

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Simona PERME

**UGOTAVLJANJE UČINKOVITOSTI
ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (RHABDITIDA) ZA
ZATIRANJE NADZEMSKIH ŠKODLJIVCEV VRTNIN**

MAGISTRSKO DELO

Ljubljana, 2005

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Simona PERME

**UGOTAVLJANJE UČINKOVITOSTI ENTOMOPATOGENIH
OGORČIC (RHABDITIDA) ZA ZATIRANJE NADZEMSKIH
ŠKODLJIVCEV VRTNIN**

MAGISTRSKO DELO

**TESTING THE EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES
(RHABDITIDA) AGAINST FOLIAR PESTS OF VEGETABLES**

M.Sc. THESIS

Ljubljana, 2005

Magistrsko delo je bilo opravljeno na Katedri za entomologijo in fitopatologijo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Poskus je bil opravljen v entomološkem laboratoriju na Katedri za entomologijo in fitopatologijo.

Biotehniška fakulteta je na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani in po sklepu senata Biotehniške fakultete z dne 20.12.2004, sprejela temo magistrskega dela in za mentorja imenovala doc. dr. Stanislava Trdana in za somentorico prof. dr. Leo Milevoj.

Komisija za oceno in zagovor:

- Predsednik: prof. dr. Jože Osvald
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo
- Član: doc. dr. Stanislav Trdan
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo
- Član: prof. dr. Lea Milevoj
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo
- Član: prof. dr. Emilija Raspudić
Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Simona PERME

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Md
DK	UDK 632.651:632.7:632.937.1(043)
KG	entomopatogene ogorčice / <i>Steinernema feltiae</i> / <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> / <i>Heterorhabditis megidis</i> / <i>Steinernema carpocapsae</i> / nadzemski škodljivci / <i>Frankliniella occidentalis</i> / <i>Trialeurodes vaporariorum</i> / <i>Leptinotarsa decemlineata</i> / laboratorijske razmere / biotično varstvo / učinkovitost
KK	AGRIS H01/H10
AV	PERME, Simona
SA	TRDAN, Stanislav (mentor)/MILEVOJ, Lea (somentorica)
KZ	SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2005
IN	UGOTAVLJANJE UČINKOVITOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC (RHABDITIDA) ZA ZATIRANJE NADZEMSKIH ŠKODLJIVCEV VRTNIN
TD	Magistrsko delo
OP	XIII, 89 str., 4 pregl., 31 sl., 57 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V laboratorijskem poskusu smo v gojitveni komori proučevali učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic (<i>Steinernema feltiae</i>, <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>, <i>Heterorhabditis megidis</i>, <i>Steinernema carpocapsae</i>) za zatiranje nadzemskih škodljivcev, in sicer ličink cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande], Thysanoptera, Thripidae), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood], Homoptera, Aleyrodidae) in ličink koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say], Coleoptera, Chrysomelidae). Njihovo učinkovitost za zatiranje nadzemskih škodljivcev smo ugotavljali pri različnih koncentracijah ogorčic (infektivnih ličink) (500, 1000, 5000 IL/ml destilirane vode) v suspenziji. Poskus smo izvajali pri različnih temperaturah (15°C, 20°C in 25°C), stalni zračni vlagi (95 %) in pri razmerju med svetlobo in temo 4 : 20. Vse štiri vrste entomopatogenih ogorčic so bile uspešne pri zatiranju vseh treh vrst nadzemskih škodljivcev. V učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev obstajajo razlike. Na učinkovitost proučevanih biotičnih agensov za zatiranje škodljivih žuželk vpliva vrsta žuželk, razen pri vrsti <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 5. dan po aplikaciji ogorčic, in temperatura okolja, razen pri ogorčici <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> 3. dan po aplikaciji ter koncentracija ogorčic, razen pri ogorčicah <i>Steinernema feltiae</i> 5. dan po aplikaciji in pri ogorčicah <i>Heterorhabditis megidis</i> in <i>Steinernema carpocapsae</i>.

WORDS DOKUMENTATION

DN	Md
DC	UDC 632.651:632.7:632.937.1(043)
CX	entomopathogenic nematodes / <i>Steinernema feltiae</i> / <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> / <i>Heterorhabditis megidis</i> / <i>Steinernema carpocapsae</i> / foliar pests / <i>Frankliniella occidentalis</i> / <i>Trialeurodes vaporariorum</i> / <i>Leptinotarsa decemlineata</i> / laboratory condition / biological control / efficacy
CC	AGRIS H01/H10
AU	PERME, Simona
AA	TRDAN, Stanislav (supervisor)/MILEVOJ, Lea (co- supervisor)
PP	SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY	2005
TI	TESTING THE EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (RHABDITIDA) AGAINST FOLIAR PESTS OF VEGETABLES
DT	M. Sc. Thesis
NO	XIII, 89 p., 4 tab., 31 fig., 57 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	A laboratory bioassay was carried out in a breeding chamber, aiming at examining the efficacy of four species of entomopathogenic nematodes (<i>Steinernema feltiae</i>, <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>, <i>Heterorhabditis megidis</i>, <i>Steinernema carpocapsae</i>) for the control of foliar pests, namely larvae of western flower thrips (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande], Thysanoptera, Thripidae), adults of greenhouse whitefly (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood], Homoptera, Aleyrodidae) and larvae of Colorado potato beetle (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say], Coleoptera, Chrysomelidae). The efficacy as to the control of foliar pests was established at different concentrations of nematodes (infective juveniles) (500, 1000, 5000 IL/ml of distilled water) in the suspension. Testing material was subjected to different temperatures (15°C, 20°C and 25°C), standard air humidity (95 %) and light : dark period ratio of 4 : 20. All four species of entomopathogenic nematodes proved successful in the control of all three species of foliar pests, however with different efficacy. Efficacy of the examined biological agents for the suppression of pests depends on the pest species with the exception of the species <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> on the fifth day following that of the application of nematodes, and on the air temperature, with the exception of the species <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> on the third day following that of the application of nematodes, and on the concentration of nematodes, with the exception of the species <i>Steinernema feltiae</i> on the fifth day following that of the application of nematodes and of the species <i>Heterorhabditis megidis</i> and <i>Steinernema carpocapsae</i>.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	IX
Kazalo slik	X
Okrajšave in simboli	XIII
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA DELO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.3 CILJ RAZISKAVE	2
2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV	3
2.1 ZGODOVINA UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	3
2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC, UPORABLJANIH V BIOTIČNEM VARSTVU RASTLIN	3
2.2.1 Deblo Nemata	4
2.2.2 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu <i>Steinernema</i>	4
2.2.2.1 <i>Steinernema carpocapsae</i>	4
2.2.2.2 <i>Steinernema feltiae</i>	5
2.2.3 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu <i>Heterorhabditis</i>	5
2.2.3.1 <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	5
2.2.3.2 <i>Heterorhabditis megidis</i>	5
2.3 ANATOMIJA	6
2.3.1 Telesna stena	6
2.3.2 Somatsko mišičje in prebavni trakt	6
2.3.3 Čutni organi	6
2.3.3.1 Ustnične papile in sete na glavi	6
2.3.3.2 Spolne bradavice (papile) samcev, dieridi in amfide	7
2.4 ODNOS MED OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI	7
2.4.1 Načini parazitiranja	8
2.4.2 Obramba žuželk pred parazitiranjem ogorčic	8
2.4.3 Gostitelji entomopatogenih ogorčic v naravi	9
2.5 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	10
2.5.1 Dvospolniki in enospolniki	13
2.5.2 Razlike med družinama <i>Heterorhabditidae</i> in <i>Steinernematidae</i>	13
2.6 SIMBIONTSKE BAKTERIJE	14
2.6.1 Sistematika	14
2.6.2 Rod <i>Xenorhabdus</i>	14
2.6.3 Rod <i>Photorhabdus</i>	14

