226	36,4774
PONOVITVE					
1	6	14,1667	6,48438	0,640458	27,6929
2	6	21,3883	6,48438	7,86212	34,9145
3	6	6,66667	6,48438	-6,85954	20,1929
4	6	21,6667	6,48438	8,14046	35,1929
5	6	13,3333	6,48438	-0,192876	26,8595
OGORCICA by TEMPERATURA					
H 15	5	15,666	7,10328	0,848781	30,4832
H 20	5	4,0	7,10328	-10,8172	18,8172
H 25	5	31,0	7,10328	16,1828	45,8172
S 15	5	16,0	7,10328	1,18278	30,8172
S 20	5	5,0	7,10328	-9,81722	19,8172
S 25	5	21,0	7,10328	6,18278	35,8172

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by OGORCICA

 Method: 95,0 percent Duncan

OGORCICA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
S	15	14,0	X
H	15	16,8887	X

 Contrast

Difference

 H - S 2,88867

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

OGORCICA	Count	Average	Standard error
H	15	16,8887	4,24403
S	15	14,0	4,73588
Total	30	15,4443	3,13583

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by TEMPERATURA

 Method: 95,0 percent Duncan

TEMPERATURA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
20	10	4,5	X
15	10	15,833	XX
25	10	26,0	X

 Contrast

Difference

 15 - 20 11,333
 15 - 25 -10,167
 20 - 25 *-21,5

* denotes a statistically significant difference.

Summary Statistics for KORIGIRANA SMRTNOST

TEMPERATURA	Count	Average	Standard error
15	10	15,833	6,35002
20	10	4,5	3,02306
25	10	26,0	4,4597
Total	30	15,4443	3,13583

STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI IMAGOV, TRETIRANIH Z
 OGORČICO *Heterorhabditis bacteriophora*

Analysis of Variance for KORIGIRANA SMRTNOST - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:TEMPERATURA	1833,71	2	916,856	5,65	0,0187
RESIDUAL	1948,77	12	162,398		
TOTAL (CORRECTED)	3782,48	14			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for KORIGIRANA SMRTNOST
 with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	16,8887			
TEMPERATURA					
15	5	15,666	5,69908	3,24874	28,0833
20	5	4,0	5,69908	-8,41726	16,4173
25	5	31,0	5,69908	18,5827	43,4173

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by TEMPERATURA

Method: 95,0 percent Duncan

TEMPERATURA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
20	5	4,0	X
15	5	15,666	XX
25	5	31,0	X

Contrast	Difference
15 - 20	11,666
15 - 25	-15,334
20 - 25	*-27,0

STATISTIČNA ANALIZA KORIGIRANE SMRTNOSTI IMAGOV, TRETIRANIH Z OGORČICO *Steinernema feltiae*

Analysis of Variance for KORIGIRANA SMRTNOST - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:TEMPERATURA	670,0	2	335,0	1,00	0,3983
RESIDUAL	4040,0	12	336,667		
TOTAL (CORRECTED)	4710,0	14			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Table of Least Squares Means for KORIGIRANA SMRTNOST
 with 95,0 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Mean	Std. Error	Lower Limit	Upper Limit
GRAND MEAN	15	14,0			
TEMPERATURA					
15	5	16,0	8,20569	-1,8787	33,8787
20	5	5,0	8,20569	-12,8787	22,8787
25	5	21,0	8,20569	3,1213	38,8787

Multiple Range Tests for KORIGIRANA SMRTNOST by TEMPERATURA

Method: 95,0 percent Duncan

TEMPERATURA	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
20	5	5,0	X
15	5	16,0	X
25	5	21,0	X

Contrast	Difference
15 - 20	11,0
15 - 25	-5,0
20 - 25	-16,0

* denotes a statistically significant difference.