

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sanja LJUBI

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

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sanja LJUBI

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

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

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

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija agronomije. Opravljeno je bilo v entomološkem laboratoriju na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

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

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

Član: izr. prof. dr. Franci Aco CELAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Sanja Ljubi

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 632.937: 632.651: 632.952 (043.2)
KG	laboratorijska raziskava/entomopatogene ogorčice/ <i>Steinernema feltiae</i> / <i>Steinernema carpocapsae</i> / <i>Heterorhabditis downesi</i> /kompatibilnost/fungicidi
KK	AGRIS H01/H10
AV	LJUBI, Sanja
SA	TRDAN, Stanislav (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddeleke za agronomijo
LI	2011
IN	PREUČEVANJE SKLADNOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) IN FUNGICIDOV V LABORATORIJSKIH RAZMERAH
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 32 str., 6 pregl., 6 sl., 34 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V raziskavi smo v laboratorijskih razmerah ugotavljali, kako neposredno izpostavljanje infektivnih ličink entomopatogenih ogorčic <i>Steinernema feltiae</i>, <i>S. carpocapsae</i> in <i>Heterorhabditis downesi</i> različnim fungicidnim pripravkom deluje na njihovo sposobnost preživetja pri različnih temperaturah. Njihovo združljivost s fungicidi smo ocenjevali 24 ur po nastavitvi poskusa. Preživetje ogorčic smo ugotavljali pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25°C) in pri stalni relativni zračni vlagi 70%. V našem poskusu smo ugotovili kompatibilnost vrste <i>S. feltiae</i> le s pripravkom Quadris (a.s. azoksistrobin), medtem ko smo do podobnih ugotovitev pri vrsti <i>S. carpocapsae</i> C67 prišli pri vseh fungicidih, razen pri pripravkih Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol), Dithane M-45 (a.s. mankozeb), Sabithane (a.s. dinokap in miklobutanil) in Ridomil Gold plus 42,5 WP (a.s. bakreni oksiklorid in metalaksil-M). Pri vrsti <i>H. downesi</i> 3173 je bila dosežena statistično značilna razlika v smrtnosti infektivnih ličink v primerjavi s kontrolo le pri pripravku Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol). Na podlagi naših rezultatov lahko zaključimo, da ima tudi temperatura pomemben vpliv na smrtnost infektivnih ličink v kombinaciji s fungicidi. Pri višjih temperaturah je bila smrtnost infektivnih ličink v višja.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 632.937: 632.651: 632.952 (043.2)
CX laboratory conditions/entomopathogenic nematodes/ *Steinernema feltiae*/
Steinernema carpocapsae/*Heterorhabditis downesi*/ compatibility/fungicides
CC AGRIS H01/H10
AU LJUBI, Sanja
AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2011
PI RESEARCH ON COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC
NEMATODES (Rhabditida) AND FUNGICIDES UNDER
LABORATORY CONDITIONS
DT Graduation Thesis (University studies)
NO X, 32 p., 6 tab., 6 fig., 34 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The compatibility of infective juveniles (IJs) of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, and *Heterorhabditis downesi* with 15 chemical fungicides was investigated under laboratory conditions. The effect of direct IJs exposure to fungicides for 24 hours was tested in a Petri dish experiment at 15, 20, and 25 °C. In our experiment we determined the best compatibility of *S. feltiae* with the insecticides Quadris (a.i. azoxystrobin), meanwhile similar findings were found between *S. carpocapsae* (strain C67) and all tested fungicides except with products Falcon EC-460 (a.i. tebuconazole, spiroxamine, and triadimenol), Dithane M-45 (a.i. mancozeb), Sabithane (a.i. dinocap), and Ridomil Gold Plus 42.5 WG (a.i. copper hydroxide, and metalaxil-M). Nematode *H. downesi* (strain 3173) significantly suffered the highest mortality when infective juveniles were mixed with product Falcon EC-460. Based on our results we can conclude that temperature has a significant impact on mortality of IJs in combination with fungicides. At higher temperatures, the mortality of infective juveniles in our experiment was higher.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA DELO	1
1.2 CILJ RAZISKAVE	1
1.3 DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ZGODOVINA UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	3
2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	4
2.2.1 Deblo Nemata	4
2.2.2 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu <i>Heterorhabditis</i>	4
2.2.2.1 <i>Heterorhabditis downesi</i>	5
2.2.3 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu <i>Steinernema</i>	5
2.2.3.1 <i>Steinernema carpocapsae</i>	5
2.2.3.2 <i>Steinernema feltiae</i>	5
2.2.4 Razlike med rodovima <i>Steinernema</i> in <i>Heterorhabditis</i>	6
2.3 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	6
2.4 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	8
2.4.1 Biotski in abiotski dejavniki	8
2.5 ZNAČILNOSTI UPORABLJENIH FUNGICIDNIH PRIPRAVKOV	9
2.5.1 Falcon	9
2.5.2 Alliette flash	9
2.5.3 Previcur 607 SL	10
2.5.4 Teldor SC 500	10
2.5.5 Bellis	10
2.5.6 Cuprablau Z	11
2.5.7 Clarinet	11
2.5.8 Dithane M-45	11
2.5.9 Folpan 80 WDG	12
2.5.10 Pepelin	12
2.5.11 Polyram-DF	13
2.5.12 Ridomil Gold Plus 45,5 WP	13
2.5.13 Quadris	13
2.5.14 Sabithane	14
2.5.15 Tattoo	15
2.6 KOMPATIBILNOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	16
3 MATERIAL IN METODE DELA	17
3.1 FUNGICIDI	17

3.2	ENTOMOPATOGENE OGORČICE	18
3.3	PREIZKUS SKLADNOSTI	18
3.4	STATISTIČNE ANALIZE	18
4	REZULTATI	21
4.1	SKUPINSKA ANALIZA	21
4.2	INDIVIDUALNA ANALIZA	21
4.2.1	<i>Steinernema feltiae</i>	21
4.2.2	<i>Steinernema carpocapsae</i>	23
4.2.3	<i>Heterorhabditis downesi</i>	24
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	25
6	POVZETEK	26
7	VIRI	29
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Imena, aktivne snovi, hektarski odmerki uporabljenih fungicidnih pripravkov in odmerki uporabljeni v poskusu	17
Preglednica 2: Rezultati ANOVA za korigirano smrtnost IL	21
Preglednica 3: Odstotek spremembe smrtnosti IL <i>Steinernema feltiae</i> rasa C76 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam	22
Preglednica 4: Odstotek spremembe smrtnosti IL Entonem (a.s. <i>S. feltiae</i>) v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam	22
Preglednica 5: Odstotek spremembe smrtnosti IL <i>S. carpocapsae</i> rasa C 67 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam	23
Preglednica 6: Odstotek spremembe smrtnosti IL <i>Heterorhabditis downesi</i> rasa 3173 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam	24

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Koppenhöfer in Kaya, 2002)	7
Slika 2: Nekateri od fungicidnih pripravkov, vključeni v našo raziskavo (foto: Ž. Laznik)	15
Slika 3: Fungicidnim brozgam smo dodali pripravljeno suspenzijo EO (foto: Ž. Laznik)	19
Slika 4: Plastične petrijevke z odpipetiranimi suspenzijami pred postavitvijo v gojitveno komoro, kjer so bili zagotovljene vnaprej določene razmere (foto: Ž. Laznik)	19
Slika 5: Nanašanje suspenzije preučevanih fungicidov in entomopatogenih ogorčic na steklene petrijevke pred ugotavljanje njihove vitalnosti (foto: Ž. Laznik)	20
Slika 6: Ugotavljanje vitalnosti entomopatogenih ogorčic po 24-urni inkubaciji (foto: Ž. Laznik)	20

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

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

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Entomopatogene ogorčice (EO) iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae veljajo za učinkovite biotične agense pri zatiranju gospodarsko pomembnih škodljivih žuželk (Gaugler in Kaya, 1990; Journey in Ostlie, 2000). EO pogosto uporabljamo na kmetijskih zemljiščih, za katere je znano, da so predhodno lahko tretirana s fitofarmaceutskimi sredstvi (FFS) in rudninskimi gnojili. Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da lahko omenjena sredstva vplivajo na delovanje EO (De Nardo in Grewal, 2003). V integriranem varstvu rastlin je dobro vedeti, ali lahko EO zmešamo v rezervoarju ali uporabimo hkrati z drugim FFS in tako prihranimo na času in stroških (Grewal, 2002).

Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da lahko infektivne ličinke (IL) EO prenesejo kratkotrajno izpostavljanje (2-24 ur) številnim kemičnim in biotičnim insekticidom, fungicidom, herbicidom, rudninskim gnojilom in regulatorjem rasti in jih je tako mogoče mešati v rezervoarju in uporabiti skupaj (Schroeder in Sieburth, 1997; Head in sod., 2000; Koppenhöfer in sod., 2002; Krishnayya in Grewal, 2002; De Nardo in Grewal, 2003; Schroer in sod., 2005). Rezultati teh poskusov kažejo, da je kompatibilnost vrste specifična. IL prenesejo izpostavljanje številnim agrokemikalijam in določena FFS lahko celo stimulirajo in vzajemno sinergično delujejo z EO, medtem ko jim določene kemikalije lahko škodijo (De Nardo in Grewal, 2003).

Rezultati predhodnih raziskav so pokazali, kako neposredno izpostavljanje IL raztopinam insekticidov vpliva na delovanje in njihovo infektivnost (Hara in Kaya, 1982; Rovesti in sod., 1988, Zhang in sod., 1994, Gordon in sod., 1996). Ugotovljeni so bili škodljivi učinki večih spojin, ki so zmanjševale infektivnost in povečevale smrtnost EO (Rovesti in Deseo, 1990; Gaugler in Campbell, 1991). Rezultati predhodnih raziskav pa tudi kažejo, da lahko izpostavljanje določenim kemikalijam spodbudi gibanje ogorčic in okrepi njihovo iskanje gostitelja ter prodiranja vanj (Ishibashi in Taki, 1993).

1.2 CILJ RAZISKAVE

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, kako neposredno izpostavljanje IL EO *Steinernema feltiae* Filipjev, *Steinernema carpocapsae* Weiser rasa C67 in *Heterorhabditis downesi* Griffin & Burnell (rasa 3172) različnim fungicidom deluje na njihovo sposobnost preživetja pri različnih temperaturah v laboratorijskih razmerah.

