

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Melita ŠTRUKELJ

**LABORATORIJSKO PREUČEVANJE
UČIKOVITOSTI SLOVENSКИH RAS
ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) ZA
ZATIRANJE RDEČEGA ŽITNEGA STRGAČA (*Oulema
melanopus* [L.], Coleoptera, Chrysomelidae)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Melita ŠTRUKELJ

**LABORATORIJSKO PREUČEVANJE UČIKOVITOSTI SLOVENSКИH
RAS ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) ZA ZATIRANJE
RDEČEGA ŽITNEGA STRGAČA (*Oulema melanopus* [L.], Coleoptera,
Chrysomelidae)**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**RESEARCH ON EFFICACY OF SLOVENIAN STRAINS OF
ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Rhabditida) AGAINST
ADULTS OF THE CEREAL LEAF BEETLE (*Oulema melanopus* [L.],
Coleoptera, Chrysomelidae) UNDER LABORATORY CONDITIONS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

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. Odrasle osebkke rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus*) smo nabrali na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani.

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

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Katja VADNAL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

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

Član: doc. dr. Ludvik ROZMAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Melita Štrukelj

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 632.937.1.01: 632.76 (043.2)
KG	laboratorijske raziskave/entomopatogene ogorčice/ <i>Steinernema feltiae</i> / <i>Steinernema carpocapsae</i> / <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> /zatiranje/rdeči žitni strgač/ <i>Oulema melanopus</i> /učinkovitost/biotično varstvo
KK	AGRIS H01/H10
AV	ŠTRUKELJ, Melita
SA	TRDAN, Stanislav (mentor)
KZ	SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2009
IN	LABORATORIJSKO PREUČEVANJE UČIKOVITOSTI SLOVENSКИH RAS ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (Rhabditida) ZA ZATIRANJE RDEČEGA ŽITNEGA STRGAČA (<i>Oulema melanopus</i> [L.], Coleoptera, Chrysomelidae)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	X, 38 str., 3 pregl., 9 sl., 89 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V laboratorijskem poskusu smo preizkušali učinkovitost treh slovenskih ras entomopatogenih ogorčic (EPO) (<i>Steinernema feltiae</i> , <i>S. carpocapsae</i> , <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>) in komercialnega pripravka Entonem (aktivna snov <i>S. feltiae</i>) za zatiranje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (<i>Oulema melanopus</i>). Aktivnost omenjenih biotičnih agensov smo preizkušali pri štirih različnih koncentracijah (250, 500, 1000 in 2000 infektivnih ličink/osebke) in treh temperaturah (15, 20 in 25 °C). Smrtnost hroščev smo preverjali 2., 4. in 6. dan po aplikaciji ogorčic. Rasa <i>S. carpocapsae</i> C101 je bila najbolj učinkovita, saj je že drugi dan vplivala na 100 % smrtnost hroščev. V našem poskusu je imela temperatura največji vpliv na delovanje EPO; obe rasi vrste <i>S. feltiae</i> sta imeli boljše delovanje pri nižji temperaturi, rasa <i>H. bacteriophora</i> D54 pa se je izkazala za najučinkovitejšo pri najvišji temperaturi. Rasi vrst <i>S. feltiae</i> in <i>S. carpocapsae</i> sta bili učinkoviti pri najnižji koncentraciji suspenzije ogorčic, kar predstavlja prednost s stališča gospodarnosti zatiranja rdečega žitnega strgača v prihodnje. Vrednosti letalne koncentracije (LC) LC ₅₀ in LC ₉₀ najučinkovitejše rase C101 so bile drugi dan po tretiranju pri 15 °C 561 in 1398 infektivnih ličink/osebke.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 632.937.1.01: 632.76 (043.2)
CX laboratory research/entomopathogenic nematodes/*Steinernema feltiae*/*Steinernema carpocapsae*/*Heterorhabditis bacteriophora*/control/cereal leaf beetle/ *Oulema melanopus*/efficacy/biological control
CC AGRIS H01/H10
AU ŠTRUKELJ, Melita
AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
PP SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2009
PI RESEARCH ON EFFICACY OF SLOVENIAN STRAINS OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Rhabditida) AGAINST ADULTS OF CEREAL LEAF BEETLE (*Oulema melanopus* [L.], Coleoptera, Chrysomelidae) UNDER LABORATORY CONDITIONS
DT Graduation Thesis (University studies)
NO X, 38 p., 3 tab., 9 fig., 89 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Three Slovenian strains of entomopathogenic nematodes (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora*) were tested in a laboratory bioassay with the aim of studying their activity in controlling adults of the cereal leaf beetle (CLB), *Oulema melanopus* (Coleoptera: Chrysomelidae). Activity of the biological agents studied was determined at four different concentrations (250, 500, 1000, and 2000 infective juveniles/adult) and at three temperatures (15, 20, and 25 °C). Mortality of the CLB was determined 2, 4, and 6 days after treatment. *Steinernema carpocapsae* strain C101 was the most effective, second day it caused 100 % mortality of CLB adults. The temperature in our bioassay had the biggest influence on the efficacy of the entomopathogenic nematode strains; both *S. feltiae* treatments proved to work better at lowest temperature, however strain *H. bacteriophora* D54 performed its best at highest observed temperature in the experiment. Species *S. feltiae* and *S. carpocapsae* have been efficient at lower concentrations of suspension, which enable their economical usage against CLB in integrated agriculture practice in future. LC₅₀ and LC₉₀ values (two days after treatment) of the most successful strain C101 at 15 °C were 561 and 1398 infective juveniles/adult.

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	2
1.3 DELOVNA HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ENTOMOPATOGENE OGORČICE V SVETU IN PRI NAS	3
2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	4
2.2.1 Deblo Nemata	4
2.2.1.1 <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	5
2.2.1.2 <i>Steinernema carpocapsae</i>	5
2.2.1.3 <i>Steinernema feltiae</i>	6
2.2.2 Razlike med rodovoma <i>Heterorhabditis</i> in <i>Steinernema</i>	6
2.3 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	7
2.4 ODNOSI MED ENTOMOPATOGENIMI OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI IZ REDA Coleoptera	9
2.4.1 Učinkovitost delovanja entomopatogenih ogorčic na predstavnike hroščev iz družine Chrysomelidae	10
2.5 DEJAVNIKI PREŽIVETJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	10
2.5.1 Abiotski dejavniki	11
2.5.2 Biotski dejavniki	12
2.6 SIMBIONTSKE BAKTERIJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	13
2.6.1 Rod <i>Xenorhabdus</i>	13
2.6.2 Rod <i>Photorhabdus</i>	13
2.6.3 Razlike in podobnosti med rodovoma <i>Photorhabdus</i> in <i>Xenorhabdus</i>	14
2.6.4 Odnosi med entomopatogenimi ogorčicami in simbiotskimi bakterijami	14
2.7 RDEČI ŽITNI STRGAČ (<i>Oulema melanopus</i> [L.])	15
2.7.1 Razširjenost	16
2.7.2 Opis	16
2.7.3 Razvojni krog	16
2.7.4 Gostiteljske rastline in poškodbe	17
2.7.5 Varstvo	17
3 MATERIAL IN METODE DELA	19

3.1	ENTOMOPATOGENE OGORČICE	19
3.2	RDEČI ŽITNI STRGAČ (<i>Oulema melanopus</i> [L.])	19
3.3	PRIPRAVA KONCENTRACIJ OGORČIC	19
3.4	POTEK RAZISKAVE	20
3.5	STATISTIČNA ANALIZA	20
4	REZULTATI	23
4.1	SINTETIČEN PREGLED REZULTATOV	23
4.1.1	Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na temperaturo	24
4.1.2	Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na koncentracijo suspenzije entomopatogenih ogorčic	25
4.1.3	Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na dan po tretiranju	26
4.2	ANALITIČEN PREGLED REZULTATOV PO KONČNIH DEJAVNIKI	27
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	30
6	POVZETEK	32
7	VIRI	33
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije (Kaya, 2000)	15
Preglednica 2: Stopnja tveganja za sprejetje alternativne domneve (p-vrednost) za proučevane dejavnike pri zatiranju odraslih osebkov rdečega žitnega strgača	23
Preglednica 3: Izračunane vrednosti LC_{50} in LC_{90} za različne vrste entomopatogenih ogorčic pri treh različnih temperaturah šesti dan po tretiranju	28
Preglednica 4: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača po tretiranju z različnimi rasami in koncentracijami ogorčic pri 15, 20 in 25 °C na 2., 4. in 6. dan po tretiranju. Podatki so korigirani z Abbottovo formulo.	39

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Laznik in Trdan, 2008b)	8
Slika 2: Odrasel osebek rdečega žitnega strgača (<i>Oulema melanopus</i> [L.]) (foto: M. Štrukelj)	18
Slika 3: Lovljenje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača je potekalo s pomočjo metuljnice (foto: J. Rozman)	21
Slika 4: Petrijevka z odraslimi osebki rdečega žitnega strgača in listom pšenice (foto: M. Štrukelj)	21
Slika 5: Nanos entomopatogenih ogorčic v petrijevko z odraslimi osebki rdečega žitnega strgača (foto: M. Mihičinac)	22
Slika 6: Ocenjevanje učinkovitosti EPO je potekalo drugi, četrti in šesti dan po njihovem nanosu (foto: M. Mihičinac)	22
Slika 7: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (<i>Oulema melanopus</i>) pri treh različnih temperaturah in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic	24
Slika 8: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (<i>Oulema melanopus</i>) pri štirih različnih koncentracijah suspenzije ogorčic in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic	25
Slika 9: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (<i>Oulema melanopus</i>) v odvisnosti od časa po tretiranju in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic	26

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

sod.	sodelavci
IL	infektivne ličinke
a.s.	aktivna snov
t.j.	to je
oz.	oziroma
EPO	entomopatogene ogorčice
LC	letalne koncentracije

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Rdeči žitni strgač (*Oulema melanopus* [L.]) predstavlja enega od najpomembnejših škodljivcev žit (pšenice, ječmena, rži, ovs, včasih tudi koruze) in nekaterih drugih vrst trav. Žuželka je bolj ali manj stalni škodljivec. Posledica 10 % zmanjšane listne površine zaradi hranjenja škodljivca se odraža v 9 % manjšem pridelku. Kadar je uničene 25 % listne površine je lahko pridelok manjši celo za 35 % (Vrabl, 1992). To vsekakor kaže na gospodarski pomen škodljivca, kljub temu pa v zadnjih letih pogosto pretiravamo z uporabo insekticidov. Njihovo število se sicer zmanjšuje in po podatkih Fitosanitarne uprave RS so trenutno za zatiranje rdečega žitnega strgača na voljo štirje registrirani pripravki (aktivne snovi beta-ciflutrin, deltametrin, alfa-cipermetrin in lambda-cihalotrin).

Med vse bolj pomembne načine biotičnega zatiranja gospodarsko pomembnih škodljivcev štejejo tudi uporabo entomopatogenih ogorčic, katerih uporaba je že dobro znana (Kaya in Gaugler, 1993; Helyer in sod., 1995). Za biotično varstvo rastlin je značilno, da uporablja žive naravne sovražnike, antagoniste ali kompetitorje oz. njihove produkte in druge organizme, ki se morejo sami razmnoževati, za zmanjšanje škodljivosti fitofagnih žuželk in drugih škodljivih organizmov (Milevoj, 2002).

Entomopatogene ogorčice imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin, saj nimajo negativnih vplivov na okolje, lahko jih uporabljamo na vodovarstvenih območjih, 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 entomopatogene ogorčice uporabljajo skupaj z insekticidi, ne da bi bila zmanjšana učinkovitost ogorčic. Entomopatogene ogorčice se lahko na rastline nanašajo s škropilnicami, ki so namenjene za fitofarmacevtska sredstva ali z opremo za gnojenje.

Uporaba biotičnih pripravkov zahteva več znanja uporabnikov in tudi njihovo večjo okoljsko osveščenost. Pripravki, izdelani na biotični podlagi, so okoljsko ustrežnejši, njihovo delovanje je bolj specifično, pomembna je njihova formulacija in aplikacija ter natančnost rokov tretiranja (Milevoj, 2002). Z ustrezno tehniko nanosa in uporabo sredstva v ustreznem razvojnem stadiju škodljivca lahko tudi z uporabo entomopatogenih ogorčic dosežemo primerljivo učinkovitost kot pri uporabi insekticidov (Schroer in sod., 2005).

Pomembna novost naše raziskave je bila uporaba domačih ras entomopatogenih ogorčic. Slovenija se je namreč po odkritju teh biotičnih agensov v domačih tleh uvrstila med države, kjer je uporaba entomopatogenih ogorčic, kot načina biotičnega varstva, dovoljena tudi na prostem. Zanimalo nas je, ali so avtohtone rase entomopatogenih ogorčic v primerjavi s tujimi komercialnimi pripravki bolj prilagojene na žuželke, ki so razširjene pri nas. V strokovni literaturi smo namreč zasledili, da so avtohtone rase bolj virulentne od tujerodnih ras (Grewal in sod., 2004). Slovenske rase so se doslej že izkazale za učinkovite v poskusih zatiranja koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) (Trdan in sod., 2009) in kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) (Trdan in sod., 2008). Namen naše raziskave je bil v laboratorijskih razmerah preučiti učinkovitost treh avtohtonih ras

entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae* rasa B30, *Steinernema carpocapsae* rasa C101 in *Heterorhabditis bacteriophora* rasa D54) in komercialnega pripravka Entonem (aktivna snov. *S. feltiae*) za zatiranje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača, ki doslej tudi v svetovnem merilu niso bili preučeni na občutljivost na napad entomopatogenih ogorčic.

1.2 CILJI RAZISKAVE

V raziskavi smo želeli preučiti učinkovitost delovanja treh domačih ras entomopatogenih ogorčic in komercialnega pripravka Entonem, vpliv različnih koncentracij suspenzije ogorčic (0 - kontrola, 250, 500, 1000 in 2000 IL/osebke) in vpliv temperature (15, 20 in 25 °C) za zatiranje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus* [L.]).

1.3 DELOVNA HIPOTEZA

Predpostavljamo, da obstajajo med preučevanimi rasami entomopatogenih ogorčic razlike v delovanju na odrasle osebkove rdečega žitnega strgača. Razlike v smrtnosti žuželk pričakujemo tudi med različnimi koncentracijami entomopatogenih ogorčic in med različnimi vrednostmi temperature okolja. Predvidevamo tudi, da med domačo raso entomopatogenih ogorčic B30 (*Steinernema feltiae*) in komercialnim pripravkom Entonem (aktivna snov *S. feltiae*) ni večjih razlik v delovanju na preučevane hrošče.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ENTOMOPATOGENE OGORČICE V SVETU IN PRI NAS

Znano je, da imajo entomopatogene ogorčice, ki jih uvrščamo v družini Steinernematidae in Heterorhabditidae, zelo velik potencial v biotičnem varstvu rastlin (Klein, 1990). Njihovo delovanje na številne škodljive žuželke je že dobro preučeno (Kaya in Gaugler, 1993). Entomopatogene ogorčice so talni organizmi, ki živijo z bakterijami v simbiotsko-mutualističnem odnosu. Njihov pomen v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi organizmi je bil prvič ugotovljen v ZDA v tridesetih letih prejšnjega stoletja (Laznik in Trdan, 2007a).