2.6.4	Razlike med rodovima <i>Xenorhabdus</i> in <i>Photorhabdus</i>	14
2.6.5	Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije	15
2.6.6	Razmnoževanje simbiotskih bakterij	16
2.6.7	Virulentnost bakterij in vloga ogorčic	16
2.6.8	Bakterijski metabolizem in simbioza entomopatogenih ogorčic in bakterij	16
2.7	UČINKOVITOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	17
2.8	DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	19
2.8.1	Abiotični dejavniki	20
2.8.1.1	Odpornost na mraz	21
2.8.1.2	Odpornost na vročino	21
2.8.1.3	UV svetloba	22
2.8.1.4	Odpornost na sušo	22
2.8.1.5	Odpornost na osmozo	23
2.8.1.6	Kisik	23
2.8.1.7	pH in slanost tal	23
2.8.1.8	Hkratna uporaba entomopatogenih ogorčic in fitofarmacevtskih sredstev	24
2.8.2	Biotični dejavniki	24
2.8.2.1	Antibioza	24
2.8.2.2	Kompetitorji	25
2.8.2.3	Naravni sovražniki	26
2.8.2.4	Vsejedci in mrhovinarji	27
2.8.3	Notranji dejavniki	27
2.8.3.1	Vertikalno in horizontalno premikanje	27
2.8.3.2	Aktivno in pasivno premikanje	27
2.8.3.3	Načini iskanja gostitelja	27
2.8.3.4	Nihanje telesa	28
2.8.3.5	Skakanje	28
2.9	PROIZVODNJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	29
2.9.1	Gojenje »in vivo«	29
2.9.2	Gojenje »in vitro«	30
2.9.2.1	Trdo gojišče	30
2.9.2.2	Tekoče gojišče	30
2.10	FORMULACIJA OGORČIC	30
2.10.1	Formulacija za shranjevanje in transport	31
2.10.2	Formulacije za povečanje učinkovitosti po aplikaciji	32
2.10.2.1	Okužene žuželke	32
2.10.2.2	Vabe	32
2.10.3	Dejavniki, ki vplivajo na preživetje ogorčic v formulacijah	32
2.10.3.1	Ugotavljanje vitalnosti	33
2.10.3.2	Ugotavljanje učinkovitosti	33

2.11	TEHNOLOGIJE NANOSOV OGORČIC	33
2.12	VPLIV ENTOMOPATOGENIH OGORČIC NA NECILJNE ORGANIZME	34
2.12.1	Nevretenčarji	34
2.12.2	Vretenčarji	35
2.12.3	Talni mikroorganizmi in mikrofavna	35
2.12.4	Fitofagne ogorčice	36
2.13	PROUČEVANE VRSTE NADZEMSKIH ŠKODLJIVCEV VRTNIN	36
2.13.1	Predstavitev rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood])	36
2.13.2	Predstavitev koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say])	38
2.13.3	Predstavitev cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande])	40
3	MATERIAL IN METODE DELA	42
3.1	ENTOMOPATOGENE OGORČICE	42
3.1.1	Shranjevanje ogorčic	42
3.1.2	Določevanje koncentracije ogorčic	43
3.1.3	Rastlinjakov ščitkar (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood])	43
3.1.4	Koloradski hrošč (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say])	43
3.1.5	Cvetlični resar (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande])	43
3.2	POTEK RAZISKAVE	43
3.3	STATISTIČNA ANALIZA IN GRAFIČNA PREDSTAVITEV REZULTATOV	44
4	REZULTATI	50
4.1	ANALIZA REZULTATOV PO VRSTAH ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	50
4.1.1	<i>Heterorhabditis megidis</i>	50
4.1.1.1	Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk	50
4.1.1.2	Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic	51
4.1.1.3	Smrtnost žuželk glede na temperaturo	52
4.1.2	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	53
4.1.2.1	Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk	53
4.1.2.2	Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic	54
4.1.2.3	Smrtnost žuželk glede na temperaturo	55
4.1.3	<i>Steinernema carpocapsae</i>	56
4.1.3.1	Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk	56
4.1.3.2	Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic	57
4.1.3.3	Smrtnost žuželk glede na temperaturo	58
4.1.4	<i>Steinernema feltiae</i>	59
4.1.4.1	Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk	59
4.1.4.2	Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic	60
4.1.4.3	Smrtnost žuželk glede na temperaturo	61
4.2	ANALIZA REZULTATOV PO ŠKODLJIVCIH	63

4.2.1	Rastlinjakov ščitkar (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood])	63
4.2.1.1	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na koncentracijo ogorčic	63
4.2.1.2	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na vrste ogorčic	64
4.2.1.3	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na temperaturo	65
4.2.2	Cvetlični resar (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande])	66
4.2.2.1	Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na koncentracijo ogorčic	66
4.2.2.2	Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na vrste ogorčic	67
4.2.2.3	Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na temperaturo	68
4.2.3	Koloradski hrošč (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say])	69
4.2.3.1	Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na koncentracijo ogorčic	69
4.2.3.2	Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na vrste ogorčic	70
4.2.3.3	Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na temperaturo	71
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	73
5.1	RAZPRAVA	73
5.2	SKLEPI	76
6	POVZETEK (SUMMARY)	79
6.1	POVZETEK	79
6.2	SUMMARY	82
7	VIRI	85
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Gostitelji entomopatogenih ogorčic v naravi (Peters, 1996a).	9
Preglednica 2: Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije (Kaya, 2000).	15
Preglednica 3: Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri parazitiranju gostiteljev (Gaugler in Kaya, 1990).	19
Preglednica 4: Velikost, nihanje, način iskanja gostitelja in temperaturni interval v katerem so infektivne ličinke aktivne (Grewal, 1999b).	29

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Koppenhöfer in Kaya, 2002).	12
Slika 2: Trgovska priprava entomopatogenih ogorčic (foto: S. Trdan).	45
Slika 3: Posodica z obrnjeno petrijevko, »Eppendorfovo tubo« in krompirjevim listom (foto: S. Trdan).	45
Slika 4: Suspenzija infektivnih ličink (foto: fotonematoden.jpg, 2005).	46
Slika 5: Gojitvena komora v entomološkem laboratoriju Katedre za entomologijo in fitopatologijo (foto: S. Trdan).	46
Slika 6: Infektivne ličinke vrste <i>Steinernema carpocapsae</i> zapuščajo parazitirano ličinko voščene vešče (<i>Galleria mellonella</i>) (foto: Slides1.jpg, 2005).	47
Slika 7: Imagi rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> [Westwood]) na paradižnikovem listu (foto: S. Trdan).	47
Slika 8: Ličinke koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> [Say]) med hranjenjem na listu krompirja (foto: S. Trdan).	48
Slika 9: Ličinka cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande]) (foto: Sanderson, 2005).	48
Slika 10: Poškodbe cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> [Pergande]) na listih fižola (foto: S. Trdan).	49
Slika 11: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis megidis</i> glede na vrste žuželk.	51
Slika 12: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis megidis</i> glede na koncentracijo ogorčic.	52
Slika 13: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis megidis</i> glede na temperaturo.	53
Slika 14: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> glede na vrste žuželk.	54
Slika 15: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	55

glede na koncentracijo ogorčic.

Slika 16:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> glede na temperaturo.	56
Slika 17:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema carpocapsae</i> glede na vrste žuželk.	57
Slika 18:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema carpocapsae</i> glede na koncentracijo ogorčic.	58
Slika 19:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema carpocapsae</i> glede na temperaturo.	59
Slika 20:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema feltiae</i> glede na vrste žuželk.	60
Slika 21:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema feltiae</i> glede na koncentracijo ogorčic.	61
Slika 22:	Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji <i>Steinernema feltiae</i> glede na temperaturo.	62
Slika 23:	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.	64
Slika 24:	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrsto ogorčic.	65
Slika 25:	Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.	66
Slika 26:	Smrtnost ličink cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.	67
Slika 27:	Smrtnost ličink cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrsto ogorčic.	68
Slika 28:	Smrtnost ličink cvetličnega resarja (<i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.	69
Slika 29:	Smrtnost ličink koloradskega hrošča (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say) 3.	70

in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.

Slika 30: Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say) 3. 71
in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrsto ogorčic.

Slika 31: Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say) 3. 72
in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

UV	ultravijolična svetloba
IL	infektivne ličinke
sod.	sodelavci
<i>S. feltiae</i>	<i>Steinernema feltiae</i>
<i>H. bacteriophora</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
<i>H. megidis</i>	<i>Heterorhabditis megidis</i>
<i>S. carpocapsae</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Integrirani način varstva rastlin združuje različne načine varstva, ki so sprejemljivi z gospodarskega, ekološkega in toksikološkega vidika. Njegov bistveni del je biotično varstvo rastlin. Biotično varstvo rastlin je način obvladovanja škodljivih organizmov v kmetijstvu in gozdarstvu, ki uporablja žive naravne sovražnike, antagoniste ali kompetitorje ali njihove produkte in druge organizme, ki se morejo sami razmnoževati. Pomemben sestavni del integriranega varstva rastlin je tudi spodbujanje delovanja naravnih sovražnikov in zmanjšanje uporabe kemičnih pripravkov, zato zlasti v zadnjem času vse bolj pridobivajo na pomenu biotični pripravki.