Vpliv FFS na gibanje (obnašanje) IL je težko ovrednotiti, kajti prizadete EO (še posebno vrsta *S. carpocapsae*) dokaj neaktivne ohranjajo obliko črke "J", kljub temu, da se lahko hitro odzovejo na mehanske dražljaje (Rovesti in Deseo, 1990). Pomanjkanje natančnosti pri ocenjevanju preživetvene sposobnosti lahko privede do neskladja s podatki o infektivnosti, kajti to lahko negativno vpliva na njihovo obnašanje, tj. zavira gibanje,

razpršitev in privlačnost na gostitelja, zavira pa tudi razmnoževanje in razvoj ogorčic (Hara and Kaya, 1982; Rovesti and Deseö, 1990; Ishibashi and Taki, 1993).

Za raziskavo smo uporabili domačo raso *S. feltiae* C76, komercialni pripravek Entonem (a.s. *S. feltiae*), domačo raso *S. carpocapsae* C67 in madžarsko raso *H. downesi* 3172. Njihovo kompatibilnost s fungicidi smo preverjali v laboratorijskih razmerah. Preživetje IL v različnih kemikalijah, smo ocenjevali po 24 urah z odvzemom 3 x 50 µL posameznega preučevanega vzorca. Poskus smo izvajali pri različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in pri stalni relativni zračni vlagi (70 %). EO, ki se niso odzvale kljub draženju s sterilno iglo, smo obravnavali kot mrtve.

Z diplomsko nalogo smo želeli ugotoviti in izpostaviti prednosti uporabe EO v kombinaciji s fungicidi, in s tem zagotoviti novo možnost pri reševanju kmetijskih problemov, kot je sočasno zatiranje škodljivih organizmov. Varovanje okolja je naša pomembna skrb in z uporabo EO, kot alternative obstoječim, konvencionalnim »orožjem« zoper škodljive organizme, smo na pravi poti, da okolje ohranimo bolj čisto, skrb zanj pa prepustimo prihodnjim rodovom.

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da so različne vrste in rase EO različno združljive s preiskovanimi fungicidi, katerih skupna aplikacija na ciljne rastline v naravi bi nam lahko prinesla številne prednosti, predvsem v integriranem varstvu rastlin (IVR).

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZGODOVINA UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Že v 17. stoletju je bilo znano, da lahko nekatere vrste ogorčic parazitirajo žuželke, vendar pa se je šele v 30-ih letih prejšnjega stoletja znanost prvič resneje začela ukvarjati z njimi, kot možnim načinom biotičnega varstva rastlin. EO so začeli uporabljati za varstvo rastlin pred škodljivimi žuželkami na rastlinah v 30-ih in v začetku 40-ih let prejšnjega stoletja, ko so s tovrstnimi raziskavami začeli ameriški nematologi Glaser, Fox in Steiner (Gaugler, 2002).

Leta 1929 sta Glaser in Fox odkrila ogorčico, ki je napadla hrošča *Popillia japonica* (Smart, 1995). Istega leta je Steiner poimenoval to ogorčico z imenom *Steinernema glaseri*. Vsi trije znanstveniki se niso zavedali, da je bila glavni povzročitelj smrti omenjenega hrošča simbiotska bakterija, ki živi z EO v simbiotsko-mutualističnem odnosu. Glaser je vpeljal metodo gojenja EO »*in vitro*«, ki je bila ustrezna tudi za razmnoževanje simbiotskih bakterij. S tako namnoženimi ogorčicami je leta 1939 v New Jersey-ju izvedel prvi poljski poskus zatiranja hrošča *Popillia japonica*.

To izjemno odkritje je bilo zaradi intenzivne uporabe kemičnih sredstev za varstvo rastlin pozabljeno vse do 70-ih let prejšnjega stoletja, ko so v javnost prišle informacije o njihovi strupenosti. Ugotovljeno je bilo, da klorirani ogljikovodiki (na primer insekticid DDT), ki so se množično uporabljali do tedaj, močno onesnažujejo okolje. Zaradi prevelikih količin DDT, se je ta začel prenašati prek prehranjevalne verige in je povzročil skoraj izumrtje nekaterih vrst živali (ptiči). Vsa ta dejstva je Rachel Carson opisala v knjigi *Nema pomlad* (Gaugler, 2002).

Strokovnjaki s področja varstva rastlin so spoznali, da je potrebno nekaj temeljito spremeniti. Odtlej so številne raziskave vezane na nove načine varstva rastlin, med katere štejemo tudi biotično varstvo. Ideja o biotičnem zatiranju škodljivih žuželk z EO je ponovno zaživela.

Kar je bilo še pred 30 leti zgolj laboratorijsko delo, je danes že uporabna znanost na pridelovalnih površinah. V več kot 60 državah sveta znanstveniki raziskujejo EO in njihove simbiotske bakterije. Na Floridi (ZDA) z omenjenimi ogorčicami vsako leto tretirajo citruse na 25.000 ha. Na različnih območjih ZDA EO uporabljajo tudi za zatiranje škodljivcev brusnic, artičok, gojenih gob, jablan, breskev, travne ruše in nekaterih drugih gojenih rastlin. EO pa so zanimive tudi za raziskave v nekaterih drugih področjih znanosti, na primer v biotehnologiji, genetiki in medicini (Gaugler, 2002).

2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Po uveljavljeni sistematiki EO uvrščamo v naslednje taksonomske skupine (Gaugler, 2002):

deblo: Nemata,
razred: Secrenentea,
podrazred: Rhabditia,
red: Rhabditida,
podred: Rhabditina,
naddružina: Rhabditoidea,
družina: Steinernematidae (rodova: *Steinernema*, *Neosteinernema*),
družina: Heterorhabditidae (rod: *Heterorhabditis*).

2.2.1 Deblo Nemata

Izraz »nematoda«, ki smo ga poslovenili v ogorčica, prihaja iz grških besed »nema« (nit) in »toid« (oblika). Ogorčice so talni organizmi, ki v dolžino merijo od 0,1 mm do več metrov (Kaya in Koppenhöfer, 1999). Gre za organizme, ki za obstoj nujno potrebujejo višjo vlago. Ker so jih dosedaj našli na vseh celinah, razen na Antarktiki, jih uvrščamo med kozmopolite. Ti organizmi so sposobni živeti tudi v najbolj ekstremnih razmerah.

Ogorčice imajo prebavila, mišice, enostavni izločalni in živčni sistem, kot tudi razmnoževalne organe, nimajo pa čutil za vid in sluh ter dihalnega in krvnega sistema. Pri večini vrst sta spola ločena. Večina ogorčic je prostoživečih, nekatere vrste pa lahko živijo kot paraziti rastlin ali živali. Najdemo jih tako v sladki kot morski vodi.

Po obliki so ogorčice bilateralno simetrične, podolgovate in nečlenasto oblikovane živali, katerih telo je pokrito s kutikulo hipodermalnega izvora. Vrste se razlikujejo tudi po obliki telesa. Sprednji del je navadno zaokrožen, na njegovem skrajnem delu je največkrat ustna odprtina z značilnimi izrastki v obliki papil in set. Ustni odprtini sledi črevo, ki se končuje s kloako pri samcih oz. z zadnjično odprtino pri samicah (Gaugler, 2002).

2.2.2 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*

Leta 1976 je Poinar opisal prvo ogorčico iz rodu *Heterorhabditis* in jo poimenoval *Heterorhabditis bacteriophora*. Uvrstil jo je v novo družino - Heterorhabditidae. V to družino štejemo le en rod - *Heterorhabditis*, vanj pa je bilo doslej uvrščenih 11 vrst ogorčic.

V rod *Heterorhabditis* tako danes štejemo vrste *H. bacteriophora*, *H. baujardi*, *H. brevicaudis*, *H. downesi*, *H. floridensis*, *H. indica*, *H. marelatus*, *H. megidis*, *H. mexicana*, *H. taysearae* in *H. zealandica* (Ngyugen, 2006).

2.2.2.1 *Heterorhabditis downesi* Griffin & Burell

Osebkni te vrste so bolj dovzetni za okoljske skrajnosti, zato so tudi manj pogoste, kljub temu so morfološko dobro raziskane. Ta vrsta se od drugih opisanih vrst iz tega rodu razlikuje po njihovih značilnih morfoloških spremembah. Hermafroditi in tretja stopnja IL imajo značilno ostre repe, za moške pa je značilen položaj izločalnih por, ki se nahajajo v ospredju (Ngyugen, 2006).

2.2.3 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Steinernema*

Po odkritju prve ogorčice iz omenjenega rodu, vrste *Steinernema glaseri* (1929), se je intenzivnost iskanja novih vrst ogorčic začela naglo povečevati. Rod *Steinernema* uvrščamo v družino Steinernematidae, ki jo sestavljata dva rodova, in sicer rod *Steinernema* ter rod *Neosteinernema*. Iz rodu *Steinernema* je bilo doslej najdenih 61 vrst ogorčic (Ngyugen, 2006).

2.2.3.1 *Steinernema carpocapsae* (Weiser)

Gre za EO, ki je ena od najbolj raziskanih, dostopnih in prilagodljivih vrst (Hominick, 2000). Se enostavno razmnožuje in formulira skoraj v suhem stanju, v katerem se pri sobni temperaturi lahko ohrani več mesecev. Je zelo učinkovita pri parazitiranju gosenic iz družine Pyralidae ter ličink in bub iz družine Noctuidae (Peters, 1996a; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Za razliko od nekaterih drugih vrst, ki iščejo svoje žrtve aktivno, se *S. carpocapsae* postavi vzravnano na rep in tako počaka svojega gostitelja. Najpogostejši vstop ogorčice v novega gostitelja je skozi dihalno in zadnjično odprtino. Svoje gostitelje najučinkoviteje parazitira pri temperaturi od 22 do 28°C (Gaugler, 1999). Odrasla ogorčica meri v dolžino 558 µm in v širino 25 µm, IL pa je dolga med 438 ter 650 µm in široka 20-30 µm (Gaugler, 2002).

2.2.3.2 *Steinernema feltiae* Filipjev

Vrsto *Steinernema feltiae* uvrščamo v t.i. »feltiae skupino«, za njene predstavnike je znano, da so IL dolge med 700 in 1000 µm. Vrsta *S. feltiae* živi v simbiozi z bakterijo *Xenorhabdus bovienii* Akhurst (Poinar, 1988) in so jo prvič odkrili šele leta 1934. Njena uporabna vrednost v biotičnem varstvu je dobro znana (Ebssa, 2004). Nekateri raziskovalci poročajo, da se vrste *S. feltiae*, *S. intermedium* in *S. affine* zelo rade pojavljajo na obdelovalnih zemljiščih (Sturhan, 1996). V Evropi je bila do sedaj vrsta *S. feltiae* potrjena v 24 državah in velja za eno najbolj razširjenih vrst EO (Hominick, 2002).