Izjemno odkritje uporabe entomopatogenih ogorčic v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami je bilo zaradi intenzivne rabe kemičnih sredstev za varstvo rastlin pozabljeno vse do šestdesetih let prejšnjega stoletja. Tedaj so v javnost prišle informacije o strupenosti kloriranih ogljikovodikov (značilen zgled je aktivna snov DDT), ki so jih dotlej množično uporabljali (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Ideja o biotičnem zatiranju škodljivih žuželk z entomopatogenimi ogorčicami je tako ponovno zaživela.

Kar je bilo še pred 30 leti zgolj laboratorijsko delo, je danes že uporabna znanost na poljih. V več kot 60 državah sveta znanstveniki raziskujejo entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije. Na Floridi (ZDA) z omenjenimi ogorčicami vsako leto tretirajo citruse na 25.000 ha. Na različnih območjih ZDA entomopatogene ogorčice uporabljajo tudi za zatiranje škodljivcev brusnic, artičok, gojenih gob, jabolk, breskev, travne ruše in nekaterih drugih gojenih rastlin (Gaugler, 2002).

V Sloveniji so se prvi poskusi z entomopatogenimi ogorčicami začeli leta 2004 na tedanji Katedri za entomologijo in fitopatologijo (danes Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo). Cilj laboratorijskih raziskav je bil preučiti delovanje različnih vrst entomopatogenih ogorčic, pri različnih temperaturah ter koncentracijah suspenzije na koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) (Trdan in sod., 2009), surinamskega mokarja (*Oryzaephilus surinamensis* [L.]) in črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius* [L.]) (Trdan in sod., 2006) ter kapusove bolhače (*Phyllotreta* spp.) (Trdan in sod., 2008). Poskusi so potrdili že prej znana dejstva, da so entomopatogene ogorčice v optimalnih razmerah izredno učinkoviti agensi za zatiranje škodljivih žuželk (Laznik in Trdan, 2007a).

Raziskave entomopatogenih ogorčic v omenjenih raziskavah so bile omejene le na laboratorijsko delo. Ogorčice so namreč imele status t.i. tujerodnih organizmov, saj njihove zastopanosti dotlej še niso potrdili v naravnem okolju, v Sloveniji pa je s Pravilnikom o biotičnem varstvu rastlin (2006) prepovedan vnos tujerodnega organizma v naravno okolje.

Ob koncu leta 2006 so začeli s poskusi, s katerimi so želeli dokazati zastopanost entomopatogenih ogorčic tudi v naših tleh. Poskus so izvajali s t.i. »Galleria baiting method«, ki temelji na vnosu živih ličink voščene večče (*Galleria melonella* [L.]) na vzorec tal (Bedding in Akhurst, 1975), identifikacija ogorčic pa je potekala z uporabo genetsko-molekulske tehnike PCR- RFLP. Prvo najdbo ogorčice iz rodu *Steinernema* so

potrdili v talnem vzorcu s Starega sela pri Kobaridu v začetku leta 2007. Ogorčica je pripadala vrsti *Steinernema affine* (Laznik in Trdan, 2007b). V oktobru 2007 pa so v vzorcu B30 iz okolice Cerknice potrdili tudi zastopanost vrste *Steinernema feltiae* (Laznik in sod., 2009a). Z raziskavami so nadaljevali in tako so aprila 2008 dokazali obstoj vrste *Steinernema kraussei* (Laznik in sod., 2009b) iz vzorca, odvzetega v vasi Podbrezje na Gorenjskem, in obstoj vrste *Steinernema carpocapsae* v vzorcu C101 (Laznik in sod., 2008a). Ta je bil odvzet v vasi Svino na območju Breginjskega kota (skrajni zahod Slovenije na meji z Italijo). Avgust 2008 pa je zaznamovala tudi najdba entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*. V analiziranem vzorcu D54, odvzetem blizu Dravograda, so potrdili zastopanost vrste *Heterorhabditis bacteriophora* (Laznik in sod., 2009c).

Slovenija se je po odkritju teh biotičnih agensov uvrstila med države, kjer je uporaba ogorčic, kot načina biotičnega varstva, dovoljena tudi na prostem (Laznik in sod., 2009a, 2009b, 2009c, 2009d). V Sloveniji imata od leta 2008 vrsti *S. feltiae* in *S. carpocapsae* status domorodnih organizmov (Sklep..., 2008a, 2008b), naslednje leto pa sta ta status pridobili tudi vrsti *S. kraussei* in *H. bacteriophora*.

Po uradni potrditvi vrste *S. feltiae* kot domorodne vrste, so se leta 2008 odločili, da jo uporabijo v prvem poljskem poskusu z entomopatogenimi ogorčicami v Sloveniji. Uporabili so jo v različnih koncentracijah zoper različne razvojne stadije koloradskega hrošča. Raziskava je pokazala, da je rasa B30 učinkovita za zatiranje koloradskega hrošča na prostem, še posebno njegovih larvalnih stadijev (Laznik in sod., 2009c). Po prvem odkritju entomopatogenih ogorčic v Sloveniji pričakujejo, da bo njihova uporaba postala pomembna alternativa insekticidom v zatiranju škodljivcev rastlin (Laznik in sod., 2009a).

2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Po uveljavljeni sistematiki entomopatogene ogorčice uvrščamo v naslednje sistematske kategorije (Kaya, 2000):

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

2.2.1 Deblo Nemata

Izraz »nematoda«, ki je bil poslovenjen v izraz 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 agense, ki za obstoj nujno potrebujejo vlago. Ker so jih do sedaj našli na vseh celinah, razen na Antarktiki, jih uvrščamo med kozmopolite. Ti organizmi so sposobni živeti tudi v najbolj ekstremnih razmerah (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

Ogorčice imajo prebavila, mišice, enostavni izločalni in živčni sistem, kot tudi razmnoževalne organe; nimajo pa čutil za vid in sluh ter dihalnega in cirkulacijskega 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 (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

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 (Gaugler, 2002). Ustni odprtini sledi črevo, ki se končuje s kloako pri samcih oziroma z zadnjično odprtino pri samicah (Gaugler, 2002).

2.2.1.1 *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar)

Odrasla ogorčica je dolga okoli 588 μm in široka 23 μm . Infektivna ličinka (edini stadij, ki je sposoben parazitiranja; IL) meri v dolžino od 512 do 671 μm in v širino od 18 do 31 μm (Gaugler, 2002). Učinkovitost delovanja ogorčic je slabša, če temperatura tal pade pod 20 °C. Ogorčica išče svoje žrtve aktivno (O'Halloran in Burnell, 2002, cit. po Gaugler, 2002). To so zlasti gosenice in ličinke hroščev. Vrsta zelo učinkovito parazitira rilčkarje (Curculionidae) (Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Gre za zelo slabo stabilno vrsto, saj je njena življenjska doba v pripravkih zelo kratka, po nanosu pa ohranja aktivnost le nekaj dni (Gaugler, 1999). Živi v sožitju z bakterijo *Photorhabdus luminescens* (Fischer-Le Saux in sod., 1999).

Ogorčica *H. bacteriophora* je bila prvič opisana leta 1975 (Poinar, 1976, cit. po Gaugler, 2002) in je bila v Evropi do sedaj potrjena v Bolgariji, na Češkem, v Franciji, Nemčiji, na Madžarskem, v Italiji, Moldaviji, na Poljskem, Portugalskem, v Španiji, Švici (Hominick, 2002) in Sloveniji (Laznik in sod., 2009c).

2.2.1.2 *Steinernema carpocapsae* (Weiser)

Odrasla ogorčica meri v dolžino okoli 558 μm in v širino 25 μm , IL pa je dolga med 438 ter 650 μm in široka od 20 do 30 μm (Gaugler, 2002). Gre za entomopatogeno ogorčico, ki je ena od najbolj raziskanih, dostopnih in prilagodljivih vrst. 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 (Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Za razliko od nekaterih drugih vrst, ki iščejo svoje žrtve aktivno, jih ta išče pasivno (Campbell in sod., 2003). Ogorčica *S. carpocapsae* se postavi vzravnano na rep in tako počaka novega gostitelja. Svoje gostitelje najučinkoviteje parazitira pri temperaturi od 22 do 28 °C (Gaugler, 1999). Živi v sožitju z bakterijo *Xenorhabdus poinarii* (Kaya, 2000).

Zasledena je bila prvič leta 1955 in je bila v Evropi do sedaj potrjena v Avstriji, Veliki Britaniji, na Češkem, v Franciji, Nemčiji, na Poljskem in Slovaškem, v Španiji, Švedski, Švici, Norveški, Bolgariji, na Portugalskem (Hominick, 2002) in v Sloveniji (Laznik in Trdan, 2008a).

2.2.1.3 *Steinernema feltiae* (Filipjev)

Odrasel osebek je dolg okoli 849 µm in širok 26 µm, infektivna ličinka pa meri v dolžino med 736 ter 950 µm in v širino od 22 do 29 µm (Gaugler, 2002). Omenjena vrsta najpogosteje parazitira ličinke dvokrilcev (Diptera) (Peters, 1996; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Svoje žrtve lahko unčikovito parazitira tudi pri nižji temperaturi, na primer pri 10 °C (Chen in sod., 2003). Izmed vseh vrst iz rodu *Steinernema* je *S. feltiae* najmanj stabilna, saj je njena življenjska doba v pripravkih zelo kratka (Gaugler, 1999). Gostitelja išče aktivno (Lewis in sod., 1993, cit. po Gaugler, 2002) in živi v sožitju z bakterijo *Xenorhabdus bovienii* (Gaugler, 2002).

Prvič so jo našli leta 1934 na Danskem. V Evropi so jo do sedaj potrdili v Avstriji, Belgiji, Veliki Britaniji, na Češkem, v Estoniji, Finski, Franciji, Nemčiji, Grčiji, na Madžarskem in Irskem, na Poljskem in Slovaškem, v Španiji, Švedski, Švici, na Nizozemskem, v Norveški, Ukrajini, Bolgariji, na Portugalskem (Hominick, 2002) in v Sloveniji (Laznik in sod., 2009a).

2.2.2 Razlike med rodovoma *Heterorhabditis* in *Steinernema*

Molekulske raziskave so pokazale, da ogorčice iz družin Steinematidae in Heterorhabditidae niso v tesni filogenetski povezavi (Gaugler, 2002). Med rodovoma *Heterorhabditis* in *Steinernema* je več razlik.

Prva temelji na dejstvu, da so vsi predstavniki rodu *Heterorhabditis* v svojem prvem rodu dvospolniki, infektivne ličinke pa nosijo simbiotsko bakterijo iz rodu *Photorhabdus* v srednjem črevesu. Prvi rod predstavnikov iz rodu *Steinernema* predstavljajo samci in samice, infektivne ličinke pa imajo simbiotsko bakterijo iz rodu *Xenorhabdus* v posebnem črevesnem mehurčku (veziklu). Infektivne ličinke obeh rodov se lahko razvijejo v odrasle osebkke tudi brez prisotnosti simbiotskih bakterij (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

Infektivne ličinke predstavnikov iz rodu *Heterorhabditis* imajo v bližini ust zobcu podoben izrastek, medtem ko ga tiste iz rodu *Steinernema* nimajo. Samci prvega rodu entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis* imajo burso in 9 parov spolnih bradavic, katerih število je lahko tudi manjše. Nasprotno pa samci prvega rodu predstavnikov iz rodu *Steinernema* burse sploh nimajo, imajo pa 10 ali 11 parov spolnih bradavic in eno neparno spolno bradavico (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

Razlika je tudi v številu najdenih vrst entomopatogenih ogorčic iz teh dveh rodov. V Evropi so doslej ugotovili zastopanost le štirih vrst iz rodu *Heterorhabditis* (*H. bacteriophora*, *H. megidis*, *H. downesi* in *H. zealandica*) (Hominick, 2002), najdenih vrst iz rodu *Steinernema* pa je kar 11; *S. affine*, *S. arenarium*, *S. apuliae*, *S. bicornutum*, *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. glaseri*, *S. intermedium*, *S. kraussei*, *S. weiseri* in *S. silvaticum* (Hominick, 2002).

2.3 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

V razvojnem krogu entomopatogenih ogorčic se pojavijo naslednji stadiji: jajčece, ličinka, ki se navadno štirikrat levi, in odrasel osebek. Le ličinke tretje larvalne stopnje (L3) prvega rodu entomopatogenih ogorčic, t.i. infektivne ličinke (IL), živijo v tleh in lahko napadejo gostitelje ter povzročijo okužbo. Takšne ličinke so prosto živeče in dobro prilagojene na dolgotrajnejše pomanjkanje hrane (Kaya, 2000). Energijo črpajo iz lastnih zalog. Infektivna ličinka nosi v sprednjem delu črevesa (v posebnih veziklih) od 200 do 2000 simbiotskih bakterij (Gaugler, 2002).

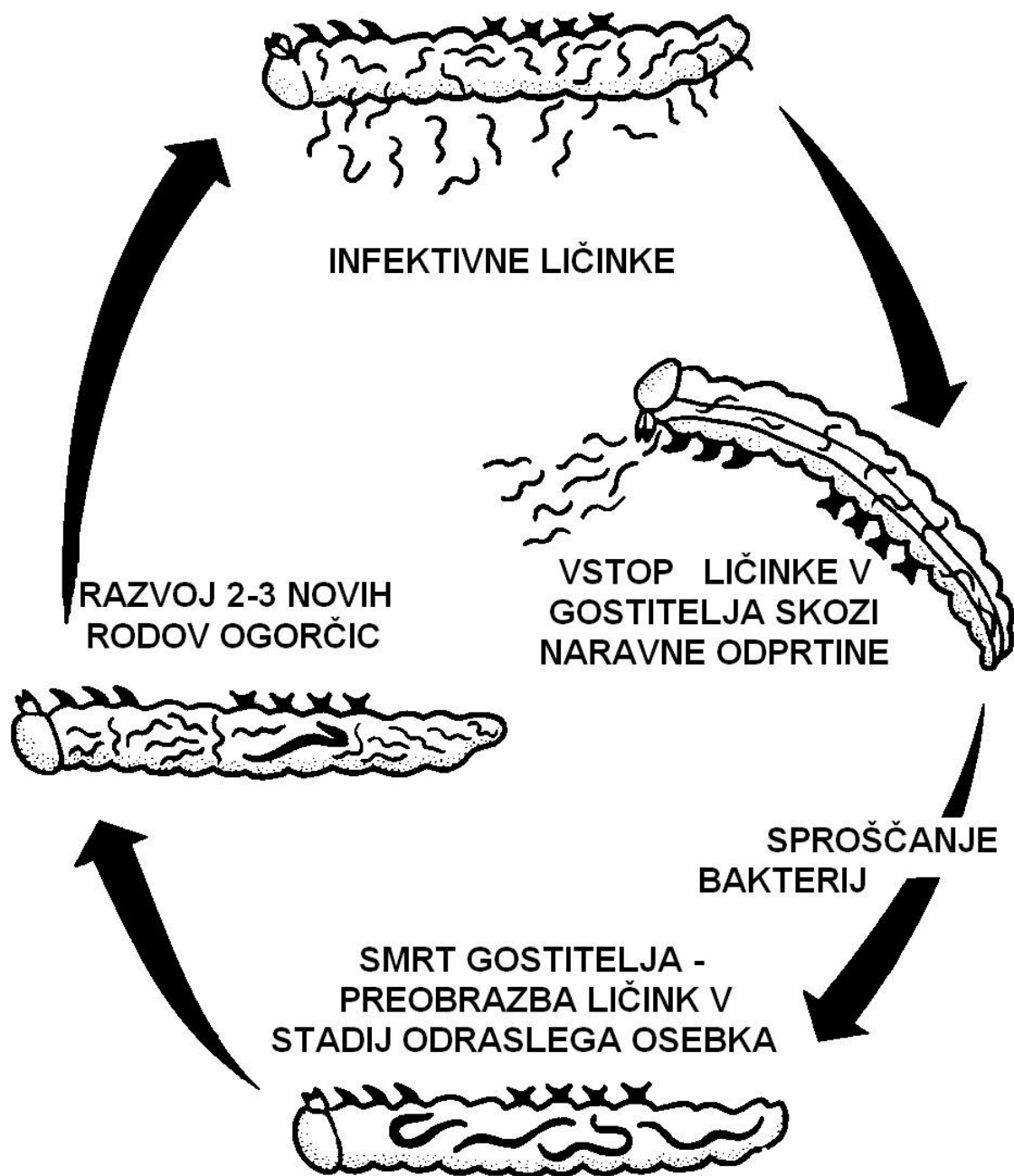
Infektivne ličinke entomopatogenih ogorčic vstopijo v gostitelja prek naravnih odprtin (dihalne odprtine, ustni aparat, zadnjična odprtina) oziroma prek kutikule (Eidt in Thurston, 1995). V hemolimfi gostitelja nato ogorčice sprostijo zanje značilne simbiotske bakterije. Bakterije se v hemolimfi hitro množijo in proizvajajo toksine ter druge sekundarne metabolite, ki prispevajo k oslabitvi obrambnega mehanizma gostitelja. Gostitelj v približno dveh dneh po vstopu infektivne ličinke pogine (Gaugler, 2002; slika 1).