Uporaba biotičnih pripravkov je v nekaterih pogledih bolj zahtevna od uporabe pripravkov, ki se uporabljajo v konvencionalnem varstvu rastlin, saj zahteva več znanja uporabnikov in njihovo večjo ekološko osveščenost. Pripravki, izdelani na biotični podlagi, so ekološko ustrežnejši, njihovo delovanje je bolj specifično, pomembnejša je njihova pravilna formulacija in aplikacija ter natančnost rokov tretiranja. Po drugi strani pa je njihova učinkovitost večkrat manjša od tiste pri kemičnih pripravkih (Milevoj, 2002).

Raziskave učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje rastlinskih škodljivcev se doslej v Sloveniji še niso izvajale, zato smo želeli proučiti učinkovitost nekaterih vrst teh ogorčic za biotično zatiranje izbranih škodljivih žuželk pri nas. Novost našega pristopa je bil izbor ciljnih škodljivcev, saj smo želeli proučiti delovanje entomopatogenih ogorčic na tiste škodljive žuželke, ki povzročajo škodo na nadzemskih delih vrtnin in okrasnih rastlin.

Zatiranje izbranih rastlinskih škodljivcev z insekticidi velikokrat ni enostavno, saj se lahko žuželke pred kapljicami škropiva skrijejo v odprtine na rastlinah, po drugi strani pa so zlasti cvetovi (njihov videz v cvetličarstvu v veliki meri določa ceno proizvoda) izpostavljeni ožigom. Neustrezna uporaba kemičnih insekticidov je že marsikje privedla do pojava rezistence škodljivcev, s tem pa se zmanjšuje gospodarnost pridelave živeža. Biotično varstvo rastlin je v tem pogledu prispevek k preseganju tovrstnih težav – težav intenzivnega kmetijstva (Milevoj, 2002).

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Entomopatogene ogorčice so organizmi, katerih razvoj je vezan na tla, kjer se razmnožujejo in hranijo. Dosedanje raziskave učinkovitosti entomopatogenih ogorčic so se osredotočale zlasti na talne škodljivce (Hazir in sod., 2003). Uporaba omenjenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev pomeni novost v biotičnem varstvu rastlin. Namen naše raziskave je zato bil v laboratorijskih razmerah proučiti učinkovitost štirih vrst

entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae* [Filipjev], *Heterorhabditis bacteriophora* [Poinar], *Heterorhabditis megidis* [Poinar], *Steinernema carpocapsae* [Weiser]) za zatiranje nadzemskih škodljivcev, in sicer ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande], Thysanoptera, Thripidae), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood], Homoptera, Aleyrodidae) in ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae). Predvidevali smo, da so različne vrste entomopatogenih ogorčic različno učinkovite za zatiranje proučevanih škodljivcev.

1.3 CILJ RAZISKAVE

V raziskavi smo želeli ugotoviti vpliv pomembnejših okoljskih dejavnikov na učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic za zatiranje izbranih škodljivcev. Njihovo učinkovitost za zatiranje nadzemskih škodljivcev smo želeli ugotoviti pri različnih koncentracijah ogorčic v suspenziji, s katero smo tretirali škodljivce (0 - kontrola, 500, 1000, 5000 ogorčic/ml destilirane vode). Učinkovitost smo ugotavljali pri različnih temperaturah (15, 20 in 25°C) in pri stalni relativni zračni vlagi (95 %). Razmerje med svetlobo in temo v gojitveni komori je bilo 4 : 20.

S proučevanjem hkratnega delovanja večjega števila abiotičnih (okoljski parametri) in biotičnih dejavnikov (koncentracija ogorčic v suspenziji) smo želeli pridobiti pomembne in doslej še malo znane podatke o učinkovitosti obravnavanih vrst entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev.

Z nalogo smo želeli prispevati k novim načinom učinkovitega in okolju prijaznega zatiranja škodljivih žuželk v vrtnarstvu.

2 PREGLED DOSEDANJIH OBJAV

2.1 ZGODOVINA UPORABE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Uporaba entomopatogenih ogorčic za varstvo rastlin pred škodljivimi žuželkami na rastlinah se je začela s pionirskim raziskovalcem R.W. Glaser-jem in njegovimi sodelavci, in sicer v 30-ih in v začetku 40-ih let prejšnjega stoletja (Gaugler in Kaya, 1990). Že leta 1929 sta Glaser in Fox odkrila ogorčico, ki je parazitirala ličinke japonskega hrošča (*Popillia japonica*) (Smart, 1995). Takrat simbiotskih bakterij v ogorčicah še niso poznali. Glaser je vpeljal metodo gojenja entomopatogenih ogorčic »in vitro«, ki je bila primerna tudi za razmnoževanje simbiotskih bakterij. S tako vzgojenimi ogorčicami je leta 1939 izvedel prvi poljski poskus. Poskus je bil izveden v New Jersey-ju za zatiranje japonskega hrošča (*Popillia japonica*).

Po 2. svetovni vojni se je število raziskav z entomopatogenimi ogorčami zmanjšalo zaradi prihoda cenejših sintetičnih insekticidov na trg. V 60-ih letih prejšnjega stoletja so se pokazali negativni vplivi insekticidov na okolje, kar je vzpodbudilo raziskovalce k iskanju novih, okolju prijaznejših načinov zatiranja rastlinskih škodljivcev (Smart, 1995). Tako so entomopatogene ogorčice v 80-ih letih prejšnjega stoletja postale zelo pomembne v biotičnem varstvu rastlin, vendar se je njihova učinkovitost pri zatiranju žuželk zelo spreminjala. To je vzpodbudilo raziskovalce k proučevanju biologije in genetike ogorčic. V 90-ih letih prejšnjega stoletja so že bili objavljeni rezultati prvih poglobljenih raziskav entomopatogenih ogorčic, opisanih je bilo tudi veliko novih vrst. Nedavne raziskave so pokazale, da entomopatogene ogorčice niso patogeni generalisti. Prilagojene so na gostitelje v določenem okolju, odvisno od načina iskanja gostitelja. Razumevanje njihovih vedenjskih vzorcev in genetike bo v prihodnosti pomagalo pri določanju pravih vrst entomopatogene ogorčice za zatiranje določenih vrst škodljivih žuželk. To bo zagotovo povečalo učinkovitost entomopatogenih ogorčic za zatiranje škodljivih žuželk (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

2.2 SISTEMATIKA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC, UPORABLJANIH V BIOTIČNEM VARSTVU RASTLIN

Deblo:	Nemata	
Razred:	Secrenentea	
Podrazred:	Rhabditia	
Red:	Rhabditida	
Podred:	Rhabditina	
Naddružina:	Rhabditoidea	
Družina:	Steinernematidae	Rodova: <i>Steinernema</i> , <i>Neosteinernema</i>
Družina:	Heterorhabditidae	Rod: <i>Heterorhabditis</i>

2.2.1 Deblo Nemata

Izraz »nematode« ali po slovensko ogorčice prihaja iz grščine: »nema« po grško pomeni nit in »toid« oblika.

Ogorčice so talni organizmi. V dolžino merijo od 0,1 mm do več metrov (Kaya in Koppenhöfer, 1999). So živali, ki potrebujejo za svoj razvoj večjo ali manjšo prisotnost vlage. So kozmopoliti in jih lahko najdemo tudi v ekstremnih razmerah. Edini kontinent, kjer entomopatogenih ogorčic doslej še niso našli, je Antarktika.

Ogorčice imajo prebavila, razmnoževalne organe, mišice, enostaven izločalni (ekskrecijski) in živčni sistem, medtem ko nimajo čutil za vid in sluh ter cirkulacijskega in dihalnega sistema. Spola sta ločena pri večini vrst. Najdemo jih lahko v sladki in slani vodi ter na kopnem. Večina ogorčic je prostoživečih, nekatere vrste pa so paraziti rastlin ali živali.