2.2.4 Razlike med rodovima *Steinernema* in *Heterorhabditis*

S pomočjo molekulskih raziskav je bilo ugotovljeno, da ogorčice iz obeh rodov niso tesno povezane. Med rodovima *Heterorhabditis* in *Steinernema* je več razlik. Prva temelji na dejstvu, da so vsi predstavniki rodu *Heterorhabditis* v svojem prvem rodu dvospolniki, IL pa nosijo simbiotsko bakterijo v srednjem črevesu. Prvi rod predstavnikov iz roda *Steinernema* predstavljajo samci in samice, IL pa imajo simbiotsko bakterijo v posebnem črevesnem mehurčku (veziklu) (Gaugler, 2002).

IL predstavnikov iz rodu *Heterorhabditis* imajo v bližini ust zobcu podoben izrastek, medtem, ko ga tiste iz rodu *Steinernema* nimajo. Simbiotske bakterije IL iz rodu *Heterorhabditis* so iz rodu *Photorhabdus*, simbiotske bakterije IL iz rodu *Steinernema* pa spadajo v rod *Xenorhabdus*. IL obeh rodov se lahko razvijejo v odrasle osebkke (image) tudi brez prisotnosti simbiotskih bakterij (Kaya in Koppehöfer, 1999).

2.3 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Razvojni krog EO vključuje naslednje razvojne stadije: jajčece, ličinko, ki se navadno štirikrat levi in odraslega osebka (imago) (slika 1). Med razvojnimi stadiji ogorčic, ki živijo v tleh, so le IL sposobne povzročiti okužbo. Gre za ličinke tretje larvalne stopnje (L3) prvega rodu EO. Takšne ličinke so prosto živeče in dobro prilagojene na pomanjkanje hrane v daljšem časovnem obdobju. Energijo črpajo iz lastnih zalog. IL nosi v sprednjem delu črevesa (v posebnih veziklih) od 200 do 2000 simbiotskih bakterij (Gaugler, 2002).

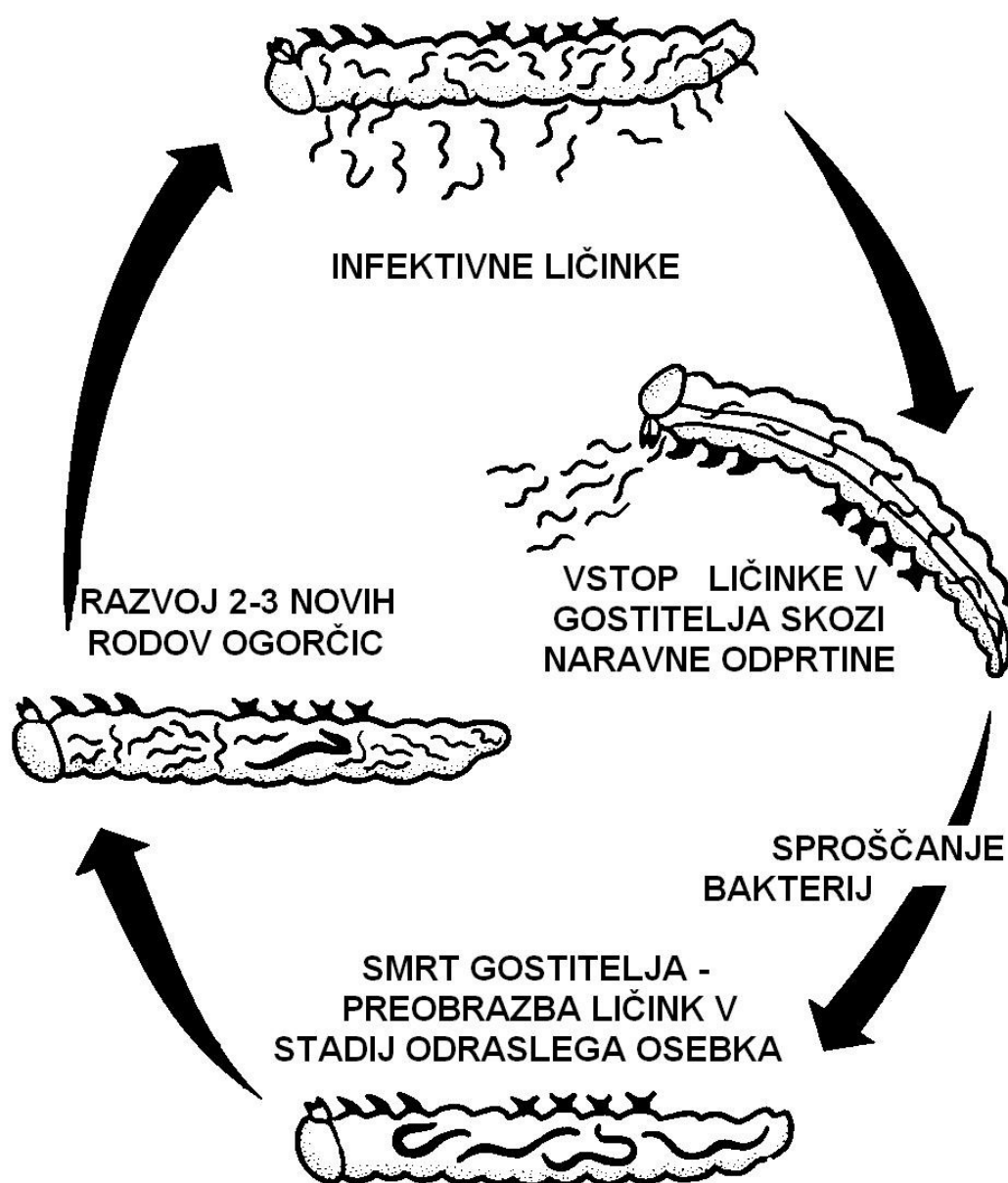
IL EO vstopijo v gostitelja prek naravnih odprtín (dihalne odprtine, ustni aparat, zadnjična odprtina) oziroma prek kutikule. V hemolimfi gostitelja nato ogorčice sprostijo zanje značilne simbiotske bakterije. Bakterije se v hemolimfi hitro množijo in tvorijo toksine ter druge sekundarne metabolite, ki prispevajo k oslabitvi obrambnega mehanizma gostitelja. V približno dveh dneh po vstopu IL v gostitelja le-ta pogine (Gaugler, 2002).

V gostitelju se torej začne dvojni razvojni krog, ogorčice in bakterije. Ogorčice prvega rodu preidejo v drugi rod. Po štirikratni levitvi ličink in obdobju imaga ogorčice preidejo v tretji rod, ki uspeva v gostitelju toliko časa, dokler ima na voljo hrano. Gostitelj je tedaj že mrtev, kajti toksini, ki jih je izločila bakterija, ga pred tem že pokončajo (24 - 72 ur po vstopu ogorčice v gostitelja). To pomeni, da je tretji rod ogorčic že saprofitski (Gaugler, 2002).

Bakterije tvorijo tudi takšne toksine, ki od razpadajočega trupla odganjajo ostale mikroorganizme, ki bi se želeli z njim prehranjevati. Gre za tipičen zgled simbiotsko mutualističnega odnosa med ogorčicami in bakterijami. Ogorčica namreč omogoča bakteriji vstop v gostitelja, bakterija pa v zameno ogorčici ubije gostitelja in ga razgradi na takšne snovi, ki jih nato EO lahko uporabi za hrano. Ko je razvojni krog zaključen,

ogorčica zapusti nerazgrajeni del trupla in se vrne v tla. Zunaj gostitelja lahko ogorčica v tleh živi le nekaj mesecev, nato pogine (Gaugler, 2002)

Najugodnejše razmere za razmnoževanje ogorčic so v hemolimfi gostitelja. V ugodnih razmerah IL iz rodu *Steinernema* zapustijo gostitelja od 6 do 11 dni po parazitiranju, tiste iz rodu *Heterorhabditis* pa od 12 do 14 dni po parazitiranju (Kaya, 2000). Ogorčice lahko razvijejo v enem gostitelju do tri rodove. Izjema je vrsta *Steinernema kushidai*, ki ima zaradi njene velikosti vedno le en rod (Kaya, 2000).



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

2.4 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

2.4.1 Biotični in abiotični dejavniki

Dejavniki, ki vplivajo na preživetje EO so notranji, kot na primer genetski, fiziološki in vedenjski, ter zunanji, ki jih delimo na abiotične in biotične. Abiotični dejavniki so temperatura, vlaga, tekstura tal, ultravijolična svetloba in FFS. Biotični dejavniki, ki so ugodni za ogorčice, ustvarjajo ustrezno okolje za življenje EO. Mednje sodita prisotnost njihovih gostiteljev in rastlin. Biotični dejavniki lahko na ogorčice delujejo tudi antagonistično (Gaugler, 2002).

Ogorčice lahko preživijo neugodne okoljske razmere v dormantnem stanju. V stanju dormance so lahko organizmi v diapavzi ali mirovanju. O stanju mirovanja govorimo takrat, ko se razvoj organizma ustavi. Razvoj se ne nadaljuje toliko časa, dokler niso izpolnjene določene zahteve, tudi če se spet vzpostavijo ugodne okoljske razmere. Mirovanje je neobvezen odgovor na neugodne okoljske razmere. V stanju dormance se metabolizem upočasni in se lahko, potem ko se vzpostavijo ugodne okoljske razmere, ponovno vrne v prvotno stanje. Neugodne okoljske razmere za delovanje EO predstavljajo pomanjkanje vode, ekstremne temperature, pomanjkanje kisika in osmotski stres. Vsak od teh dejavnikov vpliva na preživetje ogorčic (Gaugler, 2002). Večina EO lahko le v stadiju IL preide v stanje dormance zunaj gostitelja.

IL imajo zunanjo povrhnjico iz dveh plasti. Povrhnjica se strukturno razlikuje med različnimi vrstami EO in ima pomembno vlogo pri zadrževanju vode v telesu, s čimer preprečuje izsušitev. IL imajo med dormanco zaprto ustno in zadnjično odprtino in s tem preprečujejo vstop škodljivim mikroorganizmom in škodljivim kemikalijam. V tem obdobju se ne prehranjujejo in je njihovo preživetje odvisno le od notranjih virov energije (zalog). Preživetje IL je torej odvisno od njihovega metabolizma in začetne ravni energijskih rezerv. Energijske rezerve so potrebne za podporo fiziološkim in vedenjskim procesom, ki spremljajo prilagajanje na okoljski stres (Gaugler, 2002).