V gostitelju poteka dvojni razvojni krog, ogorčic in bakterij. Ogorčice prvega rodu preidejo v drugi rod. Po štirikratni levitvi ličink in obdobju odraslega stadija ogorčice preidejo v tretji rod, ki uspeva v gostitelju toliko časa, dokler ima na voljo hrano (Gaugler, 2002). Gostitelj je tedaj že mrtev, saj ga toksini, ki jih je izločila bakterija pred tem že pokončajo (od 24 do 72 ur po vstopu ogorčice v gostitelja) (Smart, 1995). To pomeni, da je tretji rod ogorčic že saprofitski (Gaugler, 2002).

Bakterije proizvajajo tudi takšne toksine (na primer 3,5 dihidroksi-4-izopropilstilben), ki od razpadajočih trupel odvrčajo druge mikroorganizme (Hui in Webster, 2000). Ko je razvojni krog zaključen, ogorčice zapustijo nerazgrajene dele trupel in se vrnejo v tla. Ogorčice imajo v hemolimfi optimalne razmere za razmnoževanje (Kaya, 2000).

V ugodnih razmerah IL iz rodu *Steinernema* zapustijo gostitelja v času od šest do enajst dni po parazitiranju, tiste iz rodu *Heterorhabditis* pa od dvanajst do štirinajst dni po parazitiranju (Kaya, 2000). Ogorčice za svoj razvoj nujno potrebujejo prisotnost gostitelja (žuželk) (Griffin in sod., 2005, cit. po Gaugler, 2002), zunaj njega lahko preživijo le kratek čas, nato pa poginejo (Gaugler, 2002).

Boemare je leta 1982 dokazal, da ogorčice iz rodu *Steinernema* proizvajajo toksične snovi, ki negativno vplivajo na imunski sistem okužene žuželke in lahko že same, brez prisotnosti simbiotskih bakterij povzročijo, smrt gostitelja. Za entomopatogene ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* do sedaj še ni bilo ugotovljeno, da bi bile same sposobne proizvajati toksične snovi, ki bi vplivale na slabšo vitalnost okuženih žuželk (Klein, 1990).



Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Laznik in Trdan, 2008b)

2.4 ODNOSI MED ENTOMOPATOGENIMI OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI IZ REDA Coleoptera

Entomopatogene ogorčice so v visokih koncentracijah v povezavi z ugodnimi abiotičnimi dejavniki (visoka vlaga, optimalna temperatura) učinkoviti biotični agensi za zatiranje odraslih osebkov iz reda Coleoptera (hrošči), kar so dokazali s številnimi raziskavami (Trdan in sod., 2006). Dosedanje raziskave so potrdile učinkovitost ogorčic pri zatiranju odraslih osebkov hrošča *Popillia japonica* Newman (Grewal in sod., 2002; Koppenhöfer in Fuzy, 2007), koruznega hrošča *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (van der Burgt in sod., 1998), hrošča *Typhaea stercorea* (L.) (Svendsen in Steenberg, 2000), črnega žitnega žužka (*Sitophilus granarius* [L.]) in surinamskega mokaarja (*Oryzaephilus surinamensis* [L.]) (Trdan in sod., 2006), kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) (Trdan in sod., 2008), koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) (Trdan in sod., 2009) in še nekaterih drugih predstavnikov iz reda Coleoptera.

Številne druge raziskave so pokazale, da so ogorčice pri manjših koncentracijah mnogo bolj učinkovite pri zatiranju preimaginalnih stadijev žuželk iz reda Coleoptera (Converse in Grewal, 1998), ker lažje vstopajo v njihovo telo (LeBeck in sod., 1993). V večini primerov je šlo za ličinke, ki pretežni del svojega razvoja preživijo v tleh. Zaradi tega so bolj ustrezne za preučevanje učinkovitosti entomopatogenih ogorčic, ki so talni organizmi (Gaugler, 2002). Taesdale in Henderson (2003, cit. po Laznik in Trdan, 2007a) sta dokazala, da so mlajše ličinke precej bolj dovzetne za napad ogorčic kot starejše, saj so slednje večje in je zato pri njihovem zatiranju potrebna višja koncentracija suspenzije ogorčic.

Med vsemi žuželkami iz reda Coleoptera je bilo delovanje ogorčic doslej najbolj intenzivno preučevano na hroščih iz družine Scarabaeidae (Klein, 1990). Ker so ličinke te družine talni škodljivci, je bilo v preteklih letih iz mrtvih osebkov izoliranih več vrst entomopatogenih ogorčic. V evoluciji so ti škodljivci razvili številne obrambne mehanizme, ki vplivajo na različno stopnjo njihove odpornosti na različne vrste entomopatogenih ogorčic (Gaugler, 2002). Vrsta *Popillia japonica* reagira na napad entomopatogenih ogorčic tako, da z drgnjenjem nog ob telo iz površja telesa odstranjuje ogorčice. Na ta način naj bi žuželka odstranila 60 % napadalcev, vendar pa so ostale ogorčice vseeno sposobne povzročiti smrt žuželke, a v znatno nižjem odstotku (~25 %) (Gaugler in sod., 1994).

Laboratorijski poskusi zatiranja črnega žitnega žužka z entomopatogenimi ogorčicami so pokazali vpliv vrste ogorčice in temperature, medtem ko koncentracija suspenzije ni imela vpliva na smrtnost omenjenega hrošča. Entomopatogene ogorčice vrst *S. carpocapsae*, *S. feltiae* in *H. bacteriophora* so se izkazale kot uspešne pri temperaturah 20 °C in 25 °C. Vrsta *H. bacteriophora* se je pokazala za zelo učinkovito, saj je povzročila kar 81 % smrtnost (pri 25 °C) preučevanih osebkov (Trdan in sod., 2005, 2006). Pri zatiranju skladiščnega škodljivca *Oryzaephilus surinamensis* s prej omenjenimi vrstami ogorčic ni bilo statistično značilnih razlik v delovanju, učinkovitost ogorčic pa je bila najboljša pri 20 °C (Trdan in sod., 2006).

Učinkovitost nekaterih insekticidov in entomopatogenih ogorčic za zatiranje ličink hrošča *Rhizotrogus majalis* (Razoumowsky) je v laboratorijskih razmerah primerjal Costello (2003). Vrsti *S. feltiae* in *H. bacteriophora* sta bili učinkoviti v 71 % osebkov, njuno delovanje pa je bilo primerljivo z insekticidi, ki se uporabljajo za zatiranje omenjenih žuželk v konvencionalnem kmetijstvu.

2.4.1 Učinkovitost delovanja entomopatogenih ogorčic na predstavnike hroščev iz družine Chrysomelidae

Stewart in sod. (1998) so v laboratorijski raziskavi ugotovili 100 % smrtnost različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča. V poljskih poskusih se je vrsta *S. feltiae* izkazala za učinkovito pri zatiranju tega hrošča, še posebno njegovih ličink. Koncentracija suspenzije ogorčic ni imela vpliva na smrtnost različnih razvojnih stadijev, kar je dobro tudi z vidika gospodarnosti (Laznik in sod., 2009d). Učinkovitost entomopatogenih ogorčic na koloradskega hrošča je odvisna tudi od številnih drugih dejavnikov, med njimi sta pomembna globina zabubljenja in migracija hroščev iz sosednjih rastlin in njiv (MacVean in sod., 1982). Slabša učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju nadzemskih škodljivcev pa je lahko posledica neustrezne (prenizke) vlage (Lello in sod., 1996, cit. po Gaugler, 2002), izpostavljenosti temperaturnim ekstremom (Grewal in sod., 1994) in ultravijoličnemu sevanju (Gaugler in Boush, 1978). Ti dejavniki so namreč ključni za preživetje ogorčic (Gaugler, 2002). Zato ogorčice slabše delujejo na nadzemske škodljivce na prostem, čeprav predhodni laboratorijski testi pokažejo precej večjo učinkovitost (Berry in Lewis, 1993, cit. po Gaugler, 2002).

Tudi pri tretiranju kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp.) z entomopatogenimi ogorčicami so ugotovili, da je aktivnost ogorčic v večji meri odvisna od temperature kot od koncentracije (Trdan in sod., 2008). Vse preučevane vrste, *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *H. megidis* in *H. bacteriophora*, so bile najbolj učinkovite pri 25 °C. Rezultati so pokazali 50 % smrtnost preučevanih osebkov pri 15 °C in nizki koncentraciji ob uporabi ogorčice *S. carpocapsae*. Zadovoljivo učinkovitost je pri tej temperaturi pokazala le vrsta *S. feltiae*. Kombinacija visoke koncentracije suspenzije ogorčic in nizke temperature je bila usodna za 80 % kapusovih bolhačev (Trdan in sod., 2008), kar je iz praktičnega vidika (nočno tretiranje) (Akalach in Wright, 1995) zagotovo prednost.

Ogorčica *S. carpocapsae* je v kombinaciji z vrsto *H. bacteriophora* v eni od raziskav vplivala na znatno zmanjšanje populacije koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) in ni vplivala na večjo smrtnost neciljnih organizmov (Georgis in sod., 1991). Sorodna raziskava je pokazala tudi, da lahko ista kombinacija ogorčic vpliva na zmanjšanje obsega poškodb pod gospodarski prag škodljivosti (Jackson, 1996), pri čemer se je učinkovitost ogorčic gibala od 66 do 98 %. Gaugler (2002) poroča, da so ogorčice *S. glaseri*, *S. arenarium*, *S. abassi* in *H. bacteriophora* v koncentracijah od 7,9 do 15,9 IL/cm² talnega površja povzročile prek 77 % smrtnost škodljivca v tretji larvalni stopnji.

2.5 DEJAVNIKI PREŽIVETJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Dejavniki, ki vplivajo na preživetje entomopatogenih ogorčic, so lahko notranji (genetski, fiziološki in vedenjski) in zunanji, ki jih delimo na abiotične (temperatura, vlaga, tekstura

tal, ultravijolična svetloba in fitofarmaceutvska sredstva) in biotične. Ugodni biotični dejavniki (ustrezna prisotnost njihovih gostiteljev in rastlin) ustvarjajo za entomopatogene ogorčice ustrezno življenjsko okolje. Biotični dejavniki lahko na ogorčice delujejo tudi antagonistično (Gaugler, 2002).

2.5.1 Abiotski dejavniki

Neugodne okoljske razmere preživijo ogorčice v dormantnem stanju. V stanju dormance so lahko organizmi v diapavzi ali mirovanju. Pri diapavzi se razvoj organizma ustavi in se ne nadaljuje toliko časa, dokler niso izpolnjene določene zahteve, tudi če se spet vzpostavijo ugodne okoljske razmere. Mirovanje je možen odziv na neugodne okoljske razmere. Te pri delovanju entomopatogenih ogorčic predstavljajo pomanjkanje vode, ekstremne temperature, pomanjkanje kisika in osmotski stres. Vsak od teh dejavnikov vpliva na preživetje ogorčic (Gaugler, 2002).

Infektivne ličinke imajo med dormanco zaprto ustno in zadnjično odprtino in s tem preprečujejo vstop mikrobnim škodljivim organizmom in škodljivim kemikalijam. V takšnem stanju se ne prehranjujejo in je njihovo preživetje odvisno le od notranjih virov energije (zalog). Preživetje ogorčic 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).

Entomopatogene ogorčice so zelo občutljive na sončno svetlobo, predvsem na ultravijolično sevanje. Različni poskusi so pokazali, da se ogorčici *H. bacteriophora* znatno zmanjša sposobnost parazitiranja, če je ultravijoličnemu sevanju z valovno dolžino 302 nm izpostavljena za 4 minute, pri vrsti *S. carpocapsae* pa pri izpostavljenosti za 6 minut (Smith, 1999, cit. po Gaugler, 2002). Ultravijolična svetloba lahko povzroči smrt ogorčic že v nekaj minutah, zato je pomembno, da uporabljamo ogorčice za zatiranje škodljivih organizmov zgodaj zjutraj ali zvečer, ko je stopnja UV sevanja najmanjša (Koppenhöfer, 2000).

Dobro je znano, da ima temperatura pomemben vpliv na preživetje entomopatogenih ogorčic (Ileleji in sod., 2004). Vpliv temperature je odvisen od vrste in rase ogorčic (Grewal in sod., 1994). Večina entomopatogenih ogorčic se manj intenzivno hrani in razmnožuje pri temperaturah, nižjih od 18 °C (Howe, 1965). Večina infektivnih ličink ima največjo sposobnost parazitiranja žuželk pri temperaturah med 20 in 26 °C (Kaya in sod., 1993; Trdan in sod., 2008), izjema je vrsta *Steinernema feltiae*, ki ji najbolj ustreza temperatura med 12 in 25 °C (Koppenhöfer, 2000). Pri večini entomopatogenih ogorčic nastopi smrt, če temperatura pade pod 0 °C ali naraste nad 40 °C (Brown in Gaugler, 1996, cit. po Gaugler, 2002). Pri višjih temperaturah se ogorčicam poveča metabolna aktivnost in poraba energijskih rezerv, kar vpliva na njihovo krajšo življenjsko dobo (Koppenhöfer in Kaya, 2002). V neki raziskavi so ugotovili, da lahko ogorčica *Steinernema riobrave* pri 32 °C učinkuje bolje kot ostale vrste (Ramos-Rodriguez in sod., 2006). Vzrok je v njeni tolerantnosti do zelo visokih temperatur (Cabanillas in sod., 1994).

Nekatere entomopatogene ogorčice so sposobne preživeti tudi v razmerah, ko se okoljska temperatura spusti pod ledišče. To jim omogoča njihova odpornost na mraz, saj preživijo

tvorbo ledu v telesni votlini in v zunajceličnih prostorih. Intracelularna zmrznitev je najpogosteje smrtna (Gaugler, 2002). Organizmi, dovzetni na mraz, pa imajo sposobnost, da telesne tekočine ohranijo v tekočem stanju tudi takrat, ko temperature padejo pod ledišče (Gaugler, 2002). Dokazano je, da so ogorčice *Steinernema feltiae*, *Steinernema anomali* in *Heterorhabditis bacteriophora* odporne na mraz in lahko preživijo tudi pri temperaturah $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ oziroma $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Gaugler, 2002). Nekatere ogorčice lahko preživijo tudi pri temperaturah nižjih od $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, kjer se metabolizem skoraj ustavi. Raziskave so pokazale, da je možno entomopatogene ogorčice shranjevati tudi v tekočem dušiku (Gaugler, 2002).