Ogorčice so bilateralno simetrično, podolgovato, nečlenasto oblikovani organizmi, katerih telo je pokrito s kutikulo hipodermalnega izvora. Oblika telesa se med vrstami razlikuje. Sprednji del telesa je ponavadi zaokrožen. Ustna odprtina je največkrat na skrajnem sprednjem delu telesa, na katerem se nahajajo značilni izrastki v obliki papil in set. Ustna odprtina se nadaljuje v prednje črevo, srednje črevo ali intestine in zadnje črevo, ki se končuje oziroma se odpira v kloako pri samcih oziroma v zadnjično odprtino (anus) pri samicah (Pechenik, 2005).

2.2.2 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Steinernema*

V rod *Steinernema* je bilo doslej uvrščenih 26 vrst ogorčic: *S. abbasi*, *S. affine*, *S. arenarium*, *S. bicornutum*, *S. carpocapsae*, *S. caudatum*, *S. ceratophorum*, *S. cubanum*, *S. feltiae*, *S. bibionis*, *S. glaseri*, *S. intermedium*, *S. kariii*, *S. kushidai*, *S. kraussei*, *S. longicaudum*, *S. monticolum*, *S. neocurtillae*, *S. oregonense*, *S. puertoricense*, *S. rarum*, *S. riobravisi*, *S. ritteri*, *S. scapterisci*, *S. siamkayai*, *S. tami* (Gaugler, 2002).

2.2.2.1 *Steinernema carpocapsae*

Steinernema carpocapsae je med vsemi entomopatogenimi ogorčicami najbolj raziskana, dostopna in prilagodljiva vrsta. Enostavno se razmnožuje, formulira v skoraj suhem stanju in v takšni obliki shranjuje pri sobni temperaturi več mesecev. Je zelo učinkovita pri parazitiranju gosenic (ličink) iz družine Pyralidae ter ličink in bub iz družine Noctuidae (Peters, 1996a; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Gostitelj ne išče aktivno, temveč se postavi vzravnano na rep in tako počaka nanje. Najpogosteje vstopi v gostitelja skozi dihalne odprtine. Najučinkoviteje parazitira gostitelja pri temperaturi od 22°C do 28°C

(Gaugler, 1999). Odrasla ogorčica meri v dolžino 558 μm in v širino 25 μm . Infektivna ličinka meri v dolžino 438-650 μm in v širino 20-30 μm (Gaugler, 2002).

2.2.2.2 *Steinernema feltiae*

Ogorčica *Steinernema feltiae* najpogosteje parazitira ličinke dvokrilcev (Diptera) (Peters, 1996a; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Gostitelje lahko parazitira tudi pri temperaturi nižji od 10°C. Ta vrsta je od vseh iz rodu *Steinernema* najmanj stabilna, saj je njena življenjska doba v pripravkih zelo kratka (Gaugler, 1999). Odrasla ogorčica meri v dolžino 849 μm in v širino 26 μm . Infektivna ličinka meri v dolžino 736-950 μm in v širino 22-29 μm (Gaugler, 2002).

2.2.3 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*

V rod *Heterorhabditis* so bile doslej uvrščene vrste: *H. bacteriophora*, *H. megidis*, *H. hawaiiensis*, *H. indicus*, *H. zealandica*, *H. marelatus*, *H. brevicaudis* (Gaugler, 2002).

2.2.3.1 *Heterorhabditis bacteriophora*

Ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora* išče žuželke aktivno, in sicer zlasti gosenice in ličinke hroščev. Vrsta zelo uspešno parazitira rilčkarje (Curculionidae) (Peters, 1996a; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Učinkovitost parazitiranja ogorčice je slabša, ko temperatura tal pade pod 20°C. Vrsta je slabo stabilna, saj je njena življenjska doba v pripravkih zelo kratka, po nanosu pa le nekaj dni (Gaugler, 1999). Odrasla ogorčica meri v dolžino 588 μm in v širino 23 μm . Infektivna ličinka meri v dolžino 512-671 μm in v širino 18-31 μm (Gaugler, 2002).

2.2.3.2 *Heterorhabditis megidis*

Heterorhabditis megidis je zelo učinkovita ogorčica pri parazitiranju rilčkarja *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Peters, 1996a; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Odrasla ogorčica meri v dolžino 768 μm in v širino 28 μm . Infektivna ličinka meri v dolžino 736-800 μm in v širino 27-32 μm (Gaugler, 2002).

2.3 ANATOMIJA

2.3.1 Telesna stena

Telesna stena ogorčic je sestavljena iz kutikule in hipodermisa. Telesu in telesnemu mišičju služi kot opora in kot varovalo pred različnimi mehanskimi in kemičnimi vplivi in za vzdrževanje turgorja telesa. Ker ogorčice nimajo razvitih regeneracijskih sposobnosti, je čvrstost telesne stene izredno pomembna. Ličinke, ki se levijo, hkrati s tvorbo nove kutikule, ki se oblikuje v hipodermisu, odvržejo zunanji del stare kutikule (Gaugler, 2002).

2.3.2 Somatsko mišičje in prebavni trakt

Somatsko mišičje, ki se nahaja pod hipodermisom, je sestavljeno iz enojne plasti vzdolžno usmerjenih, vretenasto oblikovanih celic, ki so pripete na hipodermis po vsej njegovi dolžini. Poleg vzdolžnega mišičja, ki omogoča ogorčicam zvijanje in premikanje telesa, pa so navzoče še druge mišične skupine: mišice prebavnega trakta, vulvine mišice, bursine mišice in spikularne mišice.

Prebavni trakt je cevasto oblikovan in razčlenjen v tri dele: prednje, srednje in zadnje črevo ali rektum (Gaugler, 2002).

2.3.3 Čutni organi

Z živčevjem so neposredno povezani čutni organi ogorčic, prek katerih je živčevje, ki se nahaja v telesu, neposredno povezano z zunanostjo. Večina čutnih organov se nahaja v območju sprednjega ali zadnjega dela telesa ogorčic (Gaugler, 2002).

2.3.3.1 Ustnične papile in sete na glavi

Navzven so usta obkrožena s šestimi ustnicami. Na vsaki ustnici se nahajajo ustnične papile. Če opazujemo glavo ogorčice s sprednje strani, vidimo, da je ustna odprtina pogosto obdana z ustnicami, ki imajo dva sklenjena ustnična obroča; in sicer notranjega, ki je sestavljen iz šestih čutnih organov, in zunanjega, ki je sestavljen iz šestih ščetinastih, trnasto oblikovanih izrastkov, papil. Za zunanjim ustničnim obročem so štirje nekoliko daljši trnasti izrastki, ki že neposredno pripadajo predelu glave. Med različnimi vrstami ogorčic obstajajo določene razlike glede razporeda omenjenih organov. Papile in sete iz okolice ustne odprtine imajo po vsej verjetnosti tipalno funkcijo (Gaugler, 2002).

2.3.3.2 Spolne bradavice (papile) samcev, dieridi in amfide

Na trebušni strani zadnjega dela samcev so posamezne, različno oblikovane bradavice. Spolne bradavice so lahko nameščene pred ali za kloako in služijo kot tipalni organ, ki je samcem v pomoč pri kopulaciji.

Deiridi predstavlja par papil, ki leži na bočni strani telesa. Prepredeni so z živčevjem in po vsej verjetnosti služijo kot tipalni organ.

Amfide predstavlja par stranskih čutnih organov v območju glave. Kutikularne zunanje odprtine so pri različnih ogorčicah različno oblikovane. Amfide so po vsej verjetnosti kemoreceptorji (Gaugler, 2002).