Vpliv temperature na EO je odvisen od vrste ogorčic. Na splošno postanejo IL počasne pri temperaturah nižjih od 10 do 15 °C in neaktivne pri temperaturah višjih od 30 do 40 °C. Večina IL najučinkoviteje parazitira žuželke pri temperaturah med 20 in 30 °C. Izjemi sta vrsti *Steinernema feltiae*, ki je najučinkovitejša v temperaturnem intervalu med 12 in 25 °C ter *Steinernema riobrave*, za katero velja enako v temperaturnem intervalu med 25 in 35 °C (Koppenhöfer, 2000). Višje temperature povzročijo višjo metabolno aktivnost in porabo energijskih rezerv ter zato vplivajo na krajšo življenjsko dobo ogorčic (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Temperature, višje od 32 °C, imajo negativno vplivajo na razmnoževanje, rast in preživetje različnih organizmov, tudi ogorčic.

Ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae lahko preživijo tudi, če so izpostavljene nekaterim FFS. Vendar pa so IL občutljive na več nematicidov, ki se

uporabljajo v kmetijstvu. Nekatera FFS je priporočljivo uporabiti šele od enega do dveh tednov po aplikaciji ogorčic (Smith, 1999).

2.5 ZNAČILNOSTI UPORABLJENIH FUNGICIDNIH PRIPRAVKOV

2.5.1 Falcon EC 460

Aktivne snovi: spiroksamin 25%, tebukonazol 16,7%, triadimenol 4,3%

Uporaba na: navadni ječmen (*Hordeum vulgare* L.); pšenica (*Triticum* L.); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: fuzarioza korenin, stebila in klasa pšenice (*Fusarium* spp.); ječmenov listni ožig (*Rhynchosporium secalis* [Oudem.] J.J.Davis); ječmenova mrežasta pegavost (*Pyrenophora teres* Drechs.); oidij vinske trte (*Uncinula necator* [Schwein.] Burrill); pšenična listna pegavost (*Mycosphaerella graminicola* [Fuckel] J.Schroet.); rjavenje pšeničnih plev (*Leptosphaeria nodorum* E.Müller); rje iz rodu *Puccinia* (*Puccinia* Persoon); žitna pepelovka (*Blumeria graminis* Speer.)

Odmerki: od 0,3 do 0,6 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.2 Aliette flash

Aktivna snov: fosetil-Al 80 %

Uporaba na: buča (*Cucurbita pepo* L.); dinja (*Cucumis melo* L.); hmelj (*Humulus* L.); hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* Mill.); navadna kumara (*Cucumis sativus* L.); navadna lubenica (*Citrullus lanatus* [Thunb.] Matsum. in Nakai); solata (*Lactuca sativa* L.)

Uporaba proti: hmeljna peronospora (*Pseudoperonospora humuli* [Miyabe & Takah.] G.W.Wils.); hrušev ožig (*Erwinia amylovora* [Burrill] Winslow in sod.); kumarna plesen (*Pseudoperonospora cubensis* [Berk. & M.A.Curtis] Rostovzev); solatna plesen (*Bremia lactucae* Regel)

Odmerki: od 0,7 do 5 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.3 Previcur 607 SL

Aktivna snov: propamokarb 60,7 %

Uporaba na: navadna kumara (*Cucumis sativus* L.); paprika (*Capsicum annuum* L.); paradižnik (*Lycopersicon esculentum* Mill.); tulipan (*Tulipa acuminata* Vahl ex Hornem.)

Uporaba proti: glive iz rodu *Pythium* (*Pythium* Pringsheim); gniloba plodov paprike (*Phytophthora capsici* Leonian); kumarna plesen (*Pseudoperonospora cubensis* [Berk. & M.A.Curtis] Rostovzev); paradižnikova koreninska trohnoba (*Phytophthora cryptogea* Pethybridge & Lafferty)

Odmerki: od 1,5 do 3 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje, tretiranje mladih rastlin, tretiranje tal, tretiranje semena/čebulic (Fito-info, 2011).

2.5.4 Teldor SC 500

Aktivna snov: fenheksamid 50 %

Uporaba na: breskev (*Prunus persica* Batsch); brusnica (*Vaccinium vitis-idaea* L.); češnja (*Prunus avium* L.); jagoda (*Fragaria* L.); kosmulja (*Ribes uva-crispa* L.); malina (*Rubus idaeus* L.); okrasne rastline (okrasne rastline); paradižnik (*Lycopersicon esculentum* Mill.); ribez (*Ribes* L.); robide (*Rubus* L.); sliva (*Prunus domestica* L.); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: cvetna monilija (*Monilinia laxa* [Aderhold & Ruhland] Honey); navadna sadna gniloba (*Monilinia fructigena* [Aderhold & Ruhland] Honey); sadne gnilobe, monilije (*Monilinia* Honey); siva plesen (*Botryotinia fuckeliana* [de Bary] Whetzel)

Odmerki: od 0,5 do 5 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.5 Bellis

Aktivni snovi: boksalid 25,2%, piraklostrobin 12,8 %

Uporaba na: hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* Mill.)

Uporaba proti: hrušev škrlup (*Venturia pyrina* Aderhold); jablanov škrlup (*Venturia inaequalis* [Cooke] G.Wint./Aderh.); jablanova pepelovka (*Podosphaera leucotricha* [Ellis

& Everh.] E.S.Salmon); rjava hruševa pegavost (*Pleospora allii* [Rabenh.] Ces. & de Not.); sive plesni (*Botrytis Micheli*)

Odmerek: 0,8 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.6 Cuprablau Z

Aktivna snov: baker iz kompleksa bakrovega hidoksida in kalcijevega klorida 35 %

Uporaba na: vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*); hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* Mill.); hmelj (*Humulus* L.)

Uporaba proti: škrlup (*Venturia* spp.); hmeljna peronospora (*Pseudoperonospora humuli*)

Odmerki: od 3 do 4 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje
(Fito-info, 2011).

2.5.7 Clarinet

Aktivni snovi: flukvinkonazol 5 %, pirimetanil 15 %

Uporaba na: hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* MILL.)

Uporaba proti: hrušev škrlup (*Venturia pyrina* Aderhold); jablanov škrlup (*Venturia inaequalis* [Cooke]G.Wint./Aderh.); jablanova pepelovka (*Podosphaera leucotricha* [Ellis & Everh.] E.S.Salmon).

Odmerki: 1 - 1,5 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje
(Fito-info, 2011).

2.5.8 Dithane M-45

Aktivna snov: mankozeb 80 %

Uporaba na: češnja (*Prunus avium* L.); hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* Mill.); krompir (*Solanum tuberosum* L.); paradižnik (*Lycopersicon esculentum* Mill.); pšenica (*Triticum* L.); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: češnjeva listna pegavost (*Blumeriella jaapii* (Rehm) von Arx); črna listna pegavost krompirja (*Alternaria solani* [Ell. & Mart.] Sorauer); hrušev škrlup (*Venturia pyrina* Aderhold); jablanov škrlup (*Venturia inaequalis* [Cooke] G.Wint./Aderh.); krompirjeva plesen (*Phytophthora infestans* [Mont.] de Bary); listne pegavosti iz rodu *Septoria* (*Septoria* Fries); peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola* [Berk. & M.A.Curtis] Berl. & de Toni in Sacc.).

Odmerek: 2 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje na prostem in v rastlinjaku (Fito-info, 2011).

2.5.9 Folpan 80 WDG

Aktivna snov: folpet 80 %

Uporaba na: hmelj (*Humulus* L.); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: črna pegavost vinske trte (*Phomopsis viticola* [Saccardo] Saccardo); hmeljna peronospora (*Pseudoperonospora humuli* [Miyabe & Takah] G.W.Wils.); peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola* [Berk. & M.A.Curtis] Berl. & de Toni in Sacc.); rdeči listni ožig vinske trte (*Pseudopeziza tracheiphila* Müller-Thurgau)

Odmerki: od 1,25 do 3 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.10 Pepelin

Aktivna snov: žveplo 80 %

Uporaba na: breskev (*Prunus persica* Batsch); hmelj (*Humulus* L.); jablana (*Malus* Mill.); navadna kumara (*Cucumis sativus* L.); navadni grah (*Pisum sativum* L.); okrasne rastline ; vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: breskova pepelovka (*Sphaerotheca pannosa* [Wallr. ex Fr.] Lev. var. *persicae* Woronichin); hmeljeva pepelovka (*Sphaerotheca macularis* [Wallr. ex Fr.] Lind); jablanova pepelovka (*Podosphaera leucotricha* [Ellis & Everh.] E.S.Salmon); oidij vinske trte (*Uncinula necator* [Schwein.] Burrill); pepelovke iz rodu *Oidium* (*Oidium* Link.)

Odmerki: od 3 do 6 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje na prostem in v rastlinjaki (Fito-info, 2011).

2.5.11 Polyram-DF

Aktivna snov: metiram 70 %

Uporaba na: endivija (*Cichorium endivia* L.); hruška (*Pyrus* L.); jablana (*Malus* Mill.); krompir (*Solanum tuberosum* L.); paradižnik (*Lycopersicon esculentum* Mill.); solata (*Lactuca sativa* L.); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: črna pegavost vinske trte (*Phomopsis viticola* [Saccardo] Saccardo); hrušev škrlup (*Venturia pyrina* Aderhold); jablanov škrlup (*Venturia inaequalis* [Cooke] G.Wint./Aderh.); krompirjeva plesen (*Phytophthora infestans* [Mont.] de Bary); peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola* [Berk. & M.A.Curtis] Berl. & de Toni in Sacc.); solatna pegavost (*Microdochium panattonianum* [Berlese] B. Sutton, Galea & Price); solatna plesen (*Bremia lactucae* Regel)

Odmerki: od 1,2 do 2,4 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje na prostem in v rastlinjakih (Fito-info, 2011).

2.5.12 Ridomil Gold Plus 42,5 WP

Aktivni snovi: bakrov oksiklorid 40 %, metalaksil-M 2,5 %

Uporaba na: vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola* [Berk. & M.A.Curtis] Berl. & de Toni in Sacc.)

Odmerki: od 3 do 4 kg/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.13 Quadris

Aktivna snov: azoksistrobin 25 %

Uporaba na: bučnice (*Cucurbitaceae*); čebula (*Allium cepa* L.); česen (*Allium sativum* L.); drobnjak (*Allium schoenoprasum* L.); hmelj (*Humulus* L.); jagoda (*Fragaria* L.); jajčevac (*Solanum melongena* L.); korenje (*Daucus* L.); navadni hren (*Armoracia lapathifolia* Gilib. ex Usteri); navadni špargelj (*Asparagus officinalis* L.); okrasne rastline; paprika (*Capsicum annuum* L.); paradižnik (*Lycopersicon esculentum* Mill.); por (*Allium porrum* L.); rdeča pesa (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *conditiva* Alef.); spomladanska čebula (*Allium cepa* Spring Onion); strniščna repa (*Brassica rapa* L. subsp. *rapa* [DC.]