Zelo pomemben dejavnik preživetja entomopatogenih ogorčic je tudi vlaga. Ogorčice so občutljive na pomanjkanje vlage, saj potrebujejo za svojo mobilnost vodni film okoli telesa. Sušne razmere zmanjšujejo možnost njihovega premikanja in preživetja (O'Leary in sod., 2001). IL imajo dve plasti zunanje povrhnjice, ki se strukturno razlikuje med različnimi vrstami entomopatogenih ogorčic in ima pomembno vlogo pri zadrževanju vode v telesu, kadar so izpostavljene sušnim razmeram. S tem zmanjšajo izgubo vode zaradi manjše površine kutikule, ki je izpostavljena izsuševanju. Ugotovljeno je bilo, da so entomopatogene ogorčice iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* sposobne preživeti v suhih tleh od 2 do 3 tedne, medtem ko na talnem površju preživijo le nekaj ur, odvisno od vrste ogorčic, temperature in relativne zračne vlage (Gaugler, 2002).

Ogorčice so aerobni organizmi, zato zmanjšanje dostopnosti kisika v tleh vpliva na njihovo preživetje. Smrtnost, povezana s kisikom, je najvišja v glinenih tleh, prav tako je kisik omejujoč dejavnik v mokrih tleh in v tleh z visoko vsebnostjo organske snovi (Gaugler, 2002). IL vrste *S. carpocapsae* postanejo popolnoma neaktivne, če so 16 ur izpostavljene anaerobnim razmeram (brez kisika). V anaerobnih razmerah so IL odvisne od njihovih zalog ogljikovih hidratov, ki jih porabijo za proizvodnjo energije. Čas, ki ga IL lahko preživijo v anaerobnih razmerah, je v veliki meri povezan s temperaturo okolja (Gaugler, 2002).

2.5.2 Biotski dejavniki

Nekateri sekundarni metaboliti, ki jih izločajo rastline, motijo ogorčice pri iskanju gostiteljev. Če je takšna snov v gostiteljih, je zmanjšana tudi zmožnost za napad in razmnoževanje ogorčic v njih (Gaugler, 2002). Korenine radiča izločajo glukozinolat (Ishii in sod., 1989, cit. po Gaugler, 2002) in s tem ustvarijo najverjetneje manj privlačno okolje za entomopatogene ogorčice. Poleg tega je tudi znano, da hlapljive kemikalije, ki jih izločajo nadzemski in podzemni deli rastlin (Thaler, 1999, cit. po Gaugler, 2002), lahko delujejo privabilno na naravne sovražnike žuželk (Dicke in Sabelis, 1988, cit. po Gaugler, 2002). Raziskovalci so ugotovili, da se vrsta *H. megidis* usmerja proti β -kariofilenu (terpen), ki so ga izločale poškodovane korenine koruze (Rasmann in sod., 2005). Številne druge raziskave so pokazale, da se na kmetijskih zemljiščih, ki so bila večkratno zasajena s poljščinami, v večji meri pojavljajo entomopatogene ogorčice *Steinernema feltiae*, *S. affine* in *H. megidis* (Willmott in sod., 2002). Prva entomopatogena ogorčica pri nas, *S. affine*, je bila odkrita na njivi, ki je bila predhodno zasajena z zeljem (Laznik in Trdan, 2007b). Hitrost ogorčičnega odgovora na kemične stimulatorje v tleh je predvsem odvisna od razmerja difuzije kemičnih substanc in heterogenosti tal (Anderson in sod., 1997).

Znotrajvrstno in medvrstno tekmovanje entomopatogenih ogorčic zmanjša njihovo življenjsko moč. Za znotrajvrstno tekmovanje je značilno, da več IL parazitira enega gostitelja, pri čemer lahko ogorčice medsebojno tekmovanje fizično oslabi (Koppenhöfer in Kaya, 2001). Čeprav se lahko več vrst ogorčic iz rodu *Steinernema* razvija v enem gostitelju, pa že prisotnost ene dodatne vrste zmanjša življenjsko moč drugih vrst, kar se kaže v manjši reprodukciji. Ugotovljeno je bilo, da lahko to vpliva tudi na lokalno iztrebljanje določenih vrst entomopatogenih ogorčic (Kaya in Koppenhöfer, 2002).

Medvrstno tekmovanje se pojavi med ogorčicami in drugimi patogeni, kot so glive, bakterije in virusi. Organizmi ne tekmujejo med seboj, ampak za istega gostitelja (Smart, 1995). Rezultat takšnega tekmovanja je odvisen od kompetitorja, časa tekmovanja in okoljskih dejavnikov, kot sta temperatura in vlažnost tal (Kaya in Koppenhöfer, 2002).

Znano je, da nekatere vrste entomopatogenih ogorčic v sklopu z entomopatogenimi glivami delujejo antagonistično (*S. carpocapsae* in *H. indica*), medtem ko ogorčica *H. bacteriophora* deluje aditivno (Shapiro-Ilan in sod., 2004). Interakcija entomopatogene glive in entomopatogenih ogorčic je v veliki meri odvisna tudi od ciljnega škodljivca (Barbercheck in Kaya, 1991). Nekatere raziskave tudi nakazujejo pozitivne interakcije sočasne aplikacije entomopatogenih ogorčic in entomopatogene glive *Beauveria brongniartii* (Shapiro-Ilan in sod., 2004), vendar so bolj podrobni mehanizmi delovanja zaenkrat še slabo preučeni. V nekaterih poskusih v tleh se je bakterija *Bacillus thuringensis* izkazala kot zelo učinkovit antagonist entomopatogenih ogorčic (Kaya, 2002).

Nematofagne glive so tudi naravni sovražniki entomopatogenih ogorčic. Imajo prilagodljive hife, s katerimi prodrejo v ogorčice, jim izčrpajo telesni sok in jih na ta način ubijejo (Gaugler, 2002). Imajo zelo specifične gostitelje ali pa so generalisti, ki kažejo zelo različno virulenco do različnih vrst ogorčic (Kaya in sod., 1998).

2.6 SIMBIONTSKE BAKTERIJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Družini ogorčic Steinernematidae in Heterorhabditidae sta povezani s simbiotskimi bakterijami družine Enterobacteriaceae (rodova *Xenorhabdus* in *Photorhabdus*). Bakterije se nahajajo v črevesju infektivnih ličink (Burnell in Stock, 2000).

2.6.1 Rod *Xenorhabdus*

Celice bakterij iz rodu *Xenorhabdus* so asporogene, paličaste, velike od 0,3 do 2 x 2-10 µm. So Gram negativne in fakultativno anaerobne (Hazir in sod., 2003). Najustreznejša temperatura za njihovo rast je okoli 28 °C ali manj, vendar so nekatere vrste sposobne preživeti tudi pri 40 °C. Doslej so našli bakterije iz rodu *Xenorhabdus* samo v prebavnem traktu entomopatogenih ogorčic iz družine Steinernematidae in gostiteljih teh ogorčic (Gaugler, 2002).

2.6.2 Rod *Photorhabdus*

Celice bakterij iz rodu *Photorhabdus* so asporogene, paličaste, velike od 0,5 do 2 x 1 do 10 µm. So ravno tako fakultativno anaerobne in Gram negativne (Hazir in sod., 2003).

Najustreznejša temperatura za njihovo rast je 28 °C ali manj. Obstajajo tudi vrste, ki rastejo pri temperaturah od 37 do 38 °C. Premikajo se s pomočjo bička (Gaugler, 2002). Živijo v sožitju z entomopatogenimi ogorčicami iz družine Heterorhabditidae.

2.6.3 Razlike in podobnosti med rodovoma *Photorhabdus* in *Xenorhabdus*

Med bakterijami iz obeh rodov obstajajo razlike (Stackebrandt in sod., 1997). Bakterije iz rodu *Photorhabdus* so fotoluminescenčne, se svetijo, medtem ko bakterije iz rodu *Xenorhabdus* nimajo te lastnosti in se ne svetijo (Kaya, 2000). Ta lastnost se uporablja pri determinaciji in določanju stopnje parazitiranosti žuželk z ogorčicami iz rodu *Photorhabdus* (Kaya, 2000). Intenzivnost pojava luminiscence je največja v prvih 72 urah po infekciji (Kaya, 2000).

Razlika se odraža tudi v barvi poginulega gostitelja. Gostitelj, ki je poginil zaradi napada ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*, ki v svojem telesu nosijo bakterije iz rodu *Photorhabdus*, je rdeče ali škrlatne, rumene, oranžne, včasih tudi zelene barve. Poginula žuželka, okužena z bakterijo iz rodu *Steinernema*, ki v svojem telesu nosi bakterije iz rodu *Xenorhabdus*, pa je rumenorjave, oker, sive ali temno sive barve (Kaya, 2000).

Bakterije iz rodu *Xenorhabdus* živijo v simbiotsko-mutualističnem odnosu le z entomopatogenimi ogorčicami iz družine Steinernematidae. Simbiotsko-mutualistični odnos z ogorčicami iz družine Heterorhabditidae pa tvorijo le bakterije iz rodu *Photorhabdus* (Forst in sod., 1997).

2.6.4 Odnosi med entomopatogenimi ogorčicami in simbiotskimi bakterijami

Ob prvem odkritju entomopatogenih ogorčic je bila postavljena hipoteza, da ogorčice same povzročijo smrt napadenih žuželk (Gaugler in Kaya, 1990). Leta 1937 je Bovien prvič omenil možnost obstoja simbiotskih bakterij, ki živijo z entomopatogenimi ogorčicami v simbiotsko-mutualističnem odnosu. Njegovo hipotezo sta leta 1955 potrdila Dutky in Weiser (Weiser, 1955, cit. po Gaugler, 2002).

O simbiotsko-mutualističnem odnosu med bakterijami in ogorčicami govorimo zato, ker ogorčice nudijo bakterijam bivališče in zaščito. Prostoživeče bakterije namreč niso sposobne preživeti v tleh. V žuželkah so bakterije tudi nemočne pred antibakterijskim delovanjem gostiteljev, zato jih ogorčice varujejo s tem, da zavrejo tovrstno delovanje gostiteljev. V zameno bakterije hitro ubijejo napadene žuželke in s proizvodnjem antibiotikov onemogočijo razvoj tekmovalnih mikroorganizmov, ki bi se sicer hranili v mrtvih osebkih (Kaya in Köpfernöhfer, 1999).

Vsaka vrsta entomopatogenih ogorčic je v simbiotsko-mutualističnem odnosu samo z eno vrsto bakterije, ena vrsta bakterije pa je lahko v simbiotsko-mutualističnem odnosu z več vrstami entomopatogenih ogorčic (Kaya, 2000; preglednica 1). Odnos med entomopatogenimi ogorčicami iz rodov *Heterorhabditis* in *Steinernema* ter bakterijami iz rodov *Photorhabdus* in *Xenorhabdus* ni obvezen, saj lahko tako ogorčice kot tudi bakterije v laboratorijskih razmerah gojimo ločeno (Burnell in Stock, 2000).

Simbiotska bakterija preoblikuje nekatere proteine gostitelja v substrat, na katerem se ogorčice lahko razvijajo in razmnožujejo. Ogorčica bakteriji omogoči vstop v gostitelja, kjer se tudi sama lahko hrani in razmnožuje (Burnell in Stock, 2000), bakterije pa so obenem tudi same hrana za ogorčice (Kaya in Köpfernhofer, 1999).

Preglednica 1: Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije (Kaya, 2000)

Vrsta entomopatogene ogorčice	Simbiotska bakterija
<i>Steinernema kraussei</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>Steinernema arenarium</i>	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>Steinernema affine</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>Steinernema bicornutum</i>	<i>Xenorhabdus nematophila</i>
<i>Steinernema carpocapsae</i>	<i>Xenorhabdus poinarii</i>
<i>Steinernema cubanum</i>	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Xenorhabdus bovienii</i>
<i>Steinernema glasseri</i>	<i>Xenorhabdus beddingii</i>
<i>Steinernema riobrave</i>	<i>Xenorhabdus</i> sp.
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> subsp. Brecon	<i>Photorhabdus luminescens luminescens</i>
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> subsp. HP88	<i>Photorhabdus luminescens laumondii</i>
<i>Heterorhabditis indica</i>	<i>Photorhabdus luminescens akhurstii</i>
<i>Heterorhabditis zealandica</i>	<i>Photorhabdus temperata</i>
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> subsp. NC	<i>Photorhabdus temperata</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i> Nearctic	<i>Photorhabdus temperata</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i> Palaearctic	<i>Photorhabdus temperata temperata</i>

2.7 RDEČI ŽITNI STRGAČ (*Oulema melanopus* [L.])

Po uveljavljeni sistematiki rdečega žitnega strgača uvrščamo v naslednje sistematske kategorije (cit. po Milevoj, 2007):

razred: Insecta,
red: Coleoptera,
družina: Chrysomelidae,
poddružina: Criocerinae,
rod: *Oulema*,
vrsta: *Oulema melanopus* [L.].

Družina Chrysomelidae (slov. lepenci), je ena od najštevilčnejših družin hroščev, v katero spada skoraj 35.000 vrst hroščev (10 %). Navadno so ovalni in okroglasti z izbočeno hrbtno stranjo, nekatere vrste pa so bolj podolgovate (poddružina Criocerinae). V poddružino Criocerinae uvrščamo približno 1400 vrst, ki živijo na vseh celinah v zmernih,

subtropskih in tropskih območjih. Znanih je okoli 100 vrst iz rodu *Oulema*, kamor uvrščamo tudi v Sloveniji zastopano vrsto rdeči žitni strgač (Trdan, 2000).

2.7.1 Razširjenost

Rdeči žitni strgač je razširjen skoraj po vsej Evropi, Severni Afriki, v večjem delu Azije (Kitajska, Mongolija in osrednja Sibirija), v Iranu, na območju od Kavkaza do Turčije in južno do Izraela ter Sirije (Olfert in sod., 2004).

V Evropi se pojavlja na vseh žitorodnih območjih, najbolj razširjen je na Balkanu in sosednjih pokrajinah, zlasti na območjih s celinskim in zmerno celinskim podnebjem (Stamenković, 2004). Do konca sedemdesetih in začetka osemdesetih let prejšnjega stoletja je bil žitni strgač škodljivec drugotnega pomena. Od tedaj, še posebno v naslednjih petih ali šestih letih, se je ta hrošč pojavljal na vseh območjih s strnimi žiti. Postajal je vedno številčnejši. Po nekaterih podatkih je v zadnjih dvajsetih letih populacijska gostota žitnega strgača narasla približno za trikrat (Trdan, 2000). Tudi v Sloveniji so prvo večjo škodo, povzročeno zaradi tega škodljivca, opazili v začetku sedemdesetih let. V zadnjem desetletju se žitni strgač redno pojavlja, njegova številčnost pa med leti precej niha (Trdan, 2000).