2.4 ODNOS MED OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI

Odnosi med ogorčicami in žuželkami so različni, in sicer od povsem naključnega, to je brez vpliva, do parazitskega. Izraz »entomofile ogorčice« vključuje vse te odnose. Izraz »entomopatogene ogorčice« zajema samo tiste ogorčice, ki imajo fakultativen ali obligaten parazitski odnos z žuželkami. Parazitizem entomopatogenih ogorčic ima različne škodljive vplive na gostitelje: sterilnost, zmanjšano plodnost, krajšo življenjsko dobo, slabše letalne sposobnosti, zaostanek v razvoju in druga, vedenjska, fiziološka ali morfološka odstopanja. V večini primerov pa entomopatogene ogorčice povzročijo smrt gostitelja. Parazitski odnos z žuželkami je znan za ogorčice iz 23 družin. Ogorčice iz sedmih družin imajo lastnosti potrebne za biotično varstvo rastlin. Te družine so: Mermithidae in Tetradenematidae iz reda Stichosomida, Allantonematidae, Phaenopsitylenchidae in Sphaerulariidae iz reda Tylenchida, Heterorhabditidae in Steinernematidae iz reda Rhabditida. Entomopatogene ogorčice, z izjemo ogorčic iz družine Heterorhabditidae in Steinernematidae, se ne uporabljajo za biotično zatiranje žuželk zaradi težav pri njihovem gojenju ali zaradi njihove slabe virulentnosti. Izjema je tudi entomopatogena ogorčica *Deladenus siricidicola* (Tylenchida), ki uspešno zatira nekatere škodljivce lesa iz družine Siricidae (Hymenoptera) (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Nekatere vrste ogorčic imajo obligaten parazitski odnos z žuželkami, kjer ni vidnih škodljivih vplivov na gostitelja. Druge vrste ogorčic imajo lahko fakultativen oziroma obligaten parazitski odnos z vidnimi škodljivimi vplivi na gostitelja. V fakultativnem parazitskem odnosu imajo ogorčice razvojni krog, ki je neodvisen od gostitelja in parazitski razvojni krog, ki se vzpostavi takrat, ko je gostitelj dostopen. V obligatnem parazitskem odnosu pa ogorčice ne morejo preživeti brez gostitelja. Tako v fakultativnem kot v obligatnem parazitskem odnosu so entomopatogene ogorčice škodljive na enega ali več predhodno navedenih načinov (Koppenhöfer, 2000).

Danes je znanih 34 vrst entomopatogenih ogorčic iz treh rodov, vendar so samo ogorčice iz rodu *Steinernema* in *Heterorhabditis* (Rhabditida) dobile pomembno mesto na področju biotičnega varstva rastlin (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Vsako leto je odkritih nekaj novih vrst entomopatogenih ogorčic (Kaya, 2000). V laboratorijskih razmerah, kjer je kontakt med ogorčicami in gostitelji zagotovljen in kjer so okoljski pogoji najustreznejši, lahko večina entomopatogenih ogorčic parazitira številne vrste žuželk (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

2.4.1 Načini parazitiranja

Infektivne ličinke vstopijo v gostitelja na različne načine, odvisno od dostopnih poti in razvojnega stadija gostitelja. Najpogostejše vstopijo v gostitelja prek dihalnih odprtín. Druga najpogostejša pot je vstop prek ustne ali zadnjične odprtine. Po uspešnem vstopu v gostiteljev dihalni sistem ali prebavni trakt, morajo infektivne ličinke predreti še steno traheol oziroma steno prebavnega trakta. To dosežejo z uporabo fizične moči, in sicer z udarjanjem telesa ali zoba, ki se nahaja na koncu ust, kar je značilno za infektivne ličinke iz rodu *Heterorhabditis*. Ker so stene traheol nežne, jih infektivne ličinke lahko predrejo z mehanskim pritiskom glave. Večje težave pa imajo s prediranjem sten prebavnega trakta, saj je njegova membrana močnejša. Vrsta *Steinernema glaseri* potrebuje 4 do 6 ur, da predre srednje črevo gostitelja *Popillia japonica*. Simbiontska bakterija se sprostí od pol ure do petih ur po tem, ko infektivne ličinke predrejo steno (Kaya, 2000).

Entomopatogene ogorčice parazitirajo ličinke vrste *Tipula paludosa* in *Tipula oleracea* vedno neposredno prek povrhnjice in le zelo redko prek ust ali zadnjične odprtine (Peters in Ehlers, 1994).

2.4.2 Obramba žuželk pred parazitiranjem ogorčic

Infektivne ličinke ne morejo parazitirati nekaterih vrst žuželk, ker so najpogostejša vstopna mesta v gostitelja zanje neprehodna. Ozke telesne odprtine takšnih gostiteljev včasih ovirajo ali onemogočajo vstop infektivnim ličinkam. Pri nekaterih vrstah žuželk pa so lahko takšne poti nedostopne. Tako so lahko na primer usta žuželk zaprta z ustnim filtrom ali pa so preozka, kar je značilno za žuželke s sesajočim ustnim aparatom in za majhne žuželke z ustnim aparatom za grizenje. Pri nekaterih žuželkah (Diptera in Lepidoptera) lahko zadnjično odprtino zapira mišica, dihalna odprtina pa je lahko prekrita z dlačicami (živa nit) ali je preozka za vdor ogorčic. Mnoge talne žuželke so razvile vedenjske oblike, ki zmanjšujejo možnost, da bi jih parazitirale infektivne ličinke. To dosežejo s pogostim odvajanjem blata (ličinke družine Scarabaeidae), kar zmanjšuje možnost vdora entomopatogenih ogorčic skozi zadnjično odprtino, z manjšim proizvajanjem in izločanjem CO₂ (bube reda Lepidoptera, ličinke družine Scarabaeidae), s tvorbo neprepustnega zapredka še pred zapredanjem (Lepidoptera in Scarabaeidae), z zagravitvijo parazitiranih

osebkov za preprečitev kontaminacije (termiti) ali z agresivnim, napadalnim obnašanjem (ličinke družine Scarabaeidae). Nekatere žuželke lahko z ustnim aparatom usmrtijo (stisnejo) infektivne ličinke (Koppenhöfer, 2000).

Socialne žuželke so lahko na nivoju individuov dovzetne za parazitizem ogorčic, medtem ko se lahko kot kolonija učinkovito branijo pred njimi. Branijo se tako, da izolirajo ali odstranijo parazitirane žuželke ali pa se cela kolonija preseli na drugo mesto (Koppenhöfer, 2000).

2.4.3 Gostitelji entomopatogenih ogorčic v naravi

Med naravne gostitelje entomopatogenih ogorčic iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* uvrščamo tiste vrste žuželk, v katerih se domorodne vrste entomopatogenih ogorčic lahko razmnožujejo (Peters, 1996ab).

Preglednica 1: Gostitelji entomopatogenih ogorčic v naravi (Peters, 1996a)

Table 1: Hosts of entomopathogenic nematodes in nature (Peters, 1996a)

Vrsta ogorčice	Red gostitelja	Družina gostitelja	Vrsta gostitelja
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Coleoptera	Elateridae	<i>Agriotes lineatus</i>
		Scarabaeidae	<i>Popillia japonica</i>
		Curculionidae	<i>Graphognathus leucoloma</i>
			<i>Otiorhynchus sulcatus</i>
			<i>Cleonus mendicus</i>
			<i>Hylobius pales</i>
	Hymenoptera	Vespidae	<i>Vespula</i> sp.
		Pamphiliidae	<i>Cephalcia lariciphila</i>
	Diptera	Tephritidae	<i>Rhagoletis pomonella</i>
	Lepidoptera	Tortricidae	<i>Cydia pomonella</i>
		Noctuidae	<i>Agrotis segetum</i>
			<i>Helicoverpa armigera</i>
		Sesiidae	<i>Vitacea polistiformis</i>
		Pieridae	<i>Pieris brassicae</i>
<i>Steinernema feltiae</i>	Coleoptera	Elateridae	<i>Selatosomus melancholicus</i>
		Pythidae	<i>Pytho depressus</i>
		Cerambycidae	<i>Rhagium inquisitor</i>
		Scarabaeidae	<i>Amphimallon solsitiale</i>
			<i>Onitis alexis</i>
			<i>Pentodon alerinum</i>
		Buprestidae	<i>Capnodis tenebrionis</i>
		Curculionidae	<i>Graphognathus leucoloma</i>

se nadaljuje

nadaljevanje

Vrsta ogorčice	Red gostitelja	Družina gostitelja	Vrsta gostitelja
			<i>Otiorhynchus sulcatus</i>
			<i>Otiorhynchus ovatus</i>
			<i>Otiorhynchus dubius</i>
			<i>Phyllobius urticae</i>
			<i>Bothynoderes punctiventris</i>
			<i>Hylobius abietis</i>
	Diptera	Bibionidae	<i>Bibio</i> sp.
	Lepidoptera	Noctuidae	<i>Helicoverpa armigera</i>
			<i>Crambus simplex</i>
			<i>Agrotis ipsilon</i>
			<i>Agrotis segetum</i>
			<i>Agrotinae</i> gen. sp.
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Coleoptera	Scarabaeidae	<i>Popillia japonica</i>
			<i>Cyclocephala hirta</i>
			<i>Phyllophaga</i> sp.
		Chrysomelidae	<i>Diabrotica balteata</i>
		Curculionidae	<i>Curculio caryae</i>
			<i>Diaprepes abbreviatus</i>
	Lepidoptera	Noctuidae	<i>Heliothis punctigera</i>
			<i>Helicoverpa zea</i>
		Pylalidae	<i>Diatrea grandiosella</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i>	Coleoptera	Scarabaeidae	<i>Popillia japonica</i>
			<i>Phyllopertha horticola</i>
			<i>Amphimallon solstitiale</i>
		Curculionidae	<i>Otiorhynchus sulcatus</i>

2.5 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Razvojni krog entomopatogenih ogorčic se deli na naslednje razvojne stadije: jajčece, ličinka, ki se navadno levi štirikrat in imago.