Metzg.); šalotka (*Allium cepa* L. var. *ascalonicum*); vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*)

Uporaba proti: bela rja križnic (*Albugo candida*); beluševa rja (*Puccinia asparagi* de Candolle); beluševa rjava pegavost (*Stemphylium vesicarium* [Wallr.] Simmons); bučna in kumarna pepelovka (*Sphaerotheca fuliginea* [Schlechtend. ex Fr] Pollacci/Salm.); čebulna plesen (*Peronospora destructor* [Berk.] Casp. in Berk.); česnova rja (*Puccinia allii* [de Candolle] Rudolph); črna pegavost vinske trte (*Phomopsis viticola* [Saccardo] Saccardo); črne listne pegavosti (*Alternaria* spp.); glive iz rodu *Didymella* (*Didymella* Sacc.); glive iz rodu *Phytophthora* (*Phytophthora* de Bary); hmeljeva pegavost (*Phoma exigua* Desmaz.); jagodna pepelovka (*Sphaerotheca aphanis* [Wallr.] Lind.); korenjev listni ožig (*Alternaria dauci* [Kuehn] Groves & Skolko); kumarna plesen (*Pseudoperonospora cubensis* [Berk. & M.A.Curtis] Rostovzev); oidij vinske trte (*Uncinula necator* [Schwein.] Burrill); papirnata bolezen listja pora in čebule (*Phytophthora porri* Foister); paradižnikova pepelovka (*Leveillula taurica* [Lev.] G.Arnaud); pepelovka bučnic - *Sphaerotheca* (*Sphaerotheca xanthii* [Cast.] L.); pepelovke iz rodu *Oidium* (*Oidium* LINK.); peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola* [Berk. & M.A.Curtis] Berl. & de Toni in Sacc.); pesna listna pegavost (*Cercospora beticola* Sacc.); plesen kapusnic (*Peronospora brassicae* Gaum.); plesni (*Peronosporaceae*); porova škrlatna pegavost (*Alternaria porri* [Ellis] Cif.); rdeči listni ožig vinske trte (*Pseudopeziza tracheiphila* Müller-Thurgau); rje iz rodu *Puccinia* (*Puccinia* Persoon); tobakova pepelasta plesen (*Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat)

Odmerki: od 0,7 do 1 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.14 Sabithane

Aktivni snovi: miklobutanil 7,5 %, dinokap 32,5 %

Uporaba na: vinska trta (*Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera*), bučnice (*Cucurbitaceae*), navadna kumara (*Cucumis sativus* L.)

Uporaba proti: oidij vinske trte (*Uncinula necator* [Schwein.] Burrill); pepelovke bučnic (*Erysiphe orontii* Castange), kumarna plesen (*Pseudoperonospora cubensis* [Berk. & M.A.Curtis] Rostovzev)

Odmerek: 4 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).

2.5.15 Tattoo

Aktivni snovi: mankozeb 30,2 %, propamokarb 24,8 %

Uporaba na: krompir (*Solanum tuberosum* L.)

Uporaba proti: krompirjeva plesen (*Phytophthora infestans* [Mont.] de Bary)

Odmerek: 40 L/ha

Način uporabe: foliarno tretiranje (Fito-info, 2011).



Slika 2: Nekateri od fungicidnih pripravkov, vključeni v našo raziskavo (foto: Ž. Laznik)

2.6 KOMPATIBILNOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Entomopatogene ogorčice lahko za zatiranje škodljivcev na kmetijskih zemljiščih uporabljamo v kombinaciji z ostalimi agrokemikalijami. EO lahko z ostalimi FFS nanašamo hkrati ali v kratkih časovnih presledkih. V dosedanjih raziskavah so ugotovili, da so IL za kratek čas (2-24 ur) lahko izpostavljene številnim kemičnim in biotičnim sredstvom, fungicidom, herbicidom, gnojilom in rastnim pospeševalcem, ki jih lahko uporabljamo v kmetijstvu (De Nardo in Grewal, 2003). To dejstvo nam omogoča skupno aplikacijo EO in številnih agrokemikalij, ki pa lahko celo stimulirajo ali vzajemno sinergično delujejo z EO, medtem ko jim določene kemikalije lahko škodijo. Kompatibilnost je vrstno specifična, kjer pa je potrjena, lahko EO in kemično sredstvo mešamo skupaj v rezervoarju in jih vzajemno tudi nanašamo z napravami, ki jih navadno uporabljamo za nanos FFS. Pri neskladnosti EO in agrokemikalij je za uspešnost zatiranja potrebno izbrati ustrezen interval med nanosom prvega in drugega, ki naj bo dolg od 1 do 2 tedna (Grewal, 2002).

3 MATERIAL IN METODE DELA

Poskus je potekal v Entomološkem laboratoriju na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo, Biotehniške fakultete v Ljubljani v letu 2009.

3.1 FUNGICIDI

V našo raziskavo smo vključili 15 fungicidnih pripravkov (slika 2). V preglednici 1 posredujemo popoln spisek pripravkov z aktivnimi snovmi, odmerki pripravkov in proizvajalci/uvozniki za Slovenijo.

Preglednica 1: Imena, aktivne snovi, hektarski odmerki uporabljenih fungicidnih pripravkov in odmerki uporabljeni v poskusu

Trgovsko ime	Aktivna snov	% a.s.	Odmerek na hektar	Odmerek v poskusu na liter
Aliette flash	fosetil-Al	80 %	0,7 - 5 kg	5 g
Bellis	boskalit	25,2 %	0,8 kg	0,8 g
Clarinet	flukvinkonazol pirimetanil	5 % 15 %	1 - 1,5 L	1,5 mL
Cuprablau-Z	baker iz kompleksa bakrovega hidroksida in kalcijevega klorida	35 %	3 - 4 kg	4 g
Dithane M-45	mankozeb	80 %	2 kg	2 g
Falcon EC-460	tebukonazol spiroksamin triadimenol	16,7 % 25 % 4,3 %	0,3 - 0,6 L	0,4 mL
Folpan 80 WDG	folpet	80 %	1,25 - 3 L	1,5 mL
Pepelin	žveplo	80 %	3 - 6 kg	6 g
Polyram DF	metiram	70 %	1,2 - 2,4 kg	1,2 g
Previcur 607 SL	propamokarb	60,7 %	1,5 - 3 L	2,5 mL
Ridomil Gold Plus 42.5 WP	bakreni oksiklorid metalaksil-M	40 % 2,5 %	3 - 4 kg	4 g
Quadris	azoksistrobin	25 %	0,7 - 1 L	1 mL
Sabithane	dinokap miklobutanil	32,5 % 7,5 %	4 L	4 mL
Tattoo	mankozeb propamokarb	30,2 % 24,8 %	4 L	4 mL
Teldor SC 500	fenheksamid	50 %	0,5 - 5 L	2 mL

3.2 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

V poskus smo vključili štiri rase EO. Komercialni pripravek Entonem (a.s. *Steinernema feltiae* [Filipjev]) smo naročili pri podjetju Koppert B.V. (Berkel en Rodenrijs, Nizozemska). Tri preostale rase EO so bile izolirane iz tal; rasi *Steinernema feltiae* C76 (Laznik in sod., 2009a) in *Steinernema carpocapsae* C67 (Laznik in sod., 2008) sta bili izolirani v Sloveniji, medtem ko je bila rasa *Heterorhabditis downesi* 3173 izolirana na Madžarskem (Toth, 2006). Rasi C67 in 3173 sta bili v tem poskusu testirani prvič, medtem ko se je rasa C76 v predhodnem laboratorijskem poskusu pokazala za zelo učinkovito pri zatiranju tretje razvojne stopnje ličinke poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) (Laznik in sod., 2009b). Vse rase EO so bile vzgojene "in vivo", pri kateri se za množitev EO (oz. njihovih IL) uporablja žive ličinke voščene vešče *Galleria mellonella* L. (Bedding in Akhurst, 1975). V poskusu smo uporabili samo IL, ki so bile mlajše od 2 tednov. Shranili smo jih pri temperaturi 4 °C, njihova gostota je bila 3000 IL/ml (Laznik in sod., 2010a). Pred začetkom naše raziskave, smo preverili vitalnost EO in uporabili smo le rase z živostjo >95 % (De Nardo in Grewal, 2003).

3.3 PREIZKUS SKLADNOSTI

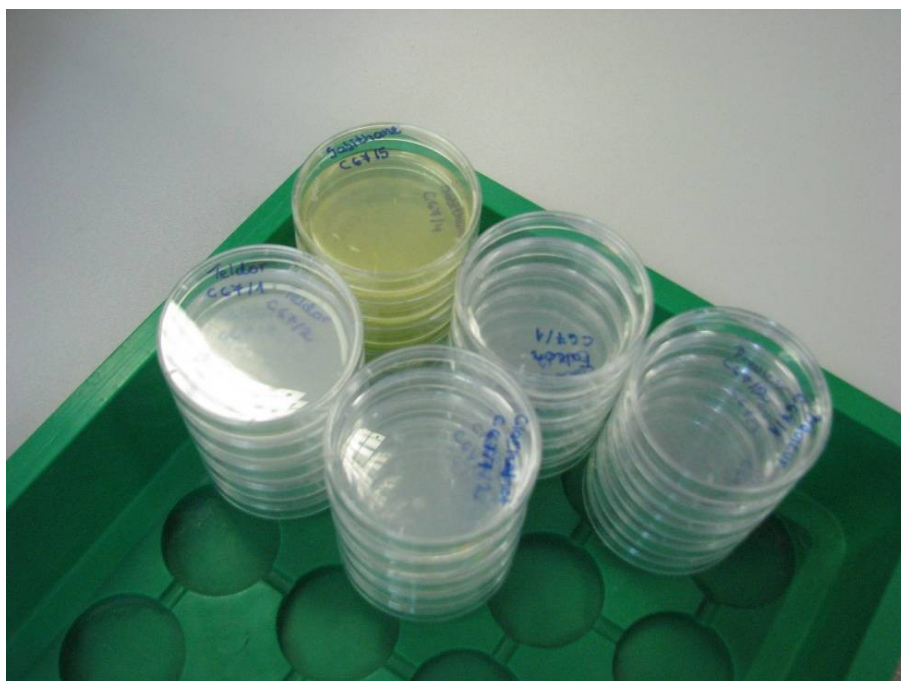
Vse fungicidne pripravke smo preizkušali pri priporočenih koncentracijah (Fito-info, 2011). Fungicidne brozge so bile pripravljene z vodo, in sicer 30 mililitrom izbrane fungicidne brozge smo dodali 6 ml IL, suspenzije s koncentracijo 3000 IL mL⁻¹ (slika 3). 5 ml dobljene fungicidne brozge smo dali v plastično petrijevko (40 x 10 mm) (slika 4). V vsaki plastični petrijevki je bilo približno 2500 IL. Vsako obravnavanje smo 5-krat ponovili, celoten poskus je bil ponovljen trikrat (slika 5). Za kontrolno obravnavanje smo uporabili vodo. Petrijevke smo postavili v gojitveno komoro (tip RK-900 CH, proizvajalec: Kambič laboratorijska oprema, Semič) brez svetlobe pri temperaturah 15, 20 in 25 °C in 70 % relativni zračni vlagi. Preživetveno sposobnost IL, inkubiranih v različnih snoveh s fungicidnim delovanjem, smo ocenili po 24 urah po nastanitvi poskusa, tako da smo iz vsake mešanice s pipeto odvzeli 3 x 50 µl vzorca. V vsakem vzorcu smo prešteli najmanj 100 IL (sliki 6 in 7).