2.7.2 Opis

Odrasel osebek rdečega žitnega strgača (slika 2) je dolg od 4,4 do 5 mm. Telo je podolgovate oblike, vratni ščit je zaokrožen in pri osnovi stisnjen. Pokrovke so bleščeče modre barve. Vzdolž pokrovk ima v nizu razporejene jamice, ki dajo pokrovkam nekoliko bolj grob videz. Vratni ščit, bedra in goleni nog so rdečeoranžne barve, glava in stopalca pa so črna. Enajstčlenaste tipalke merijo približno polovico dolžine trupa (Vrabl, 1986).

Jajčeca so jantarno rumene barve, eliptična, velika okoli 0,9 mm. Navadno jih samice odlagajo posamezno ali v skupinah na zgornjo stran listov. Ena samica lahko odloži od 50 do 700 jajčec, kar je predvsem odvisno od prehrane in temperature (Šalamun, 1996).

Ličinke so rumenkaste z rjavo glavo in tremi pari oprsnih nog (oligopodna ličinka), na hrbtu pa močno izbočene. Med razvojem se ličinke štirikrat levijo in zrastejo od 5 do 8 mm. Obdaja jih sluz izločkov, zato so največkrat podobne polžkom. Ta sluz jim služi kot evaporacijski ščit, hkrati pa deluje tudi odvrčalno na plenilce. Ličinke pred zabubljenjem izgubijo plašč iztrebkov in se spustijo v površinsko plast tal, kjer se zabubijo (Trdan, 2000).

Buba je sprva rumena, pozneje pa postane modročrna. Velikost bube je primerljiva z velikostjo odraslega osebk. Bube so redko vidne, ker se nahajajo v zgornji plasti tal (Trdan, 2000).

2.7.3 Razvojni krog

Rdeči žitni strgač je univoltin vrsta (ima en rod na leto) in ima popolno preobrazbo, torej ima vse štiri razvojne stadije (jajčece, ličinka, buba in odrasel osebek). Žuželka prezimi kot

odrasel osebek v diapavzi. Prezimitveni stadij največkrat zasledimo v redkih gozdovih, ob plotovih in ograjah, v nekoliko gostejših gozdovih, pogosto pa tudi na žitnem strnišču ali v votlih rastlinskih delih. To obdobje (prikritega) življenja preživijo v skupinah vse do spomladi. Pri temperaturi okoli 9 °C se hrošči najprej hranijo na travah, nato pa se premaknejo na robove parcel žit, pozneje tudi v notranjost. Hrošči začnejo letati, ko temperatura preseže 17 °C. Ko nastopi obdobje toplih in vlažnih dni, je preletavanje in parjenje strgačev najbolj pogosto v mraku (Trdan, 2000).

Samice začno navadno sredi aprila odlagati jajčeca. Obdobje odlaganja jajčec je relativno dolgo, saj traja od aprila pa vse do junija. Jajčeca odložijo na zgornjo stran listov, s katerimi se hranijo ličinke. Tako najenostavneje poskrbijo za svoje potomce. Ličinke, ki se razvijejo iz jajčec, se štirikrat levijo. Po stadiju bube se sredi junija pojavi nov rod hroščev, ki pa ne povzroča gospodarsko pomembne škode na žitih. Za popoln razvojni krog tega hrošča sta torej potrebna približno 2 meseca (Trdan, 2000).

2.7.4 Gostiteljske rastline in poškodbe

V Sloveniji je žitni strgač škodljiv predvsem na pšenici, saj jo od strnih žit pridelujemo v največjem obsegu (35.264 ha v letu 2008) (Statistični urad RS). Tekne mu tudi oves, vendar je pomen tega žita pri nas manjši. Škoda, ki jo žitni strgač povzroča na koruzi, nima večjega gospodarskega pomena (Stamenković, 2000). Odrasli osebki in ličinke se navadno hranijo na istih gostiteljih, vendar pa glavino škode povzročajo ličinke. S strganjem ličinke in odrasli osebki pustijo le povrhnjico na spodnji strani lista. Tako za njimi ostanejo le bele ozke proge na listih (Ulrich in sod., 2004, cit. po Trdan in sod., 1998). Hranijo se le med listnimi žilami (Ulrich in sod., 2004, cit. po Trdan in sod., 1998), kar je značilno le za rdečega žitnega strgača. Listi se velikokrat povsem posušijo, močno poškodovane rastline pa lahko celo propadejo. Poškodovane rastline lahko v obliki večjih ali manjših otokov opazimo že na daleč (Trdan, 2000). Raziskave so pokazale, da lahko ena ličinka v času njenega razvoja zmanjša asimilacijo rastlin za okoli 10 % (Heyer, 1977, cit. po Trdan in sod., 1998). V raziskavah so ugotovili, da je ena ličinka pri povprečni temperaturi 14,6 °C zaužila okrog 480 mm² listov (Maceljski, 1999). Pri popolnem uničenju vrhnjega lista, ki je najpogosteje napaden del strnih žit (gostota škodljivca se zmanjšuje po rastlini navzdol), se lahko pridelek zmanjša tudi do 60 % (Trdan in sod., 1998).

Žitni strgač je škodljiv tudi posredno, saj je prenašalec virusov. Ugotovljeno je bilo, da je vektor prenosa virusa rumene pritlikavosti ječmena (virusa barley yellow dwarf ali krajše BYDV) in brome mosaic bromovirusa (BMV) (Šalamun, 1996). Tega so hrošči sposobni prenesti po enem dnevu, sposobnost infekcije pa izgubijo po enodnevem hranjenju na zdravih rastlinah (Trdan, 2000).

2.7.5 Varstvo

Varstvo rastlin je možno posredno z agrotehničnimi ukrepi ali neposredno s kemičnimi in biotičnimi sredstvi. K zmanjšanju napada tega škodljivca lahko pripomore že ustrezen kolobar, zgodnja setev jarin, dobra agrotehnika, ustreznna obdelava tal in sklop rastlin ali izbira ustreznih, na škodljivca odpornih sort. Raziskave so pokazale, da so sorte pšenice z dlakavim listjem bolj odporne na napad rdečega žitnega strgača (Maceljski, 1999).

Hroščev navadno ne zatiramo. Cilj zatiranja so začetne razvojne stopnje ličink. Optimalni čas zatiranja je, ko se iz jajčec izleže od 10 do 15 % ličink. Kritično število predstavlja od 1 do 2 jajčeci ali povprečno ena ličinka na vrhnji list ali 10 ličink rdečega žitnega strgača na m². Prag škodljivosti ugotovimo tako, da pregledamo vsaj 50 vrhnjih listov na različnih mestih parcele (Trdan, 2000).

V Sloveniji so trenutno za zatiranje rdečega žitnega strgača registrirani pripravki, ki imajo aktivne snovi beta-ciflutrin, deltametrin, alfa-cipermetrin in lambda-cihalotrin (Fito-Info, 2009), vendar pa moramo biti pri uporabi teh sredstev previdni in upoštevati navodila o njihovi uporabi. Vsi štiri pripravki spadajo v skupino piretroidov.

V zadnjem času vse bolj prihajajo v ospredje naravi prijaznejše metode zatiranja škodljivih organizmov, t.i. biotično varstvo. Biotično zatiranje je način zatiranja rdečega žitnega strgača z naravnimi sovražniki, ki lahko pomembno vplivajo na zmanjšanje njegove številčnosti in škodljivosti. To so zajedavci ali parazitoidi, ki se razvijajo v notranjosti ali na površju svojih gostiteljev ter jih na ta način ubijejo. Od parazitoidnih vrst so najpomembnejši parazitoidi ličink (Stehr, 1970, cit. po Trdan in sod., 1998). Samice teh vrst živijo prosto v naravi in odlagajo jajčeca na telo ali v telo drugih žuželk. Med najbolj znane parazitoidne žuželke štejemo osice ali najezdnike in muhe goseničarke (Šalamun, 1996). Iz sosednjih držav poročajo o pomenu jajčnega parazitoida *Anaphes flavipes* (Förster) (Maltby in sod., 1971, cit. po Gaugler, 2002), parazitoidov ličink *Lemophagus curtus* (Townes), *Diaparsis carinifer* (Thomson), *Tetrastichus julius* (Walker). Pomemben predstavnik parazitoidov bub je *Necremnus leucarthros* (Nees). Odrasle osebk pa napada muha goseničarka *Hyalomyodes triangulifer* (Loew) (Glogoza, 2002). Med naravnimi sovražniki žitnega strgača se pri nas pojavljajo tudi sedempika polonica (*Coccinella septempunctata* L.), plenilske stenice (Nabidae) in nekatere entomopatogene glive (Entomophthoraceae) (Trdan, 2000).



Slika 2: Odrasel osek rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus* [L.]) (foto: M. Štrukelj)

3 MATERIAL IN METODE DELA

Poskus je potekal spomladi 2009 na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete ter v entomološkem laboratoriju Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

3.1 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

Za namen raziskave smo uporabili tri slovenske rase entomopatogenih ogorčic *Steinernema feltiae* B30, *S. carpocapsae* C101 in *Heterorhabditis bacteriophora* D54. Vse tri rase so bile izolirane iz tal (Laznik in sod., 2008a, 2008b, 2009a, 2009b, 2009c). Dve domači rasi (*S. carpocapsae* C101 in *H. bacteriophora* D54) sta bili prvič uporabljeni v poskusu, medtem ko se je rasa B30 izkazala za zelo učinkovito že v poljskem poskusu zatiranja koloradskega hrošča (Laznik in sod., 2009d). Vse rase smo namnožili s pomočjo ličink voščene vešče *Galleria mellonella* [L.] (Bedding in Akhurst, 1975). Uporabili smo le IL, mlajše od dveh tednov. Med poskusom so bile IL shranjene v vodni suspenziji v hladilniku pri 4 °C (Trdan in sod., 2009).

V poskusu smo uporabili tudi komercialni pripravek Entonem, ki smo ga za namen raziskave naročili pri podjetju Koppert Biological Systems na Nizozemskem. Kot aktivna snov je bila v tem pripravku entomopatogena ogorčica *Steinernema feltiae* (Filipjev). Ogorčice smo shranjevali v hladilniku pri temperaturi od 2 do 4 °C. Shranjene so bile v originalni embalaži. Proizvajalec ogorčic v navodilih za njihovo uporabo priporoča porabo celotnega pripravka po odprtju, ker se lahko vitalnost entomopatogenih ogorčic sicer zelo hitro zmanjša. Ker vseh ogorčic nismo porabili naenkrat, smo njihovo vitalnost s standardno metodo preverjali pred vsako uporabo (Trdan in sod., 2009).

3.2 RDEČI ŽITNI STRGAČ (*Oulema melanopus* [L.])

Nabiranje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača je potekalo na ozimni pšenici, sorta *Rosario*, na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Osebkve smo nalovili s pomočjo metuljnice (slika 3) v dopoldanskem času, in sicer kmalu zatem, ko se je posušila rosa. Nalovljene žuželke smo shranili v plastične posode in jih prenesli v entomološki laboratorij (Trdan in sod., 2008).

3.3 PRIPRAVA KONCENTRACIJ OGORČIC

Iz pripravljene suspenzije domačih ras ogorčic smo na stekleno petrijevko odpipetirali 5 µl suspenzije ogorčic in pod svetlobnim mikroskopom prešteli žive IL. To smo ponovili petkrat in izračunali povprečno število živih IL v 5 µl suspenzije. Iz dobljenih podatkov smo izračunali koncentracijo suspenzije. Za želeno koncentracijo ogorčic v obravnavanju smo odmerili potrebno količino suspenzije (Trdan in sod., 2008).

Podobno smo naredili tudi s komercialnim pripravkom Entonem. Suspenzijo ogorčic smo pripravili tako, da smo v stekleno čašo odtehtali 0,1 g pripravka, katerega aktivna snov so infektivne ličinke, in dodali 10 ml destilirane vode. Nato smo na stekleno petrijevko s

pipeto nanesli 5 µl suspenzije ogorčic ter nadaljevali z že prej omenjenim postopkom (Trdan in sod., 2008).

3.4 POTEK RAZISKAVE

V vsako stekleno petrijevko s premerom 9 cm smo položili filtrirni papir, na katerega smo nanesli izbrano koncentracijo suspenzije infektivnih ličink. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic smo preučevali v štirih koncentracijah: 250, 500, 1000 in 2000 infektivnih ličink/osebke (IL/osebke) oziroma 2500, 5000, 10000 in 20000 infektivnih ličink v 1 ml destilirane vode. S pipeto smo v vsako petrijevko vbrizgali 1 ml tako pripravljene raztopine (slika 5). Ob dodajanju različnih vrst in koncentracij ogorčic smo na pipetah zamenjali nastavek (tips). Vsako tretiranje v poskusu smo ponovili petkrat. Peto obravnavanje je bila kontrola. Pri tej smo v petrijevke vbrizgali le 1 ml destilirane vode, brez infektivnih ličink. V petrijevko (slika 4) smo dodali še 10 odraslih osebkov rdečega žitnega strgača in svež list ozimne pšenice, ki je med poskusom služil kot hrana žuželkam. Petrijevke smo pokrili z nekoliko širšo petrijevko, obe pa smo oblepili s parafilmom, da obravnavane žuželke ne bi pobegnile iz njih.

Petrijevke smo položili v gojitveno komoro tipa RK-900 CH (proizvajalec: Kambič laboratorijska oprema d.o.o., Semič) z delovno kapaciteto 0,868 m³ (širina x višina x globina = 1000 x 1400 x 620 mm). Učinkovitost ogorčic smo preverjali v temi pri temperaturah 15, 20 in 25 °C in pri 70 % relativni zračni vlagi. Smrtnost rdečega žitnega strgača smo preverjali 2., 4. in 6. dan po nanosu ogorčic (slika 6). Strgače smo secirali in s pomočjo stereolupe (Nikon SMZ645) ugotovili zastopanost IL v njih. Tako smo potrdili, da je bil vzrok smrti prisotnost entomopatogenih ogorčic.