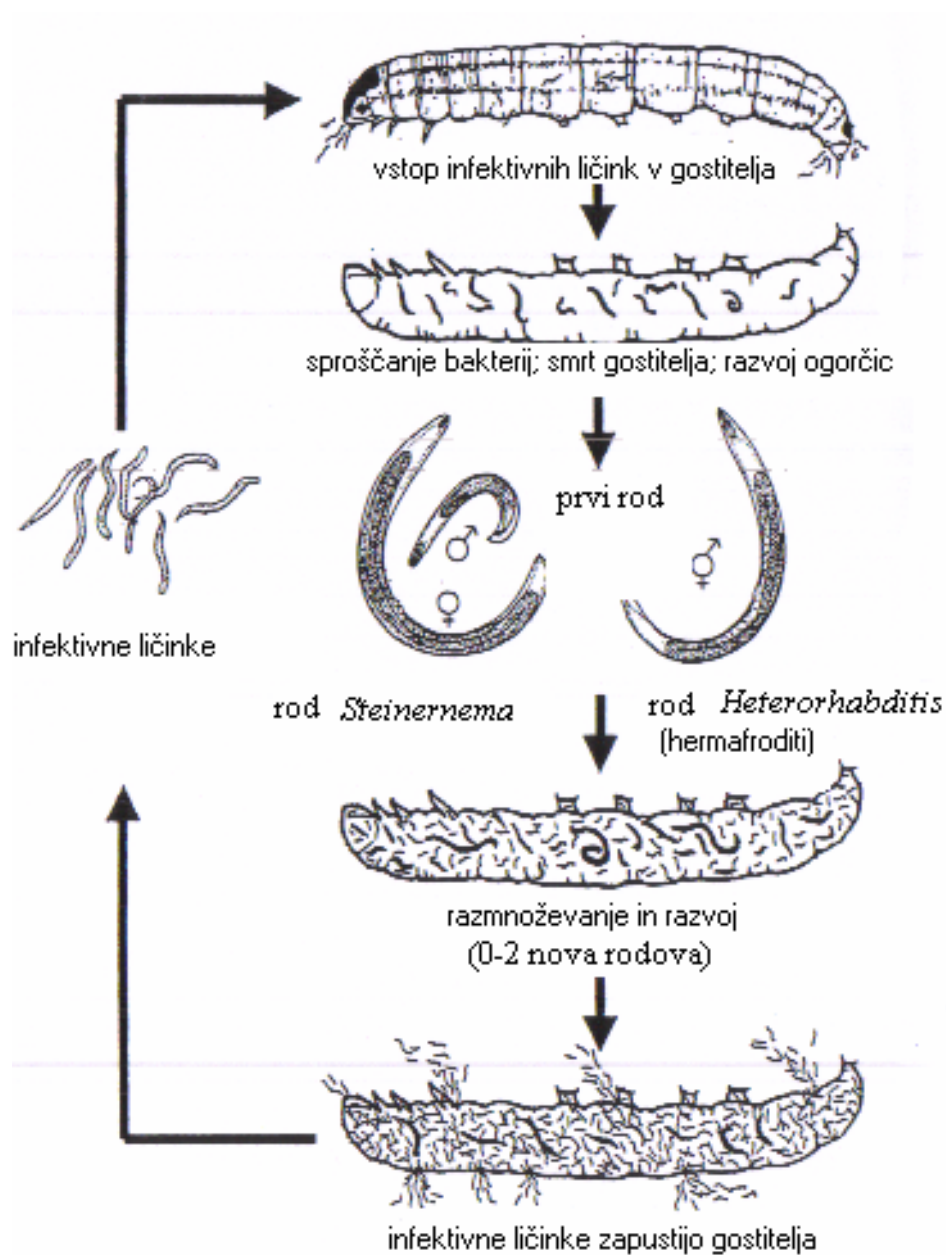
Poseben razvojni stadij v razvojnem krogu vseh ogorčic reda Rhabditida je tretji larvalni stadij, ki ga predstavljajo infektivne ličinke. To je prosto živeči stadij ličinke, ki je dobro prilagojen na daljše časovno obdobje brez hrane. Energijo črpa iz lastnih zalog. Infektivna ličinka nosi v sprednjem delu črevesa od 200 do 2000 simbiotskih bakterij. V telo gostitelja prodre infektivna ličinka prek naravnih odprtín, kot so usta, zadnjična odprtina ali traheje oziroma skozi kutikulo. Ko infektivna ličinka doseže hemolimfo gostitelja, sprosti bakterijo. Bakterija se v hemolimfi hitro množi in proizvaja toksine ter druge

metabolite, ki prispevajo k oslabitvi obrambnega mehanizma gostitelja in v približno dveh dneh, po vstopu infektivne ličinke v gostitelja, gostitelj pogine. Ličinke se v gostitelju začnejo hraniti z bakterijami in razgrajenim tkivom gostitelja. Žrelo, prebavni trakt in ekskrecijski metabolizem postanejo aktivni. Ta proces, ki se imenuje »okrevanje«, vzpodbudi »signal hrane«. Nato se ličinke levijo v četrti larvalni stadij, iz katerega se razvijejo imagi prvega rodu. Po parjenju samice ležejo jajčeca. Če hrane ni dovolj, se iz jajčec, ki so jih izlegle samice prvega rodu, neposredno razvijejo infektivne ličinke. Te nato zapustijo poginulega gostitelja. Če pa je hrane dovolj vsaj še za en rod, se iz jajčec, ki so jih izlegle samice prvega rodu, izvalijo ličinke prvega larvalnega stadija, ki se nato levijo v ličinke drugega, tretjega in četrtega larvalnega stadija. Ličinke četrtega larvalnega stadija se razvijejo v odrasle samce in samice drugega rodu. Po parjenju in odlaganju jajčec samic drugega rodu se izležejo ličinke prvega larvalnega stadija, ki se nato levijo v ličinke drugega larvalnega stadija. Razmnoževanje ogorčic se nadaljuje vse dotlej, dokler imajo dovolj zalog hrane v poginulem gostitelju. Ponavadi je hrane dovolj za dve do tri rodove (Slika 1) (Gaugler, 2002).

Ko začne ogorčicam drugega ali tretjega rodu primanjkovati hrane, se ličinke drugega larvalnega stadija prenehajo prehranjevati in shranijo nekaj bakterij v bakterijsko celico ali mehurček. Nato se levijo v tretji, infektivni larvalni stadij. Infektivne ličinke nato zapustijo gostitelja, da poiščejo novega. Znano je, da so imagi prvega rodu pri rodu *Heterorhabditis* hermafroditi (Kaya, 2002).

Najugodnejši pogoji za razmnoževanje ogorčic so v hemolimfi gostitelja. V ugodnih razmerah infektivne ličinke iz družine Steinernematidae zapustijo gostitelja 6. do 11. dan po parazitiranju, tiste iz družine Heterorhabditidae pa 12. do 14. dan po parazitiranju (Kaya, 2000).

Ogorčice lahko razvijejo v enem gostitelju do tri rodove. Izjema je vrsta *Steinernema kushidai*, ki ima zaradi svoje velikosti vedno le en rod (Kaya, 2000).