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Pred statistično analizo smo vse podatki o smrtnosti IL v mešanih suspenzijah korigirali glede na smrtnost IL v kontroli (Abbott, 1925). Podatke o smrtnosti smo analizirali z enosmerno analizo variance (ANOVA); uporabili smo statistični program Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.), pri čemer so bili različni fungicidi neodvisne spremenljivke. Povprečne vrednosti korigirane smrtnosti IL smo med obravnavanji primerjali s Tukeyevim preizkusom mnogoterih primerjav pri P=0,05.



Slika 3: Fungicidnim brozgam smo dodali pripravljeno suspenzijo EO (foto: Ž. Laznik)



Slika 4: Plastične petrijevke z odpipetiranimi suspenzijami pred postavitvijo v gojitveno komoro, kjer so bile zagotovljene vnaprej določene razmere (foto: Ž. Laznik)



Slika 5: Nanašanje suspenzije preučevanih fungicidov in entomopatogenih ogorčic na steklene petrijevke pred ugotavljanjem njihove vitalnosti (foto: Ž. Laznik)



Slika 6: Ugotavljanje vitalnosti ogorčic po 24-urni inkubaciji (foto: Ž. Laznik)

4 REZULTATI

4.1 SKUPINSKA ANALIZA

Skupinska analiza rezultatov je pokazala, da so na smrtnost IL statistično značilno vplivali: obravnavanje, rasa EO, temperatura, interakcija med raso EO in obravnavanjem, interakcija med raso EO in temperaturo, interakcija med obravnavanjem in temperaturo in interakcija med raso EO, temperaturo in obravnavanjem. Statistično neznačilen vpliv na smrtnost IL je imela ponovitev v prostoru (preglednica 2).

Preglednica 2: Rezultati ANOVA za korigirano smrtnost IL

Vir	Infektivne ličinke		
	F	df	P
Obravnavanje (fungicidi)	153,23	15	<0,0001*
Rasa EO	251,33	3	<0,0001*
Temperatura	70,27	2	<0,0001*
Ponovitev v prostoru	0,28	2	0,7590
Rasa EO × obravnavanje	13,48	45	<0,0001*
Rasa EO × temperatura	122,40	6	<0,0001*
obravnavanje × temperatura	10,39	30	<0,0001*
Rasa EO × temperatura × obravnavanje	7,11	90	<0,0001*

* statistično značilne razlike pri $\alpha=0,05$

4.2 INDIVIDUALNA ANALIZA

4.2.1 *Steinernema feltiae* (Filipjev)

Med preučevanimi fungicidi sta statistično značilno najvišjo stopnjo smrtnosti IL pri rasi C76 in sredstvu Entonem povzročila sredstvi Dithane M-45 (a.s. mankozeb) (od -89,4 % do -100 %) in Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol) (-100 %). Pri 15 °C smo pri rasi C76 zabeležili statistično značilne razlike v smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo pri vseh preučevanih fungicidih razen pri fungicidu Quadris (a.s. azoksistrobin) (-13,9 %), kjer po 24 urah ni bilo statistično signifikantnih razlik v primerjavi s kontrolo (preglednica 3). Pri 20 in 25 °C smo pri rasi C76 zabeležili statistično značilne razlike v smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo le pri sredstvih Dithane M-45 (a.s. mankozeb), Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol), Ridomil Gold Plus 42,5 WP (a.s. bakreni oksiklorid in metalaksil-M), Aliette flash (a.s. fosetil-Al), Clarinet (a.s. pirimetanil in flukvinkonazol) in Sabithane (a.s. dinokap in miklobutanil) (preglednica 3). Pri rasi C76 fungicid Quadris (a.s. azoksistrobin) (-13,9 %; +5,6 %; +26,9 %) po 24 urah ni imel statistično signifikantnega vpliva na smrtnost IL pri vseh preučevanih temperaturah (preglednica 3). Do podobnih ugotovitev smo pri sredstvu Entonem prišli pri dveh fungicidih, in sicer Clarinet (a.s. pirimetanil in flukvinkonazol) (-28,1 %; -18,8 %; -27,8 %) in Tattoo (a.s. mankozeb) (-14,5 %; -6,3 %; +0,4 %), ki se po 24 urah nista signifikantno razlikovala od kontrole.

Preglednica 3: Odstotek spremembe smrtnosti IL *Steinernema feltiae* rasa C76 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam

	% spremembe smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam		
	24h		
	15 °C	20 °C	25 °C
Aliette flash	- 59,9 b*	- 20,8 ab	- 37,8 bc
Bellis	- 58,6 b	+ 1,4 a	+ 1,5 ab
Clarinet	- 68,2 b	+ 2,8 a	- 38,4 bc
Cuprablau-Z	- 65,1 b	- 8,4 a	- 2,1 ab
Dithane M-45	- 98,2 cd	- 98,6 c	- 92,8 de
Falcon EC-460	- 100,0 d	- 100,0 c	- 100,0 e
Folpan 80 WDG	- 61,4 b	- 32,0 ab	- 41,0 bc
Pepelin	- 60,8 b	- 8,4 a	- 24,4 b
Polyram DF	- 65,7 b	- 17,4 ab	- 28,8 b
Previcur 607 SL	- 72,8 bcd	- 7,6 a	- 7,3 ab
Ridomil Gold Plus 42.5 WP	- 77,2 bcd	- 68,0 bc	- 87,6 cde
Quadris	- 13,9 a	+ 5,6 a	+ 26,9 a
Sabithane	- 70,7 bc	- 37,5 ab	- 47,2 bcd
Tattoo	- 52,2 b	+ 13,9 a	- 25,9 b
Teldor SC 500	- 59,3 b	- 2,8 a	- 13,5 ab
kontrola	100,0 a (2159 IL)	100,0 a (960 IL)	100,0 ab (1286 IL)

* statistično značilne razlike pri $\alpha=0,05$, Tukeyev preizkus mnogoterih primerjav

Preglednica 4: Odstotek spremembe smrtnosti IL v pripravku Entonem (a.s. *S. feltiae*) v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam

	% spremembe smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam		
	24h		
	15 °C	20 °C	25 °C
Aliette flash	- 46,3 cd*	- 35,5 cd	- 11,5 a
Bellis	- 33,7 bc	- 39,4 cde	+ 1,2 a
Clarinet	- 28,1 abc	- 18,8 abc	- 27,8 a
Cuprablau-Z	- 38,8 bcd	- 53,3 def	- 12,7 a
Dithane M-45	- 100,0 e	- 98,6 h	- 99,6 b
Falcon EC-460	- 100,0 e	- 100,0 h	- 100,0 b
Folpan 80 WDG	- 43,2 cd	- 45,6 de	- 9,1 a
Pepelin	- 25,4 abc	- 64,5 efg	- 4,8 a
Polyram DF	- 39,7 bcd	- 58,5 defg	- 13,5 a
Previcur 607 SL	- 41,5 bcd	- 18,5 abc	+ 0,0 a
Ridomil Gold Plus 42.5 WP	- 66,9 d	- 79,1 fgh	- 98,0 b
Quadris	- 22,3 abc	- 32,7 bcd	- 14,7 a
Sabithane	- 34,3 bc	- 82,6 gh	- 9,1 a
Tattoo	- 14,5 ab	- 6,3 ab	+ 0,4 a
Teldor SC 500	- 27,5 abc	- 38,0 cde	- 23,8 a
kontrola	100,0 a (3226 IL)	100,0 a (1913 IL)	100,0 a (1679 IL)

* statistično značilne razlike pri $\alpha=0,05$, Tukeyev preizkus mnogoterih primerjav

4.2.2 *Steinernema carpocapsae* (Weiser)

Med preučevanimi fungicidi je statistično značilno najvišjo stopnjo smrtnosti IL pri rasi C67 povzročilo sredstvo Falcon (a.s. spiroksamin in tebukonazol) (-100 %). Pri 20 °C smo po 24 zabeležili statistično značilno razliko v smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo le pri sredstvu Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol) (-100 %). Pri 15 in 20 °C po 24 urah statistično značilnih razlik v smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo nismo zabeležili pri sredstvih Clarinet (a.s. pirimetanil in flukvinkonazol) (-27,8 %; -30,4 %), Previcur 607 (a.s. propamokarb) (-20,8 %; +29,2 %), Quadris (a.s. azoksistrobin) (-23,2 %; +10,8 %) in Tattoo (a.s. mankozeb) (+2,13 %; + 34,3 %). Pri 25 °C se po 24 urah ocenjevanja statistično značilno od kontrole nista razlikovala le priprava Pepelin (a.s. žveplo) (-17,0 %; -26,1 %; -34,3 %) in Polyram DF (a.s. metiram) (+13,9 %; +1.0 %; +18.6 %) (preglednica 5).