3.5 STATISTIČNA ANALIZA

Pridobljene rezultate poskusa smo statistično obdelali (analiza variance, primerjava rezultatov povprečij s Student-Newman-Keuls-ovim preizkusom mnogoterih primerjav pri $P < 0,05$) s programom Statgraphich Plus for Windows 4.0, grafično pa smo jih predstavili s programom MS Office Excel 2003. Odstotek smrtnosti odraslih osebkov rdečega žitnega strgača smo korigirali z uporabo Abbottove formule (1) (Abbott, 1925). Za vse vrste entomopatogenih ogorčic smo izračunali vrednosti srednje letalne koncentracije, ki povzroči smrt 50 % preučevanih osebkov (LC₅₀) in vrednosti srednje letalne koncentracije, ki povzroči smrt 90 % preučevanih osebkov (LC₉₀).

$$\text{Abbottova formula: } x = 100 \times \frac{1-a}{b} \quad \dots(1)$$

x... korigirana smrtnost (%)

a... število osebkov po tretiranju

b... število osebkov po tretiranju v kontroli



Slika 3: Lovljenje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača je potekalo s pomočjo metuljnice (foto: J. Rozman)



Slika 4: Petrijevka z odraslimi osebki rdečega žitnega strgača in listom pšenice (foto: M. Štrukelj)



Slika 5: Nanos entomopatogenih ogorčic v petrijevko z odraslimi osebkami rdečega žitnega strgača (foto: M. Mihičičinac)



Slika 6: Ocenjevanje učinkovitosti EPO je potekalo drugi, četrty in šesti dan po njihovem nanosu (foto: M. Mihičičinac)

4 REZULTATI

4.1 SINTETIČEN PREGLED REZULTATOV

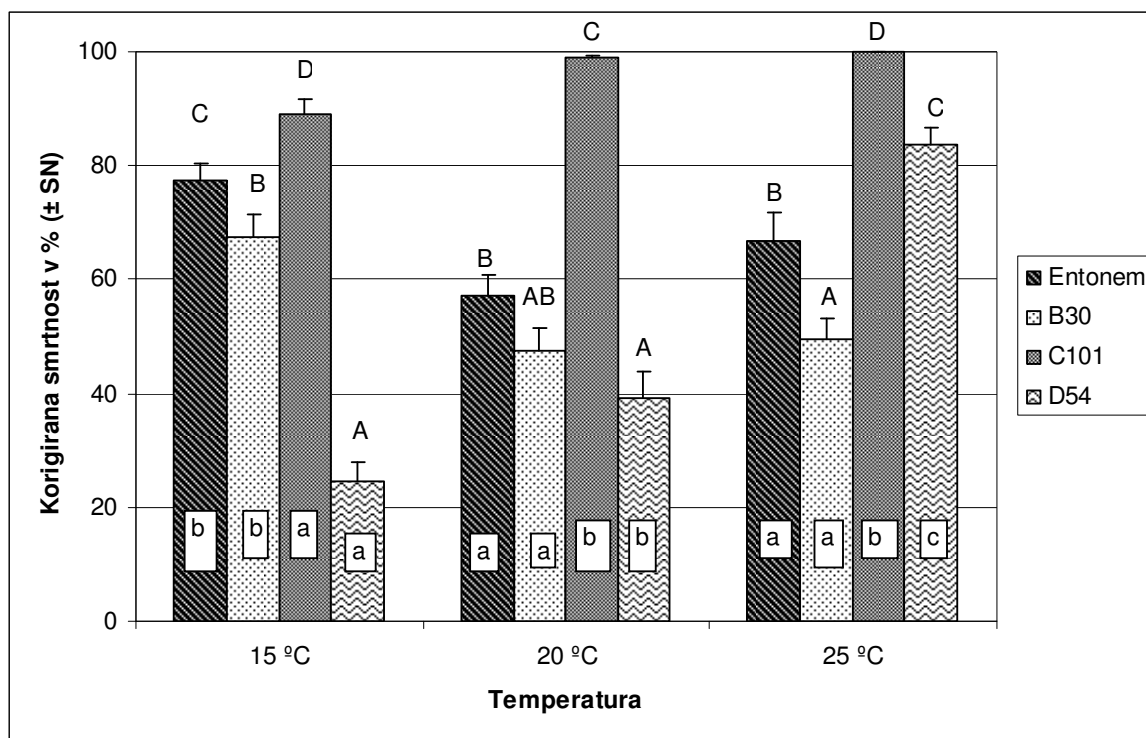
Statistična analiza dobljenih rezultatov je pokazala, da se smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača statistično značilno razlikuje po vseh dejavnikih (koncentracija ogorčic v suspenziji, temperatura, rasa entomopatogenih ogorčic in dnevi po tretiranju) in interakcijami med njimi.

Preglednica 2: Stopnja tveganja za sprejetje alternativne domneve (p-vrednost) za proučevane dejavnike pri zatiranju odraslih osebkov rdečega žitnega strgača

Dejavniki	p- vrednost
Koncentracija	<0,0001
Temperatura	<0,0001
Rasa ogorčic	<0,0001
Dnevi po tretiranju	<0,0051
Koncentracija x dnevi po tretiranju	<0,0001
Temperatura x dnevi po tretiranju	<0,0001
Rasa ogorčic x dnevi po tretiranju	<0,0001
Koncentracija x rasa ogorčic	<0,0001
Temperatura x koncentracija	<0,0001
Temperatura x rasa ogorčic	<0,0001
Temperatura x koncentracija x dnevi po tretiranju	<0,0001
Rasa ogorčic x koncentracija x dnevi po tretiranju	<0,0001
Temperatura x rasa ogorčic x koncentracija	<0,0001
Temperatura x rasa ogorčic x dnevi po tretiranju	<0,0001
Temperatura x rasa ogorčic x koncentracija x dnevi po tretiranju	<0,0001

4.1.1 Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na temperaturo

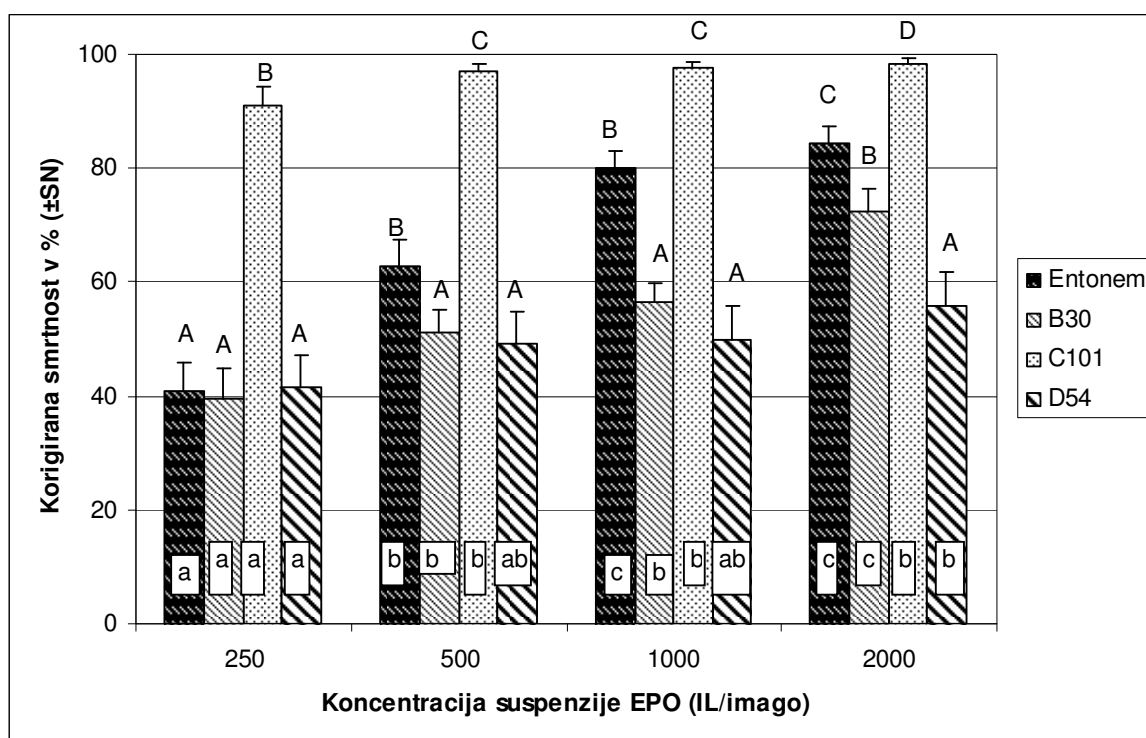
Pri različnih temperaturah smo ugotovili statistično značilne razlike v vplivu na smrtnost rdečega žitnega strgača (slika 7). Rasa C101 se je izkazala za najbolj učinkovito (več kot 86 %) med vsemi rasami. Pri rasi D54 in najnižji temperaturi (15 °C) je bila smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača signifikantno manjša (26 %) kot pri rasi C101, ravno tako tudi pri 20 °C (39 %). Komerčni pripravek Entonem in domača rasa *S. feltiae* B30 sta najbolje učinkovali pri najnižji temperaturi (78 %; 68 %), medtem ko je bilo njuno delovanje pri višjih temperaturah slabše.



Slika 7: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus*) pri treh različnih temperaturah in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic. Črke v stolpcu pomenijo statistično značilne razlike med temperaturami za določeno raso, črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike med rasami znotraj ene temperature ($P < 0,05$, Student-Newman-Keuls-ov preizkus mnogoterih primerjav). B30- *Steinernema feltiae* rasa B30, C101 – *Steinernema carpocapsae* rasa C101, D54 – *Heterorhabditis bacteriophora* rasa D54.

4.1.2 Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na koncentracijo suspenzije entomopatogenih ogorčic

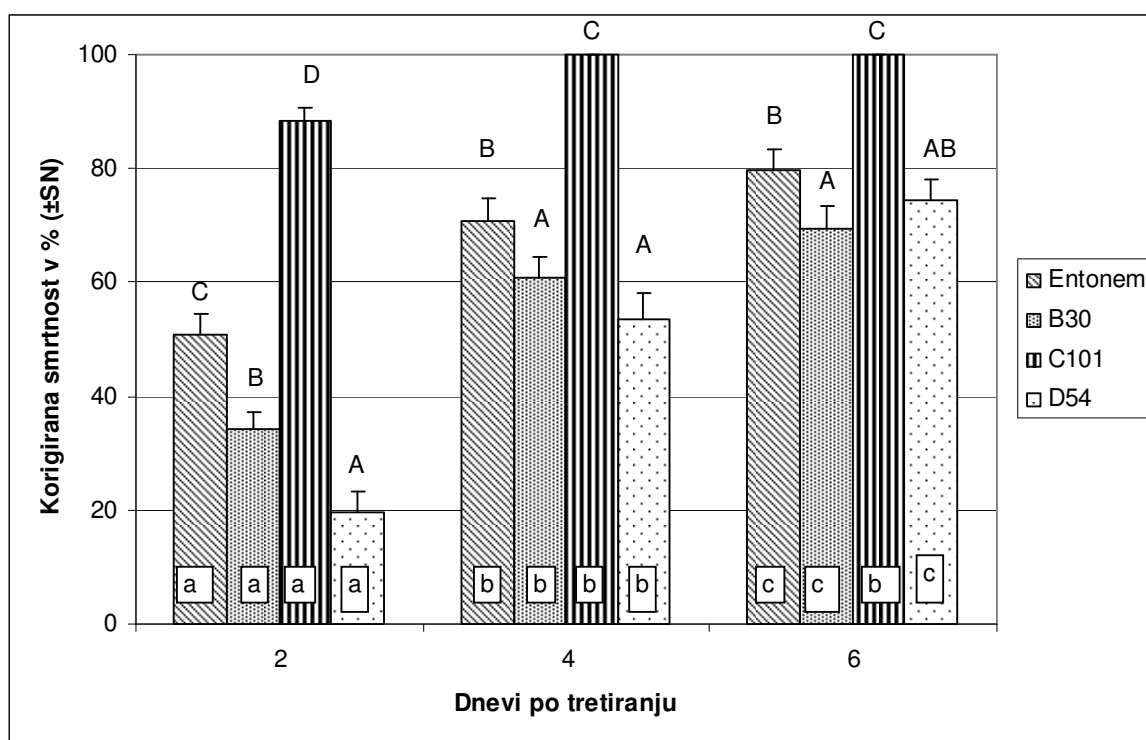
Učinkovitost rase *S. carpocapsae* C101 se statistično razlikuje od ostalih ras. Statistično značilno najvišjo učinkovitost omenjene rase smo zabeležili pri vseh koncentracijah suspenzije (povprečno 97 %). Med pripravkom Entonem in rasama B30 in D54 pri koncentraciji 250 IL/osebka nismo dokazali statistično značilnih razlik. Rasi B30 in D54 sta se statistično značilno razlikovali (78 %; 56 %) le pri koncentraciji 2000 IL/osebka, medtem ko pri ostalih koncentracijah teh dveh ras razlik ni bilo. Rase so se v smrti rdečega žitnega strgača med seboj statistično značilno najbolj razlikovale (84 %; 78 %, 98 %; 56 %) le pri koncentraciji 2000 IL/osebka.



Slika 8: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus*) pri štirih različnih koncentracijah suspenzije ogorčic in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic. Črke v stolpcu pomenijo statistično značilne razlike med koncentracijami za določeno raso, črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike med rasami znotraj ene koncentracije ($P < 0,05$, Student-Newman-Keuls-ov preizkus mnogoterih primerjav). B30- *Steinernema feltiae* rasa B30, C101 – *Steinernema carpocapsae* rasa C101, D54 – *Heterorhabditis bacteriophora* rasa D54.

4.1.3 Smrtnost rdečega žitnega strgača glede na dan po tretiranju

Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača se je pri vseh rasah, razen pri rasi C101, z dnevi statistično značilno povečevala. Statistično značilno najvišjo smrtnost (100 %) smo ugotovili že četrty dan po tretiranju pri rasi C101, medtem ko je bilo delovanje rase D54 signifikantno najslabše drugi dan (20 %). Učinkovitost rase C101 se je drugi dan (88 %) signifikantno razlikovala od četrtega in šestega dne (100 %). Smrtnost se je četrty dan pri rasah B30 (60 %) in D54 (54 %) signifikantno razlikovala od ostalih dveh ras (70 %; 100 %). Drugi dan so bile statistično značilno največje razlike v delovanju ras (50 %; 34 %; 86 %; 20 %).



Slika 9: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus*) v odvisnosti od časa po tretiranju in štirih preučevanih rasah entomopatogenih ogorčic. Črke v stolpcu pomenijo statistično značilne razlike med dnevi po tretiranju za določeno raso, črke nad stolpci pomenijo statistično značilne razlike med rasami znotraj dneva po tretiranju ($P < 0,05$, Student-Newman-Keuls-ov preizkus mnogoterih primerjav). B30 - *Steinernema feltiae* rasa B30, C101 - *Steinernema carpocapsae* rasa C101, D54 - *Heterorhabditis bacteriophora* rasa D54.

4.2 ANALITIČEN PREGLED REZULTATOV PO KONČNIH DEJAVNIKI

Statistično značilno najmanjša smrtnost rdečega žitnega strgača je bila ugotovljena v kontroli pri 15 °C, in sicer je smrtnost znašala $0,0 \pm 0,0$ % (2. dan), $0,64 \pm 0,35$ % (4. dan) in $9,50 \pm 2,92$ % (6. dan). Tudi pri 20 °C je bila smrtnost hroščev signifikantno najmanjša v kontrolnem obravnavanju: $4,82 \pm 2,16$ % (2. dan), $5,66 \pm 2,22$ % (4. dan) in $9,7 \pm 3,97$ % (6. dan). Pri 25 °C je bila naravna smrtnost odraslih osebkov preučevanega škodljivca prav tako signifikantno najmanjša v kontroli: $2,42 \pm 1,51$ % (2. dan), $6,06 \pm 2,55$ % (4. dan) in $35,59 \pm 10,86$ % (6. dan). V vseh obravnavanjih z entomopatogenimi ogorčicami je bila smrtnost hroščev signifikantno večja kot v kontroli, s katero smo korigirali ostala obravnavanja.

Drugi dan po tretiranju je bila dosežena najvišja smrtnost pri rasi *S. carpocapsae* C101 pri temperaturi 20 in 25 °C in najmanjša pri rasi *H. bacteriophora* D54 (15 in 20 °C), kjer je bila smrtnost manjša kot 4 % pri vseh koncentracijah suspenzije ogorčic (preglednica 3). Učinkovitost vrste *S. feltiae* v komercialnem pripravku Entonem je bila pri vseh treh temperaturah in koncentracijah suspenzije ogorčic višja (51 %) v primerjavi z učinkovitostjo slovenske domorodne rase B30, ki je dosegla le 34 % smrtnost. Pri nižji temperaturi je bila učinkovitost rase *S. carpocapsae* C101 najvišja (68 %) pri vseh koncentracijah suspenzije, medtem ko se je za najbolj učinkovito izkazala koncentracija 500 IL/osebek pri komercialnem pripravku Entonem (61 %).