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

Figure 1: Life cycle of entomopathogenic nematodes (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

2.5.1 Dvospolniki in enospolniki

Infektivne ličinke iz rodu *Steinernema* se razvijejo v samce in samice, medtem ko se infektivne ličinke iz rodu *Heterorhabditis* razvijejo v samooplodne hermafrodite s fenotipom samice. Pri predstavnikih obeh rodov pa drugi rod ogorčic predstavljajo samci in samice, ki se parijo in oblikujejo tretji rod ali pa infektivne ličinke, odvisno od zalog hrane. Hermafroditi iz rodu *Heterorhabditis* odložijo nekaj jajčec tudi zunaj telesa. Večina predstavnikov iz rodu *Heterorhabditis* se v drugem rodu izvali in razvije v hermafroditu, na katerem se tudi hranijo, tako da ta pogine. Iz poginule ogorčice izstopijo infektivne ličinke. Ta pojav se imenuje »endokia matricida« (Burnell in Stock, 2000).

Ob parazitiranju voščene vešče (*Galleria mellonella*) z eno ogorčico vrste *Heterorhabditis bacteriophora* je bilo ugotovljeno 20-25 % samcev, 35-40 % samic in 35-40 % hermafroditov. Tudi ob povečanju števila ogorčic na ličinko voščene vešče je bilo razmerje med predstavniki treh skupin podobno. Opažen pa je bil večji delež hermafroditov, če je bil gostitelj manjši (Gaugler, 2002; Koppenhöfer in Kaya, 2002).

2.5.2 Razlike med družinama Heterorhabditidae in Steinernematidae

Na podlagi molekulskih raziskav je bilo ugotovljeno, da ogorčice iz družine Heterorhabditidae in Steinernematidae niso filogenetsko tesno povezane.

Med družinama Heterorhabditidae in Steinernematidae je več razlik. V prvem rodu so v družini Heterorhabditidae imagi hermafroditi, infektivne ličinke pa nosijo simbiotsko bakterijo v srednjem črevesju. Prvi rod pri družini Steinernematidae predstavljajo samci in samice, infektivne ličinke pa nosijo simbiotsko bakterijo v posebnem črevesnem mehurčku. Infektivne ličinke družine Heterorhabditidae imajo v bližini ust zobu podoben dodatek, medtem ko ga infektivne ličinke družine Steinernematidae nimajo. Samci prvega rodu družine Heterorhabditidae imajo burso in 9 parov spolnih bradavic, katerih število je lahko tudi manjše. Samci prvega rodu družine Steinernematidae nimajo burse, imajo pa 10 ali 11 parov in eno, ne parno spolno bradavico. Simbiotska bakterija infektivnih ličink iz družine Heterorhabditidae je iz rodu *Xenorhabdus*, simbiotska bakterija infektivnih ličink iz družine Steinernematidae pa je iz rodu *Photorhabdus*. Infektivne ličinke obeh družin se lahko razvijejo v image tudi brez prisotnosti simbiotskih bakterij (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

2.6 SIMBIONTSKE BAKTERIJE

2.6.1 Sistematika

Družina: Enterobacteriaceae

Rod: *Xenorhabdus*

Rod: *Photorhabdus*

Bakterije iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* so v mutualističnem odnosu z infektivnimi ličinkami entomopatogenih ogorčic iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis*. Nahajajo se v črevesju infektivnih ličink (Burnell in Stock, 2000).

2.6.2 Rod *Xenorhabdus*

V rod *Xenorhabdus* je uvrščenih pet vrst, in sicer *Xenorhabdus nematophilus* (Poinar & Thomas), *Xenorhabdus bovienii* Akhurst, *Xenorhabdus poinarii* Akhurst, *Xenorhabdus japonicus* Nishimura et al. in *Xenorhabdus beddingi* Akhurst (Kaya, 2000). Celice bakterij iz roda *Xenorhabdus* so asporogene, paličaste oblike, velikosti 0,3-2 x 2-10 µm in Gram negativne. So fakultativno anaerobne. Najustreznejša temperatura za njihovo rast je 28°C ali manj, vendar nekatere vrste rastejo tudi pri 40°C. Bakterije iz rodu *Xenorhabdus* so doslej našli samo v prebavnem traktu entomopatogenih ogorčic iz družine *Steinernematidae* in v žuželkah, ki so jih parazitirale omenjene ogorčice (Gaugler, 2002).

2.6.3 Rod *Photorhabdus*

V rod *Photorhabdus* sta uvrščeni dve vrsti, in sicer *Photorhabdus luminescens* (Thomas & Poinar) in *Photorhabdus temperata* Fischer-Le Saux et al. (Kaya, 2000). Celice bakterij iz roda *Photorhabdus* so asporogene, paličaste oblike, velikosti 0,5-2 x 1-10 µm, Gram negativne. Premikajo se s pomočjo bička. So fakultativno anaerobne. Najustreznejša temperatura za njihovo rast je 28°C ali manj. Nekateri vrste rastejo tudi pri temperaturah 37-38°C (Gaugler, 2002).

2.6.4 Razlike med rodovima *Xenorhabdus* in *Photorhabdus*

Med bakterijami iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* obstajajo razlike (Stackebrandt in sod., 1997). Ena izmed razlik je, da se izolati roda *Xenorhabdus* svetijo, medtem ko se bakterije iz roda *Photorhabdus* ne svetijo. Bakterije iz roda *Photorhabdus* so fotoluminiscenčne. Ta lastnost je uporabna za determinacijo in določanje stopnje parazitiranosti žuželk z ogorčicami. Intenzivnost luminescence je največja v prvih 72 urah po infekciji. Razlika se odraža tudi v barvi poginulega gostitelja, saj je lahko gostitelj po

okužbi z bakterijo iz roda *Photorhabdus* rdeče ali škrlatne, oranžne, rumene, rjave, včasih tudi zelene barve, medtem ko je poginuli gostitelj, okužen z bakterijo iz roda *Xenorhabdus*, rumenorjave, oker, sive ali temno sive barve. Bakterije obeh rodov proizvajajo različne antibiotike (Kaya, 2000).

2.6.5 Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije

Bakterije, ki so v simbiotskem odnosu z entomopatogenimi ogorčicami iz roda *Steinernema*, pripadajo rodu *Xenorhabdus*, medtem ko bakterije, ki so v simbiotskem odnosu z entomopatogenimi ogorčicami iz roda *Heterorhabditis*, pripadajo rodu *Photorhabdus*. Vsaka vrsta entomopatogenih ogorčic je v simbiotskem odnosu samo z eno vrsto bakterije (Preglednica 2). Ena vrsta bakterije pa je lahko v simbiotskem odnosu z več vrstami entomopatogenih ogorčic. Odnos med bakterijo in entomopatogeno ogorčico ni obvezen, saj lahko tako bakterije iz roda *Xenorhabdus*, kot bakterije iz roda *Photorhabdus*, gojimo v laboratorijskih pogojih brez prisotnosti entomopatogenih ogorčic. V nasprotju z drugimi ogorčicami (*Rhabditida*), ki se lahko hranijo z različnimi bakterijami, so entomopatogene ogorčice razvile zelo tesen simbiotski odnos s točno določenimi vrstami bakterij. Simbiotska bakterija preoblikuje nekatere proteine gostitelja v substrat, na katerem se ogorčice lahko razvijajo in razmnožujejo (Burnell in Stock, 2000).

Preglednica 2: Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije (Kaya, 2000).

Table 2: Entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts (Kaya, 2000).

Vrsta entomopatogene ogorčice	Simbiotska bakterija
<i>Steinernema carpocapsae</i>	<i>Xenorhabdus nematophilus</i> (Poinar & Thomas)
<i>Steinernema feltiae</i>	<i>Xenorhabdus bovienii</i> Akhurst
<i>Steinernema glaseri</i>	<i>Xenorhabdus poinarii</i> Akhurst
<i>Steinernema kushidai</i>	<i>Xenorhabdus japonicus</i> Nishimura et al.
<i>Steinernema riobrave</i>	neopisano
<i>Steinernema scapterisci</i>	neopisano
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i> (Thomas & Poinar)
<i>Heterorhabditis marelatus</i>	<i>Photorhabdus luminescens</i>
<i>Heterorhabditis megidis</i>	<i>Photorhabdus temperata</i> Fischer-Le Salux et al.