Preglednica 5: Odstotek spremembe smrtnosti IL *S. carpocapsae* rasa C 67 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam

	% spremembe smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam		
	24h		
	15 °C	20 °C	25 °C
Aliette flash	- 63,0 def*	- 22,3 bcd	+ 7,9 ab
Bellis	- 38,5 bcd	- 22,9 bcd	- 48,7 cdef
Clarinet	- 27,8 ab	+ 63,3 a	- 58,9 ef
Cuprablau-Z	- 37,6 bcd	- 21,0 bcd	- 14,7 abc
Dithane M-45	- 89,6 fg	- 65,4 de	- 41,9 cdef
Falcon EC-460	- 100,0 g	- 100,0 e	- 100,0 g
Folpan 80 WDG	- 35,2 bcd	+ 2,5 abcd	- 24,5 bcde
Pepelin	- 46,2 bcde	- 33,4 bcd	- 17,0 abcd
Polyram DF	- 53,2 cde	+ 17,6 ab	+ 13,9 a
Previcur 607 SL	- 20,8 ab	+ 32,0 ab	- 47,6 cdef
Ridomil Gold Plus 42.5 WP	- 74,3 efg	- 50,3 cde	- 50,2 cdef
Quadris	- 23,2 ab	- 24,9 bcd	- 50,2 cdef
Sabithane	- 49,6 bcde	- 66,0 de	- 75,1 fg
Tattoo	+ 2,13 a	- 0,7 abcd	- 43,1 cdef
Teldor SC 500	- 41,9 bcd	+ 8,4 abc	- 52,8 def
kontrola	100,0 a (2180 IL)	100,0 abcd (1020 IL)	100,0 ab (1766 IL)

* statistično značilne razlike pri $\alpha=0.05$, Tukeyev preizkus mnogoterih primerjav

4.2.3 *Heterorhabditis downesi* Griffin & Burnell

Med preučevanimi fungicidi je statistično značilno najvišjo stopnjo smrtnosti IL pri rasi 3173 povzročilo sredstvo Falcon EC-460 (a.s. spioksamin in tebukonazol) (-100 %). Po 24 urah med preučevanimi fungicidi, razen pripravka Falcon EC-460 (a.s. spioksamin in tebukonazol) (-100 %), in kontrolo pri 15 °C ni bilo statistično značilnih razlik, medtem ko se je pri 20 °C poleg Falcona EC-460 (a.s. spioksamin in tebukonazol) (-100 %) statistično značilno od kontrole razlikoval tudi fungicid Dithane M-45 (a.s. mankozeb) (-52,8 %) (preglednica 6). Pri 25 °C smo že po 24 urah ugotovili statistično značilne razlike med vsemi preučevanimi fungicidi in kontrolo. Izmed preučevanih pripravkov se pri 15 °C po 24 urah obravnavanja od kontrole niso razlikovali le Falcon (a.s. spioksamin in tebukonazol), Dithane M-45 (a.s. mankozeb) (-84,9 %) in Ridomil Gold Plus 42,5 WP (a.s. bakreni oksiklorid in metalaksil-M) (-65,6 %) (preglednica 6), medtem ko je bila statistično značilna najvišja stopnja smrtnosti IL zabeležena pri 25 °C.

Preglednica 6: Odstotek spremembe smrtnosti IL *Heterorhabditis downesi* rasa 3173 v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam

	% spremembe smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo po 24 urah in izpostavitvi različnim temperaturam		
	24h		
	15 °C	20 °C	25 °C
Aliette flash	+ 22,9 a	- 38,2 de	- 59,3 bcde
Bellis	+ 17,2 a	- 24,5 cde	- 49,2 bcde
Clarinet	+ 9,0 a	- 34,0 de	- 51,4 bcde
Cuprablau-Z	+ 9,0 a	+ 3,8 abcd	- 69,6 cdef
Dithane M-45	- 64,7 bc	- 52,8 e	- 72,7 def
Falcon EC-460	- 100,0 c*	- 100,0 f	- 100,0 f
Folpan 80 WDG	- 7,4 ab	+ 14,1 abc	- 60,5 bcde
Pepelin	+ 0,8 ab	- 16,1 bcde	- 68,4 cde
Polyram DF	+ 4,1 a	- 13,2 bcde	- 64,3 bcde
Previcur 607 SL	+ 22,9 a	- 20,3 bcde	- 44,8 bcde
Ridomil Gold Plus 42.5 WP	- 22,9 a	- 33,5 de	- 67,0 cde
Quadris	+ 25,4 a	- 17,9 bcde	- 42,7 bcd
Sabithane	+ 22,2 a	+ 45,3 a	- 75,2 ef
Tattoo	+ 26,2 a	- 4,7 bcd	- 41,4 bc
Teldor SC 500	- 16,4 ab	+ 25,0 ab	- 34,2 b
kontrola	100,0 ab (813 IL)	100,0 abcd (1572 IL)	100,0 a (2126 IL)

* statistično značilne razlike pri $\alpha=0.05$, Tukeyev preizkus mnogoterih primerjav

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Rezultati naše raziskave so pokazali, da sta na smrtnost EO vrst *S. feltiae* (tako domače rase C76 kot tudi komercialnega pripravka Entonem), *S. carpocapsae* rasa C67 in rasa *H. downesi* 3173 v največji meri vplivala pripravka Dithane M-45 (a.s. mankozeb) in Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol), kjer je bila smrtnost IL v primerjavi s kontrolo najvišja. V sorodni raziskavi (Rovesti in sod., 1988) so ugotovili, da a.s. mankozeb nima vpliva na smrtnost IL EO *Heterorhabditis bacteriophora*. Tako naša, kot tudi raziskave drugih raziskovalcev (Rovesti in sod., 1988; Krishnayya in Grewal, 2002; De Nardo in Grewal, 2003; Schroer in sod., 2005), kjer so preučevali kompatibilnost FFS z EO kažejo, da je kompatibilnost vrstno specifična. Da lahko govorimo o intraspecifični kompatibilnosti nakazujeta tudi dve sorodni predhodni raziskavi (Krishnayya in Grewal, 2002; De Nardo in Grewal, 2003), v katerih avtorji poročajo, da a.s. azoksistrobin ne vpliva na smrtnost EO *S. feltiae*, kar nakazuje tudi naša raziskava, kjer pri rasi C76 po 24 urah pri vseh preučevanih temperaturah ni bilo razlik s kontrolo.

Na smrtnost IL v kombinaciji s fungicidi je imela temperatura v našem poskusu pomemben vpliv. Pri višjih temperaturah je bila smrtnost IL višja. Znano je, da so EO pri temperaturi med 20 in 26 °C bolj aktivne (Trdan in sod., 2008; Laznik in sod., 2010), zato predvidevamo, da so IL zaradi svoje aktivnosti zaužile več a.s. kot one pri najnižji temperaturi v poskusu (15 °C), kjer je bila aktivnost in posledično smrtnost IL najmanjša. Izmed preučevanih EO smo nasprotni vzorec ugotovili le pri rasi *H. downesi* 3173, ki je bila izolirana na Madžarskem (Tóth, 2006) in za katero je znano, da je aktivna tudi pri nekoliko nižjih temperaturah (12 °C) (Lola-Luz in sod., 2005) in je bila zaradi tega stopnja smrtnosti njenih IL v kombinaciji s fungicidi pri višjih temperaturah v našem poskusu manjša kot pri nižjih.

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da ima tudi temperatura pomemben vpliv na smrtnost IL v kombinaciji s fungicidom. Pri višjih temperaturah je bila smrtnost IL v našem poskusu višja. Znano je, da je aktivnost EO pri temperaturi med 20 in 26 °C največja (Trdan in sod., 2008; Laznik in sod., 2010), zato predvidevamo, da so IL zaradi svoje aktivnosti zaužile več a.s. kot tiste pri najnižji temperaturi v poskusu (15 °C), kjer je bila aktivnost in posledično smrtnost IL najmanjša. Izmed preučevanih EO smo nasprotni vzorec ugotovili le pri rasi 3173, ki je bila izolirana na Madžarskem (Tóth, 2006) in za katero je znano, da je aktivna tudi pri nekoliko nižjih temperaturah (12 °C) (Lola-Luz in sod., 2005) in je bila zaradi tega stopnja smrtnosti njenih IL v kombinaciji s fungicidi pri višjih temperaturah v našem poskusu manjša kot pri najnižji.

Vpliv fungicidov na gibanje (obnašanje) IL je težko ovrednotiti, kajti prizadete ogorčice (še posebno vrsta *S. carpocapsae*) tudi dokaj neaktivne ohranjajo obliko črke "J", kljub temu, da se lahko hitro odzovejo na mehanične dražljaje (Rovesti in Deseö, 1990). Pomanjkanje natančnosti pri ocenjevanju preživetvene sposobnosti lahko privede do neskladja s podatki o infektivnosti, kajti to lahko negativno vpliva na njihovo obnašanje, tj.

zavira gibanje, razpršitev in privlačnost za gostitelja, zavira pa tudi razmnoževanje in razvoj EO (Hara and Kaya, 1982; Rovesti and Deseö, 1990; Ishibashi and Taki, 1993).

Na podlagi rezultatov naše raziskave ugotavljamo, da je lahko uporaba EO v kombinaciji s fungicidi pomemben sestavni del programa IVR. EO lahko nanašamo z napravami, ki jo lahko uporabljamo tudi za nanos fungicidov, zato nam ponuja stroškovno učinkovito alternativo za zatiranje, glivnih povzročiteljev rastlinskih bolezni in žuželk. S sočasno aplikacijo namreč lahko prihranimo čas in denar pri zatiranju škodljivih organizmov (Georgis, 1990). Za a.s. azoksistrobin, propamokarb in žveplo je znana učinkovitost proti kumarni plesni (*Pseudoperonospora cubensis* [(Berk. & MA Curtis) Rostovzev]) in radičevi pepelovki (*Erysiphe cichoracearum* DC). Nekatere predhodne raziskave so pokazale, da EO, v kolikor so ustrezno nanesene, učinkovito delujejo proti nekaterim škodljivcem kumar, na primer cvetličnemu resarju (*Franklinella occidentalis* Pergande) (Ebessa in sod., 2004; Trdan in sod., 2007) in rastlinjakovemu ščitkarju (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) (Laznik in sod., 2011). Sočasna uporaba fungicidov in EO v primerih, ko z mešano suspenzijo zatiramo omenjene škodljivce, je zato upravičena. Za EO pa se je v raziskavah izkazalo, da so zelo učinkoviti biotični agensi za zatiranje nekaterih škodljivcev, kot so koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* Say), rdeči žitni strgač (*Oulema melanopus* L.), paradižnikov molj (*Tuta absoluta* Povolny) (Laznik in sod., 2010a, Laznik 2010b).

Čeprav je uporaba EO kot način biotičnega varstva za zatiranje različnih škodljivcev v naših razmerah še vedno premalo znana, ima v sosednjih državah že več kot 20-letno tradicijo in se uveljavlja zlasti pri tistih škodljivih žuželkah, ki so razvile odpornost na kemična sredstva, v ekološki pridelavi ter povsod, kjer je uporaba FFS okoljsko nesprejemljiva ali nezaželena (Laznik, 2011).