Najvišjo smrtnost je četrti dan po tretiranju povzročil pripravek Entonem pri temperaturi 25 °C in koncentraciji 2000 IL/osebek in rasa *S. carpocapsae* C101, ki se je izkazala za najbolj učinkovito (100 %) pri vseh temperaturah in koncentracijah. Statistično značilno najnižjo smrtnost (20 %) smo zabeležili pri rasi *H. bacteriophora* D54 pri 15 °C. Vrsta *S. feltiae* je bila pri vseh treh temperaturah in vseh koncentracijah učinkovitejša v komercialnem pripravku Entonem (71 %) kot pa v domači rasi B30 (61 %). Pri najnižji temperaturi se je izkazala za zelo učinkovito rasa *S. carpocapsae* C101 (99 %) pri vseh koncentracijah suspenzije ogorčic. Več kot 80 % učinkovitost pri najnižji temperaturi je dosegel komercialni pripravek in slovenska rasa B30 pri koncentracijah 500 in 2000 IL/osebek.

Šesti dan po tretiranju smo statistično značilno najvišjo smrtnost ugotovili pri Entonem pripravku (25 °C in koncentracija 2000 IL/osebek), pri rasi *H. bacteriophora* D54 (25 °C in vse koncentracije suspenzije) in rasi *S. carpocapsae* C101. Slednja je povzročila 100 % smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača pri vseh temperaturah in koncentracijah suspenzije ogorčic. Najslabše rezultate je dala rasa B30, ki je bila vzrok smrtnosti v 69 % primerov. Pri 15 °C smo zabeležili več kot 90 % smrtnost pri rasi *S. carpocapsae* C101, komercialnem pripravku Entonem pri vseh koncentracijah suspenzije ogorčic in pri rasi *S. feltiae* B30 pri 250, 500 in 2000 IL/osebek. Komercialna in domača rasa *S. feltiae* sta pokazali večjo učinkovitost pri nižji temperaturi (15 °C) v laboratorijskih razmerah, medtem ko je rasa *H. bacteriophora* D54 pokazala najboljšo učinkovitost (100 %) pri najvišji temperaturi.

Statistično značilno je bila učinkovitost entomopatogenih ogorčic največja pri 25 °C (74 %), pri temperaturah 15 °C (64 %) in 20 °C (60 %) pa je bila signifikantno manjša. Rasa C101 se je pokazala za najučinkovitejšo (95 %) v primerjavi z ostalimi rasami vključenimi v laboratorijski poskus (Entonem 67 %; B30 54 %; D54 49 %). Obe preučevani rasi vrste *S. feltiae* sta bili učinkovitejši pri temperaturi 15 °C (70 %) kot pri višjih temperaturah, kjer je bila učinkovitost le 54 % (slika 7). Delovanje vrste *H. bacteriophora* D54 je bilo boljše pri najvišji (83 %), kot pri nižjih temperaturah (15 °C in 20 °C). Nižja koncentracija suspenzije ogorčic je povzročila le od 53 do 65 % smrtnost. Vse koncentracije ogorčic so bolje delovale pri 25 °C (74 %) kot pri 15 °C (64 %) in 20 °C (60 %). Najvišja smrtnost je bila šesti dan po apliciranju ogorčic (81 %) v primerjavi z drugim in četrtem dnevom, kjer je bila smrtnost osebkov le 71 in 48 %.

V našem poskusu smo določili tudi LC₅₀ in LC₉₀ vrednosti za vse štiri preučevane rase, pri vseh temperaturah za šesti dan. Rezultati so pokazali, da je imela rasa C101 najnižji vrednosti LC₅₀ (drugi dan pri 15 °C; 561 IL/osebek) in LC₉₀ (drugi dan pri 15 °C; 1398 IL/osebek) pri vseh treh temperaturah. Komerčni pripravek Entonem je imel najnižjo vrednost LC₅₀ in LC₉₀ pri 15 °C (šesti dan; 422 IL/osebek in 884 IL/osebek), medtem ko je rasa D54 dosegla najnižjo vrednost LC₅₀ (četrti dan; 375 IL/osebek) in LC₉₀ (četrti dan; 875 IL/osebek) pri najvišji temperaturi (preglednica 2).

Preglednica 3: Izračunane vrednosti LC₅₀ in LC₉₀ za različne vrste entomopatogenih ogorčic pri treh različnih temperaturah šesti dan po tretiranju.

		Entonem	B30	C101	D54
	15 °C	422 (0-2668)	866 (0-2011)	561 (254-868) ⁽²⁾	876 (551-1201)
LC ₅₀ ^z	20 °C	551 (207-896)	711 (497-924)	-(²)	671 (386-956)
(95 % IZ) ^y	25 °C	664 (372-955)	877 (566-1187)	-(²)	375 (0-2573) ⁽⁴⁾
	15 °C	884 (438-1286)	938 (606-1269)	1398 (1062-1733) ⁽²⁾	1347 (689-2004)
LC ₉₀ ^z	20 °C	1269 (946-1592)	1479 (1200-1758)	499 (70-927) ⁽²⁾	1257 (957-1558)
(95 % IZ) ^y	25 °C	1141 (868-1414)	1228 (786-1671)	-(²)	875 (467-1283) ⁽⁴⁾

^z LC₅₀ in LC₉₀ izražena kot število infektivnih ličink na odraslega osebk

^y interval zaupanja (IZ) je zapisan v oklepaju

⁽²⁾ 100% smrtnost drugi dan po tretiranju

⁽⁴⁾ 100% smrtnost četrti dan po tretiranju

Preglednica 4: Smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača po tretiranju z različnimi rasami in koncentracijami ogorčic pri 15, 20 in 25 °C na 2., 4. in 6. dan po tretiranju. Podatki so korigirani z Abbottovo formulo.

Rasa ogorčic	Dan po tretiranju	15 °C				20 °C				25 °C			
		Koncentracija ogorčic (IL/osebek)											
		250	500	1000	2000	250	500	1000	2000	250	500	1000	2000
Entonem	2	46,0 ±8,7	62,0 ±4,9	42,0 ±3,7	50,0 ±6,3	29,0 ±3,2	17,9 ±14,0	60,5 ±0,0	63,2 ±4,9	3,3 ±3,3	66,7 ±14,3	80,6 ±7,1	88,9 ±5,2
	4	86,0 ±5,1	82,0 ±7,4	88,0 ±3,7	94,0 ±2,5	40,5 ±5,4	29,7 ±11,6	81,0 ±3,3	78,4 ±9,2	2,4 ±2,4	76,5 ±10,0	91,2 ±5,9	100,0 ±0,0
	6	97,3 ±2,7	91,9 ±3,3	91,9 ±3,3	97,3 ±2,7	52,8 ±5,6	52,8 ±11,3	91,7 ±3,4	88,9 ±6,8	12,4 ±4,2	85,3 ±9,3	94,1 ±5,9	100,0 ±0,0
<i>S. felitiae</i> B30	2	6,0 ±4,0	38,0 ±8,6	40,0 ±4,5	46,0 ±8,1	4,4 ±2,6	24,4 ±7,1	41,5 ±4,6	68,3 ±10,6	35,9 ±15,5	32,4 ±5,9	35,3 ±5,9	38,8 ±14,6
	4	78,7 ±6,7	85,1 ±2,6	70,2 ±8,5	87,2 ±6,2	17,5 ±5,0	35,0 ±4,7	47,5 ±8,3	85,0 ±10,0	54,5 ±13,6	48,5 ±3,7	57,6 ±8,8	63,6 ±13,2
	6	90,5 ±6,9	92,9 ±2,9	83,8 ±7,1	92,8 ±4,8	30,6 ±6,2	58,3 ±6,2	61,1 ±12,0	97,2 ±2,8	37,1 ±18,3	47,6 ±4,8	71,4 ±13,9	71,4 ±13,8
<i>S. carpocapsae</i> C101	2	34,0 ±4,0	72,0 ±5,8	80,0 ±4,5	86,0 ±4,0	87,5 ±2,1	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0
	4	98,0 ±2,0	100,0 ±0,0	98,0 ±2,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0
	6	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0
<i>H. bacteriophora</i> D54	2	2,0 ±2,0	0,0 ±0,0	2,0 ±2,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	1,6 ±1,6	1,6 ±1,6	3,3 ±2,0	51,0 ±7,5	63,3 ±8,9	69,4 ±10,7	40,8 ±3,8
	4	14,0 ±5,1	26,0 ±7,5	12,0 ±5,8	18,0 ±5,8	34,1 ±6,2	26,8 ±6,7	51,2 ±6,7	78,0 ±8,1	97,1 ±2,9	91,4 ±3,5	94,3 ±3,5	97,1 ±2,9
	6	48,8 ±7,0	60,4 ±2,9	41,9 ±8,2	69,8 ±10,8	27,3 ±11,1	72,7 ±11,1	77,3 ±7,2	95,4 ±4,6	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0	100,0 ±0,0

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Rezultati naše raziskave kažejo, da je smrtnost odraslih osebkov rdečega žitnega strgača (*Oulema melanopus* [L.]) najbolj odvisna od temperature, nanjo pa vplivajo tudi koncentracija suspenzije ogorčic, rasa ogorčic in dan po tretiranju. Vse štiri preučevane rase (B30, C101, D54 in Entonem) so povzročile najvišjo smrtnost osebkov (81 %) šest dni po tretiranju in pri najvišji koncentraciji suspenzije ogorčic (78 %). Od preučevanih ras je bila najbolj učinkovita rasa *S. carpocapsae* C101, ki je povzročila 96 % smrtnost hroščev. Po drugi strani pa je rasa *H. bacteriophora* povzročila le 49 % smrtnost preučevanih žuželk.

Primerjava med rasama vrste *S. feltiae* kaže, da je komercialni pripravek Entonem učinkovitejši od slovenske rase B30 (67 % in 54 %). Pri 15 in 20 °C je bila zabeležena nižja smrtnost hroščev, kot pri temperaturi 25 °C, kar je v skladu z dosedanjimi slovenskimi raziskavami (Trdan in sod., 2006, 2009), medtem ko je rasa *H. bacteriophora* D54 povzročila najvišjo smrtnost pri višji temperaturi, kar pa se tudi ujema z rezultati sorodnih raziskav (Trdan in sod., 2008). Rasa *S. carpocapsae* C101 je bila najbolj učinkovita pri vseh treh temperaturah.

Zatiranje škodljivcev s foliarno aplikacijo entomopatogenih ogorčic je vse bolj razširjeno (Broadbent in Olthof, 1995). Za prezimni stadij rdečega žitnega strgača je priporočljiva aplikacija suspenzije ogorčic *S. feltiae* in *S. carpocapsae*, saj naš poskus kaže, da dosežeta ti vrsti najvišjo učinkovitost pri 15 °C. Prvi odrasli osebki se v srednji in južni Evropi pojavljajo v prvi polovici aprila, ko so noči še relativno sveže (Stamenković, 2004). V poskusu se je visoka koncentracija suspenzije izkazala za najučinkovitejšo, vendar pa je bila relativno zadovoljiva tudi učinkovitost pri nižji koncentraciji (od 53 do 65 %).

Iz podatkov je razvidno, da so nekatere vrste ogorčic enako dobro delovale tako pri nižji kot pri višji koncentraciji. To je z vidika gospodarnosti uporabe biotičnega zatiranja škodljivcev še posebno pomembno. Vseeno pa ne smemo pozabiti na pomembno dejstvo, da laboratorijski rezultati niso vedno primerljivi s poljskimi poskusi (Cantelo in Nickle, 1992), saj je učinkovitost entomopatogenih ogorčic na prostem odvisna še od mnogih drugih dejavnikov. V podobnem poskusu je bila vrsta *S. carpocapsae* 100 % učinkovita pri zatiranju ličink, bub in odraslih osebkov koloradskega hrošča, le 31 % učinkovitost pa je dosegla, ko so njeno delovanje preizkušali na prostem (Stewart in sod., 1998).

Nekaj predhodnih raziskav učinkovitosti ogorčic na hrošče (Trdan in sod., 2006) kaže, da bi lahko bila uporaba entomopatogenih ogorčic v precejšnji meri alternativa dosednji uporabi insekticidov. Ob ustrezni aplikaciji entomopatogenih ogorčic je namreč lahko stopnja umrljivosti ciljnih organizmov (škodljivcev) večja kot pri uporabi kemičnih sredstev (Schroer in sod., 2005).

V Sloveniji je s Pravilnikom o biotičnem varstvu rastlin (2006) prepovedan vnos tujerodnih organizmov v naravno okolje. Sedaj, ko so entomopatogene ogorčice izgubile omenjeni status pri nas, bo mogoča njihova uporaba tudi na prostem; vendar pa le uporaba tistih vrst ogorčic, katerih zastopanost je bila dokazana v naših tleh. Odkritje ene vrste ne posplošuje uporabe vseh vrst, kljub temu, da so številne raziskave v tujini pokazale, da

vnos tujerodne vrste ogorčic negativno ne vpliva na okolje, lahko pa vnos tujerodne vrste zmanjšuje učinkovitost domorodnih vrst ogorčic (Barbercheck in Kaya, 1991). Pričakujemo, da bodo imeli avtohtoni biotični agensi v prihodnosti tudi v Sloveniji precejšen pomen v biotičnem varstvu rastlin pred gospodarsko škodljivimi hrošči.

6 POVZETEK

Rdeči žitni strgač (*Oulema melanopus* [L.]) spada med najpomembnejše škodljivcev žit pri nas. Žuželka je bolj ali manj stalni škodljivec in povzroča v zadnjih letih čedalje večjo škodo. Pridelovalci žit tako posegajo po insekticidih, pri čemer nemalokrat pretiravajo z njihovo uporabo. V zadnjem času vse bolj prihajajo v ospredje naravi prijaznejše metode zatiranja škodljivih organizmov. Med njimi je tudi biotično zatiranje škodljivih žuželk z entomopatogenimi ogorčicami.

V entomološkem laboratoriju na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo smo preučevali učinkovitost treh slovenskih ras entomopatogenih ogorčic, *Steinernema feltiae* B30, *S. carpocapsae* C101 in *Heterorhabditis bacteriophora* D54 in komercialnega pripravka Entonem za zatiranje odraslih osebkov rdečega žitnega strgača. Njihovo učinkovitost smo preučevali pri petih koncentracijah (0- kontrola, 2500, 5000, 10000 in 20000 IL/ml destilirane vode), pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in stalni relativni zračni vlagi (70 %).

Odrasle osebkve rdečega žitnega strgača smo s pomočjo metuljnice nalovili na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Rase *Steinernema carpocapsae* C101, *S. feltiae* B30 in *H. bacteriophora* D54 smo za namen naše raziskave razmnožili v Entomološkem laboratoriju Biotehniške fakultete, komercialni pripravek Entonem pa smo naročili pri podjetju Koppert Biological System iz Nizozemske.

Ugotovili smo, da je učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju odraslih osebkov rdečega žitnega strgača v večji meri odvisna od temperature kot od koncentracije suspenzije. Dejstvo, da koncentracija ogorčic nima tako velikega vpliva na smrtnost hrošča, je ugodno predvsem z vidika gospodarnosti, kar predstavlja prednost v biotičnem varstvu rastlin.

Vse štiri preučevane rase so povzročile najvišjo smrtnost osebkov šest dni po tretiranju, in sicer v 81 % primerov. Visoka koncentracija se je izkazala za najučinkovitejšo, vendar pa je bila zadovoljiva tudi učinkovitost pri nižji koncentraciji. Od preučevanih vrst je bila najbolj učinkovita rasa *S. carpocapsae* C101, ki je povzročila 96 % smrtnost hroščev. Po drugi strani pa je vrsta *H. bacteriophora* povzročila le 49 % smrtnost preučevanih žuželk.

Primerjava med rasama vrste *S. feltiae* kaže, da je komercialni pripravek Entonem učinkovitejši od slovenske rase B30. Rasa *H. bacteriophora* D54 je povzročila najvišjo smrtnost pri višji temperaturi. Pri 15 in 20 °C je bila zabeležena nižja smrtnost kot pri temperaturi 25 °C. Vrsta *S. carpocapsae* C101 je bila najbolj učinkovita pri vseh treh temperaturah in koncentracijah.

Danes, ko je uporaba entomopatogenih ogorčic *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. kraussei* in *H. bacteriophora* dovoljena na prostem tudi pri nas (Laznik in Trdan, 2008a, 2008b; Laznik in sod., 2008a, 2008b, 2009c), ni več ovir, da se tudi raziskave ne bi prenesle na prosto. Vendar se moramo zavedati, da učinkovitost, dosežena v laboratorijskih raziskavah ni primerljiva s tisto na prostem.

5 VIRI

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267
- Akalach M., Wright D.J. 1995. Control of the larvae of *Conorhynchus mendicus* (Col.: Curculionidae) by *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* (Nematoda, Steinernematidae) in the Gharb area (Morocco). *Entomophaga*, 40: 321-327
- Anderson A.R.A., Young I.M., Sleeman B.D., Griffiths B.S., Robertson W.M. 1997. Nematode movement along chemical gradient in a structurally heterogeneous environment. 1. Experiment. *Fundamental Applied Nematology*, 20: 157-163
- Barbercheck M.E., Kaya H.K. 1991. Competitive interactions between entomopathogenic nematodes and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in soilborne larvae of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 20: 707-712
- Bedding R.A., Akhurst R.J. 1975. Simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-110
- Belair G., Fournier Y., Dauphinais N. 2003. Efficacy of steinernematid nematodes against three insect pests of crucifers in Quebec. *Journal of Nematology*, 35: 259-265.
- Broadbent A.B., Olthof Th.H.A. 1995. Foliar application of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) to control *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae in chrysanthemums. *Environmental Entomology*, 24: 431-435
- Burnell A.M., Stock S.P. 2000. Heterorhabditis, Steinernema and their bacterial symbionts – lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2, 1: 31-42
- Cabanillas H.E., Poinar G.O.J., Raulston J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Steinernematidae and Heterorhabditidae) infective-stage jumping behaviour. *Nematology*, 4: 471-482
- Campbell J. F., Lewis E. E., Stock S. P., Nadler S., Kaya H. K. 2003. Evolution of host search strategies in entomopathogenic nematodes (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology*, 35: 142-145
- Cantelo W.W., Nickle W.R. 1992. Susceptibility of prepupae of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Entomological Science*, 27: 37-43
- Chen S., Li J., Han X., Moens M. 2003. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. *BioControl*, 48, 713-724
- Converse V., Grewal P.S. 1998. Virulence of entomopathogenic nematodes to the western masked chafer *Cyclocephala hirta* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 91: 428-432
- Costello B. 2003. European Chafer – A new turf pest. British Columbia Ministry of Agriculture, Food and Fisheries (information leaflet)
- Eidt D.C., Thurston G.S. 1995. Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworms (Coleoptera: Elateridae) and other soil insects. *The Canadian Entomologist*, 127: 423-429
- Fischer-Le Saux M., Viillard V., Brunel B., Normand P., Boemare N.E. 1999. Polyphasic classification of the genus *Photorhabdus* and proposal of new taxa: *P. luminescens* subsp. *luminescens* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *akhurstii* subsp. nov., *P.*

- luminescens* subsp. *laumondii* subsp. nov., *P. temperate* sp. nov., *P. temperate* subsp. *temperate* subsp. nov and *P. asymbiotica* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 49: 1645-1656
- Fito-Info: Slovenski informacijski sistem za zdravstveno varstvo rastlin. 2008. Inštitut za fitomedicino
<http://www.fito-info.si> (18. jul. 2009)
- Forst S., Dowds B., Boemare N. E., Stackebrandt E. 1997. *Xenorhabdus* spp. and *Photorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. Annual Review of Microbiology, 51: 47-72
- Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Paravarapu S. (ed). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14
- Gaugler R. 2002. Entomopathogenic Nematology. New Jersey, CABI Publishing: 372 str.
- Gaugler R., Boush G. M. 1978. Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the entomopathogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*. Journal of Invertebrate Pathology, 32: 291-296
- Gaugler R., Wang Y.I., Campbell J.F. 1994. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: Defenses against entomopathogenic nematode attack. Journal of Invertebrate Pathology, 64: 193-199
- Georgis R., Kaya H.K., Gaugler R. 1991. Effect of steinernematid and Heterorhabditis nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on non-target arthropods. Environmental Entomology, 20: 814-822
- Glogoza P. 2002. Cereal Leaf Beetle, *Oulema melanopus* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae)
<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/pests/e1230.pdf> (18. jul. 2009)
- Grewal P.S., Selvan S., Gaugler R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. Journal of Thermal Biology, 19: 245-253
- Grewal P.S., Grewal S.K., Malik V.S., Klein M.G. 2002. Differences in susceptibility of introduced and native white grub species to entomopathogenic nematodes from various geographic localities. Biological Control, 24: 230-237
- Grewal P.S., Power K.T., Grewal S.K., Suggars A., Haupricht S. 2004. Enhanced consistency in biological control of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) with new strains of entomopathogenic nematodes. Biological Control, 30: 73-82
- Hazir S., Kaya H.K., Stock S.P., 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 P.J., Richardson P.N., Edmonson R.N. 1995. Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande) pupae in compost. Annals of Applied Biology, 127: 405-412
- Hominick W.M. 2002. Biogeography.V: Entomopathogenic Nematology. Gaugler R (ed). Wallingford, CABI Publishing: 115-143
- Howe R.W. 1965. A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population increase of some stored products insects. Journal of Stored Product Research, 1: 177-184
- Hui E., Webster D.J. 2000. Influence of insect larvae and seedling roots on the host-finding ability of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology, 75: 152-162

- Ileleji K.E., Maier D.E., Woloshuk C.P. 2004. Maize Weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) adult Survival, reproduction and control in stored corn under three temperature management strategies (Summer 2003 Pilot-Bin Trials). 2004 International Quality Grains Conference Proceedings: 1-11
- Jackson J.J. 1996. Field performance of entomopathogenic nematodes for suppression of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 89: 366-372
- Kaya H.K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hoddle M.S. (ed). California, Riverside: 38-46
- Kaya K.H. 2002. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R. (ed). Oxon, CAB International: 189-203
- Kaya H.K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annals of Entomology*, 38: 181-206
- Kaya H.K., Burlando T.M., Thurston G.S. 1993. Two entomopathogenic nematode species with different search strategies for insect suppression. *Environmental Entomology*, 22: 859-864
- Kaya K.H., Koppenhöfer A.M., Johnson M. 1998. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. *Japanese Journal of Nematology, Special Issue*, 28: 13-21
- Kaya K.H., Koppenhöfer A.M. 1999. Biology and ecology of insectidal nematodes. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 1-8
- Klein M. G. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. Entomopathogenic nematodes in biological control. (Gaugler R., Kaya H.K. (eds.)). Boca Raton, FL, CRC Press: 195-214
- Koppenhöfer A.M. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kaya H.K. (ed.). The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 283-301
- Koppenhöfer A.M., Kaya H.K. 2001. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. V: Microbial-biopesticides. Koul O., Dhaliwal G. S. (eds.). New York, Taylor and Francis: 277-305
- Koppenhöfer A.M., Kaya H.K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. *Microbial-biopesticides*, 15: 277-305
- Koppenhöfer A.M., Fuzy E.M. 2007. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *H. bacteriophora*. *Applied Soil Ecology*, 35: 128-139
- Laznik Ž., Trdan S. 2007a. Entomopatogene ogorčice – biotični agensi za zatiranje žuželk iz reda Coleoptera. *Acta agriculturae Slovenica*, 89: 173-187
- Laznik Ž., Trdan S. 2007b. Po prvi najdbi entomopatogenih ogorčic v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6.-7. marec 2007. Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 99-106
- Laznik Ž., Trdan S. 2008a. Entomopathogenic and entomoparasitic nematodes as biological control agents of thrips. *Acta phytopathologica et entomologica Hungarica* 43, 2: 317-322
- Laznik Ž., Trdan S. 2008b. Entomopatogene ogorčice, naravni sovražniki nadzemskih škodljivcev kapusnic. *Acta agriculturae Slovenica*, 91: 227-237

- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2008a. 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., Trdan S. 2008b. Practical use of entomopathogenic nematodes in Slovenia. V: Novi izzivi v poljedelstvu, proceedings of symposium, Rogaška Slatina, 4. – 5. december: 287 – 293
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009a. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. *Helminthologia*, 46, 2: 135-138
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009b. First record of a cold-active entomopathogenic nematode *Steinernema kraussei* (Steiner) (Rhabditida: Steinernematidae) in Slovenia. *Acta Agriculturae Slovenica*, 93, 1: 37-42
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009c. *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) – the first member from Heterorhabditidae family in Slovenia. *Acta Agriculturae Slovenica*, 93, 2: 181-187
- Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Trdan S. 2009d. First field experiment with entomopathogenic nematodes in Slovenia. V: Ehlers, R.-U. (ed.). 12th Meeting [of the] »Future research and development in the use of microbial agents and nematodes for biological insect control«, Pamplona (Spain), 22-25 June, 2009: IOBC/WPRS Working group »Insect pathogens and insect parasitic nematodes«: COST Action 862 »Bacterial toxins for insect control«: 361-364
- LeBeck L.M., Hara A.H., Kaya H.K., Gaugler R., Mello C.L. 1993. Entomopathogenic nematodes for biological control of the leafminer, *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). *BioControl*, 38: 359-369
- Macelj M. 1999. Poljoprivredna entomologija. Čakovec, Zrinski: 464 str.
- MacVean C.M., Brewer J.W., Capinera J.L. 1982. Field test of antidesiccants to extend the infection period of an entomogenous nematode, *Neoplectana carpocapsae*, against the Colorado potato beetle. *Journal of Economic Entomology*, 75: 97-101
- Milevoj L. 2002. Biotično varstvo solatnic. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 6: 282-283
- Milevoj L. 2007. Kmetijska entomologija: splošni del. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 182 str.
- O'Leary S., Power A.P., Stack C.M., Burnell A.M. 2001. Behavioural and physiological responses on infective juveniles of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* to desiccation. *BioControl*, 46: 345-362
- Olfert O., Weiss R.M., Woods S., Philip H., Dossall L. 2004. Potential distribution and relative abundance of an invasive cereal crop pest, *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae), in Canada. *Canadian Entomologist*, 136: 277-287
- Peters A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 389-402
- Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin. (Ur. l. RS, št. 45/06)
http://www.furs.si/law/slo/zvr/Biot_varstvo.asp (18. jul. 2009)
- Ramos-Rodriguez O., Campbell J.F., Ramaswamy S.B. 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research*, 42: 241-252
- Rasmann S., Köllner T.G., Degenhardt J., Hiltpold I., Toepfer S., Kuhlmann U., Gershenson J., Turlings T.C.J. 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434: 732-737

- Schroer S., Sulistyanto D., Ehlers R.U. 2005. Control of *Plutella xylostella* using polymer-formulated *Steinernema carpocapsae* and *Bacillus thuringensis* in cabbage fields. *Journal of Applied Nematology*, 129, 4: 198-204
- Shapiro-Ilan D.I., Jackson M., Reilly C.C., Hotchkiss M.W. 2004. Effects of combining an entomopathogenic nematodes on mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 30: 119-126
- Sklep o spremembi statusa tujerodnega organizma za biotično varstvo rastlin: št. 3430-9/2008/5. 2008a. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 2 str. (interno gradivo)
- Sklep o spremembi statusa tujerodnega organizma za biotično varstvo rastlin: št. 3430-583/2008/2. 2008b. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano: 2 str. (interno gradivo)
- Smart G.C. Jr. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Journal of Nematology*, 27, 4: 529-534
- Stackebrandt E., Ehlers R.U., Rainey F.A. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: are they sister genera or are their members phylogenetically intertwined? *Symbiosis*, 22: 59-65
- Stamenković S. 2000. Žitna pijavica i dalje značajna štetočina strnih žita. *Biljni lekar*, 2-3: 112-115
- Stamenković S. 2004. Occurrence and damage of cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* L.). *Biljni lekar*, 32: 124-127
- Statistični urad Republike Slovenije. Pridelava poljščin (ha, t, t/ha), Slovenija
<http://www.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp> (22. jul. 2009)
- Stewart J.G., Boiteau G., Kimpinski J. 1998. Management of late-season adults of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with entomopathogenic nematodes. *Canadian Entomologist*, 130: 509-514
- Svendsen T.S., Steenberg T. 2000. The potential use of entomopathogenic nematodes against *Typhaea stercorea*. *Biocontrol*, 45: 97-111
- Šalamun M. 1996. Proučevanje žitnega strgača (*Oulema* spp.) v posevkih pšenice v Sloveniji. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 73 str.
- Trdan M., Trdan S., Milevoj L. 1998. Žitni strgač (*Oulema* spp.) v pšenici. *Sodobno kmetijstvo*, 31, 1: 16-23
- Trdan S. 2000. Opisi organizmov-opis organizmov z opisi: Rdeči žitni strgač (*Oulema melanopus* L.). *Fito-Info: Slovenski informacijski sistem za zdravstveno varstvo rastlin*.
<http://www.fito-info.si> (18. jul. 2009)
- Trdan S., Valič N., Urek G., Milevoj L. 2005. Concentration of suspension and temperature as factors of pathogenicity of entomopathogenic nematodes for the control of granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Acta agriculturae Slovenica*, 85: 117-124
- Trdan S., Vidrih M., Valič N. 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113: 168-173
- Trdan S., Žnidarčič D., Vidrih M. 2007. Control of *Frankliniella occidentalis* on greenhouse-grown cucumbers: an efficacy comparison of foliar application of

- Steinernema feltiae* and spraying with abamectin. Russian Journal of Nematology, 15: 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 Agriculturae Scandinavica Section B – Soil and Plant Science, 58: 169-175
- Trdan S., Vidrih M., Andjus L., Laznik Ž. 2009. Activity of four entomopathogenic nematode species against different developmental stages of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae). Helminthologia, 46: 14-20
- van der Burgt W.A.C.M., Budai C., Fodor A., Lucskai A. 1998. Parasitism of western corn rootworm adults by *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society, 9: 165-170
- Vrabl S. 1986. Posebna entomologija: škodljivci poljščin. Ljubljana, BF VTOZD za agronomijo: 145 str.
- Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 142 str.
- Willmott D.M., Hart A.J., Long S.J., Richardson P.N., Chandler D. 2002. Susceptibility of cabbage root fly *Delia radicum*, in potted cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis) to isolates of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) indigenous to the UK. Nematology, 4: 965-970

ZAHVALA

Ob zaključku diplomskega dela bi se iskreno zahvalila svojemu mentorju izr. prof. dr. Stanislavu Trdanu za vodenje, spodbudo in vsestransko pomoč.

Žigu Lazniku se zahvaljujem za potrpežljivost, spodbudo in vso pomoč pri izdelavi diplomskega dela.

Posebna zahvala gre Mariji in Matjažu, ki sta verjela vame ter vsem domačim za spodbudo in potrpežljivost v času študija.