Ker je uporaba EO v Sloveniji po njihovi uspešni implementaciji v pridelavo živeža dovoljena, je moč pričakovati povečano uporabo omenjenih biotičnih agensov v programih IRV. Zavedati pa se seveda moramo, da učinkovitost dosežena v laboratorijskih raziskavah, ni neposredno primerljiva s tisto na prostem (Laznik, 2010a, Laznik, 2010b).

6 POVZETEK

Pridelovalci živeža za varstvo rastlin pred različnimi škodljivimi organizmi uporabljajo različna kemijska sredstva. Pretiravanje z njihovo rabo lahko privede do pojava odpornosti (rezistence). Uporabniki fungicidov so velikokrat mnenja, da je vzrok neučinkovitosti pripravkov posledica v njihovi premajhni koncentraciji. Zato povečajo odmere, posledice pa se nemalokrat kažejo v fitotoksičnosti. Prav zato iščejo raziskovalci širom sveta nove pristope v varstvu rastlin pred škodljivimi organizmi. Med njimi je tudi biotično varstvo rastlin z EO (Milevoj, 2002).

EO imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin, saj nimajo negativnih vplivov na okolje, lahko jih uporabljamo na vodovarstvenih omočjih, imajo veliko gostiteljev med rastlinskimi škodljivci, se enostavno razmnožujejo, so komercialno dostopne v tujini, niso fitotoksične in lahko gostitelja oslabijo ali ubijejo že v 48 urah po infekciji. V nekaterih primerih se lahko EO uporabljajo skupaj s FFS, ne da bi bila zmanjšana njihova učinkovitost. EO se lahko na rastline nanšajo s škropilnicami, ki so namenjene za FFS ali opremo za gnojenje (Gaugler, 2002).

V naši raziskavi smo ugotavljali, kako lahko neposredno izpostavljanje IL EO *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae* in *Heterorhabditis downesi* različnim fungicidnim pripravkom deluje na njihovo sposobnost preživetja pri različnih temperaturah v laboratorijskih razmerah. Njihovo združljivost s fungicidi smo ocenjevali 24 urah po nastavitvi poskusa. Preživetje ogorčic smo ugotavljali pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in pri stalni 70 % relativni zračni vlagi.

Vse fungicidne pripravke smo preizkušali pri priporočenih koncentracijah (Fito-info, 2011). Fungicidne brozge so bile pripravljene z vodo, in sicer 30 mililitrom izbranega fungicida smo dodali 6 ml IL, suspenzije s koncentracijo 3000 IL mL⁻¹ (Laznik in sod 2010). 5 ml dobljene fungicidne brozge smo dali v plastično petrijevko (40 x 10 mm). V vsaki plastični petrijevki je bilo približno 2500 IL. Vsako obravnavanje smo 5-krat ponovili, celoten poskus je bil ponovljen trikrat. Za kontrolno obravnavanje smo uporabili vodo.

Podatke o smrtnosti smo analizirali z enosmerno analizo variance (ANOVA); uporabili smo statistični program Statgraphics Plus for Windows 4.0 (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc.), pri čemer so bili različni fungicidi neodvisne spremenljivke. Povprečne vrednosti korigirane smrtnosti IL smo med obravnavanji primerjali s Tukeyevim preizkusom mnogoterih primerjav pri P= 0,05.

V našem poskusu smo ugotovili kompatibilnost EO *Steinernema feltiae* le s pripravkom Quadris (a.s. azoksistrobin), medtem ko smo do podobnih ugotovitev pri rasi *Steinernema carpocapsae* C67 prišli pri vseh fungicidih, razen pri pripravkih Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol), Dithane M-45 (a.s. mankozeb), Sabithane (a.s. dinokap) in Ridomil Gold Plus 42,5 WP (a.s. bakreni oksiklorid in metalaksil-M). Pri rasi

Heterorhabditis downesi 3173 je bila potrjena statistično značilna razlika v smrtnosti IL v primerjavi s kontrolo le pri pripravku Falcon EC-460 (a.s. spiroksamin in tebukonazol).

Glede na dobljene podatke lahko potrdimo dejstvo, da ima tudi temperatura pomemben vpliv na smrtnost IL v kombinaciji s fungicidom. Pri višjih temperaturah je bila smrtnost IL v našem poskusu višja, saj je aktivnost EO pri temperaturi med 20 in 26 °C največja (Trdan in sod., 2008; Laznik in sod., 2010) in posledično takrat EO zaužijejo več a.s.. nasprotno je bilo ugotovljeno le pri rasi 3173, za katero je znano, da je bolj aktivna pri nižjih temperaturah.

7 VIRI

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267
- Bedding, R.A., Akhurst, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110
- De Nardo, E.A.B., Grewal, P.S. 2003. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with pesticides and plant growth regulators used in glasshouse plant production. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 441-448
- Ebssa L., Borgemeister C., Poehling H.M. 2004. Effectiveness of different species/strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) at various concentrations, host densities, and temperatures. *Biological Control*, 29: 145-154
- Fito-Info: Slovenski informacijski system za zdravstveno varstvo rastlin. 2011. <http://www.fito.info.si> (15.2.2011)
- Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Paravarapu S. (ur). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14
- Gaugler R. 2002. Entomopathogenic nematology. New Jersey, USA, CABI Publishing: 373 str.
- Gaugler R., Campbell, J.F. 1991. Behavioural response of the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* to oxamyl. *Annals of Applied Biology*, 119: 131-138
- Georgis R. 1990. Formulation and application technology. V: Gaugler, R., Kaya, H.K. (Eds.), Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, FL: 173-194
- Gordon R., Chippett, J., Tilley, J. 1996. Effects of 2 carbamates on infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* All strain and *Steinernema feltiae* Umea strain. *Journal of Nematology*, 28: 310-317
- Grewal P.S. 2002. Formulation and application technology, V: Entomopathogenic Nematology. Gaugler R. (Ed.). Wallingford, CAB International: 311-332

- Hara A.H., Kaya H.K. 1982. Effect of selected insecticides on the in vitro development of the entomogenous nematodes *Neoplectana carpocapsae*. Journal of Nematology, 14: 486-491
- Head J., Walters K.F.A., Langton S. 2000. The compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, and chemical insecticides for the control of the South American leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. Biocontrol 45: 345-353
- Hominick W.M. 2002. Biogeography. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R (ur.) Wallingford, CABI Publishing: 115-143.
- Ishibashi N., Takii S. 1993. Effects of insecticides on movement, nictation, and infectivity of *Steinernema carpocapsae*. Journal of Nematology, 25: 204-213
- Journey A.M., Ostlie K.R. 2000 Biological control of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) using the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*. Biological Control, 29: 822-831
- Kaya H. K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hoddle M.S. (ur.). Riverside: 38-46
- Kaya K.H., Koppenhöfer A.M. 1999. Biology and ecology of insectidal nematodes. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ur.). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 1-8
- Koppenhöfer A.M., Cowles R.S., Cowles E.A., Fuzy E.M., Baumgartner L. 2002. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. Biological Control, 24: 90-97
- Koppenhöfer A.M. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kaya H.K. (ur.). The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 283-301
- Koppenhöfer A.M., Kaya H.K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. Microbial-biopesticides, 15: 277-305
- Krishnayya P.V., Grewal, P.S. 2002. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. Biocontrol Science Technology, 12: 259-266
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2008. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. Acta agriculturae Slovenica, 91: 351-359

- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009a. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. *Helminthologia* 46: 135-138
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan, S. 2009b. Efficacy of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) against third-stage larvae of common cockchafer (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae) under laboratory conditions. *Acta agriculturae Slovenica*, 93: 293-299
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2010a. The activity of three new strains of *Steinernema feltiae* against adults of *Sitophilus oryzae* under laboratory conditions. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8: 132-136
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2010b. *Oulema melanopus* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) adults are susceptible to entomopathogenic nematodes (Rhabditida) attack: results from a laboratory study. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 117: 30-32
- Laznik Ž., Žnidarčič D., Trdan S. 2011. Control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) adults on glasshouse-grown cucumbers in four different growth substrates: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiamethoxam. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35 (v tisku)
- Lola-Luz T., Downes M., Dunne R. 2005. Control of black vine weevil larvae *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) in grow bags outdoors with nematodes. *Agricultural and Forest Entomology*, 7: 121-126
- Milevoj L. 2002. Biotično varstvo solatnic. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 6: 282-283
- Nguyen K.B., Maruniak J., Adams B.J. 2001. The Diagnostic and Phylogenetic Utility of the rDNA Internal Transcribed Spacer Sequences of *Steinernema*. *J. Nematol.* 33: 73-82
- Peters A. 1996a. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 389-402
- Poinar G.O. 1988. Redescription of *Neoaplectana affinis* Bovien (Rhabditida: Steinernematidae). *Rev. Nematol.* 11: 143-147
- Rovesti L., Heinzpeter E.W., Tagliente E., Deseo K.V. 1988. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica*, 34: 462-476

- Rovesti L., Deseo K.K. 1990. Compatibility of chemical pesticides with entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, 36: 237-245
- Schroeder, W.J., Sieburth, P.J. 1997. Impact of surfactants on control of the root weevil *Diaprepes abbreviatus* larvae wit *Steinernema riobraviss*. *Journal of Nematology*, 29: 216-219
- Schroer, S., Ziermann, D., Ehlers, R.-U. 2005. Mode of action of a surfactant-polymer formulation to support performance of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). *Biocontrol Science and Technology*, 15:601-613
- Smart G. C. Jr. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Journal of Nematology*, 27: 529-534
- Smith K. 1999. Factors affecting efficacy. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ur.). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 37-46
- Sturhan D. 1996. Seasonal occurrence, horizontal and vertical dispersal of entomopathogenic nematodes in a field. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land. Forstwirtschaft*. 317: 35-45
- Tóth T. 2006. Collection of entomopathogenic nematodes for the biological control of insect pests. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14: 225-230
- Trdan S., Žnidarčič D., Vidrih M. 2007. Control of *Frankliniella occidentalis* on glasshouse-grown cucumbers: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* and spraying with abamectin. *Russ.J.Nematol.* 15 (1): 25-34
- Trdan S., Vidrih M., Valič N., Laznik Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. *Acta Agricultural Scandinanica, B Soil and Plant Science*, 58: 169-175
- Zhang L., Shono T., Yamanaka S., Tanabe H. 1994. Effects of insecticides on the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. *Applied Entomology and Zoology*, 29: 539-547

ZAHVALA

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

Posebno zahvalo pa namenjam asist. dr. Žigi Lazniku za usmerjanje pri pisanju diplomske naloge, njegovo potrpežljivost in ves čas, ki si ga je vzel zame.

Hvala vsem uslužbencem Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo za uporabo laboratorijskih instrumentov in za pomoč pri izvajanju poskusa.