2.6.6 Razmnoževanje simbiotskih bakterij

Za simbiotske bakterije je značilno, da se razmnožujejo v žuželkah in mirujejo v ogorčicah. Do sedaj še ni bilo dokazano, da bi se bakterije razmnoževale že v črevesju infektivnih ličink. Bakterijska okužba se začne šele po vstopu infektivne ličinke v telo gostitelja. Ko infektivne ličinke iz rodu *Steinernema* parazitirajo gostitelja, sprostijo snovi, ki nevtralizirajo antimikrobne snovi parazitirane žuželke. Ni še znano, če podobno storijo tudi infektivne ličinke iz rodu *Heterorhabditis*. Infektivne ličinke obeh rodov sprostijo bakterije v gostitelje. V telesu gostiteljev se simbiotske bakterije hitro množijo in v 48 urah povzročijo smrt gostiteljev. Hemolimfa gostitelja predstavlja bogat medij za bakterijo, saj se v njej hitro množi, sprošča toksine in encime in tako povzroči smrt gostitelja (Burnell in Stock, 2000). Manjši gostitelji lahko poginejo v nekaj minutah, kar je verjetno posledica mehanske poškodbe (Kaya in Köppenhofer, 1999). V večini primerov gostitelj pogine zaradi zastrupitve. Ogorčice se razmnožujejo v poginulem gostitelju in se hranijo z bakterijsko biomaso in z bakterijsko predelanim tkivom gostitelja (Burnell in Stock, 2000).

2.6.7 Virulentnost bakterij in vloga ogorčic

Po Bucher-ju (1960) velja, da je bakterija virulentna, če je za LD₅₀ potrebnih manj kot 10.000 bakterijskih celic. Večina bakterij iz rodu *Xenorhabdus* je zelo patogena za ličinke voščene vešče (*Galleria mellonella*), saj je za LD₅₀ potrebnih manj kot 100 bakterijskih celic. Večina bakterij iz rodov *Photorhabdus* in *Xenorhabdus* je zelo virulentna pri vnosu neposredno v telo ličink nekaterih vrst žuželk. Poročali so tudi o LD₅₀ pri vnosu samo ene bakterije v ličinko (Gaugler, 2002).

Tudi ogorčice proizvajajo snovi, ki so toksične za gostitelje (Smart, 1995). Dokazano je, da lahko ena sama ogorčica *Steinernema carpocapsae*, brez simbiotske bakterije, v več tednih povzroči smrt ličinke voščene vešče (*Galleria mellonella*). Pet ogorčic *Steinernema carpocapsae*, brez simbiotskih bakterij, lahko že v štirih tednih povzroči smrt ličinke voščene vešče. Vendar pa brez simbiotske bakterije niso patogene vse ogorčice iz rodu *Steinernema*. Infektivne ličinke vrste *Heterorhabditis bacteriophora* in *Heterorhabditis megidis* brez simbiotske bakterije ne morejo povzročiti smrti ličink voščene vešče. Ogorčice iz rodu *Heterorhabditis* ne morejo ubiti gostitelja brez prisotnosti bakterije *Photorhabdus luminescens*, medtem ko nekatere ogorčice iz rodu *Steinernema* proizvajajo toksine, ki pripomorejo k poginu gostitelja (Gaugler, 2002).

2.6.8 Bakterijski metabolizem in simbioza entomopatogenih ogorčic in bakterij

Na gojiščih bakterij iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* je bilo dokazanih več kot 30 sekundarnih metabolitov. Ti so lahko zelo pomembni tudi v medicini in kmetijstvu, saj

nekateri delujejo kot antibiotiki, fungicidi, insekticidi, nematicidi in virociidi (Gaugler, 2002).

V mutualističnem odnosu nudijo infektivne ličinke bakterijam zaščito in bivališče, saj prosto živeča bakterija ni sposobna preživeti v tleh. V gostitelju se bakterije ne morejo braniti pred antibakterijsko obrambo gostitelja, zato jih ogorčice v gostitelju varujejo s tem, da zaustavijo antibakterijsko obrambo gostitelja.

Ogorčice so odvisne od bakterij, ker bakterije hitro ubijejo gostitelja in s proizvodnjem antibiotikov, ki onemogočajo razvoj tekmovalnih mikroorganizmov, ustvarjajo ustrezno okolje za razvoj ogorčic. Bakterije »preoblikujejo«^o telo gostitelja v hrano, ustrezno za ogorčice in tudi same predstavljajo ogorčicam vir hrane (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

2.7 UČINKOVITOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Učinkovitost entomopatogenih ogorčic za parazitiranje škodljivcev rastlin je bila proučevana na mnogih vrstah. Ugotovljeno je bilo, da je lahko njihova učinkovitost spremenljiva – lahko so brez vpliva, lahko pa odlično parazitirajo. Na uspešnost entomopatogenih ogorčic pri parazitiranju škodljivih organizmov lahko vpliva veliko dejavnikov. Najpogostejše napake pri uporabi entomopatogenih ogorčic za zatiranje rastlinskih škodljivcev nastanejo zaradi slabega poznavanja biologije ogorčic in njihovih gostiteljev. Med dejavniki, ki jih moramo upoštevati, ko vrednotimo učinkovitost entomopatogenih ogorčic, so ustreznost gostitelja in okolja, način iskanja gostitelja, odpornost gostitelja pred bakterijsko okužbo in temperaturne zahteve ogorčic in gostiteljev (Gaugler, 2002).

Entomopatogena ogorčica lahko parazitira samo enega gostitelja. V primeru, da parazitira neustreznega gostitelja, poti nazaj ni. Zato mora ogorčica prepoznati gostitelja. Ko ogorčica najde in prepozna gostitelja, mora še premagati obrambo gostitelja, preden vstopi vanj.

Ko sta ogorčica in gostitelj hkrati v določenem prostoru, mora ogorčica gostitelja še poiskati. Pomembno je ali ogorčica išče gostitelja aktivno ali pasivno. Ogorčica je pri iskanju gostitelja uspešnejša, če se gostitelj premika po prostoru drugače kot ona. Vrsti *Steinernema glaseri* in *Heterorhabditis bacteriophora* iščeta gostitelja aktivno. Zaznata ga z vonjem, in sicer CO₂, ki ga gostitelj oddaja. Ogorčici *Steinernema carpocapsae* in *Steinernema scapterisci* pa gostitelja čakata na mestu. Gostitelja ne zaznata, tudi če je ta od njiju oddaljen le nekaj milimetrov. Za vrsti *Steinernema riobravise* in *Steinernema feltiae* sta značilna oba načina iskanja gostitelja (Gaugler, 1999).

Bakterijska okužba gostitelja ni zagotovljena s parazitiranjem gostitelja. Uspeh okužbe je odvisen od odpornosti gostitelja na bakterije (Gaugler, 1999). Bakterijska odpornost

voščene vešče (*Galleria mellonella*) se po vstopu ogorčice zmanjša v zelo kratkem času (Brivio in sod., 2002).

Uporaba entomopatogenih ogorčic je najuspešnejša v okolju, ki jim omogoča varovanje pred ekstremnimi okoljskimi vplivi. Velikokrat pozabljamo, da so ogorčice živi organizmi, ki zahtevajo določene razmere, da ostanejo živi in sposobni parazitiranja žuželk. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic za parazitiranje gostiteljev je odvisna od sposobnosti preživetja infektivnih ličink. Preživetje infektivnih ličink pa je zelo omejeno. Ob nanosu na talno površje jih v nekaj urah pogine do 50 %, predvsem zaradi UV sevanja in pomanjkanja vlage. V naslednjih dneh jih vsak dan pogine 5-10 %, tako da jih po enem do šestih tednov preživi samo približno 1 %. Zaradi nizke stopnje sposobnosti preživetja se entomopatogene ogorčice uporabljajo za zatiranje rastlinskih škodljivcev tedaj, ko so ti v tistem razvojnem stadiju, ki je najbolj dovzeten za ogorčice (Smith, 1999).

Zelo slabi rezultati pri uporabi entomopatogenih ogorčic za zatiranje rastlinskih škodljivcev so bili doseženi na gnoju oziroma kompostu, verjetno zaradi visokih temperatur in strupenih snovi, ki se tam tvorijo. V vodi poskusi z entomopatogenimi ogorčicami niso bili uspešni (Kaya in Köppenhöfer, 1999).

Nekatere ogorčice imajo zelo omejen obseg gostiteljev. Tako je na primer vrsta *Steinernema scaptotarsi* prilagojena na nekatere gostitelje iz družine Gryllotalpidae (Orthoptera), okužba drugih gostiteljev pa je zelo slaba. Ogorčica *Steinernema kushidai* v glavnem parazitira le ličinke (ogrice) iz družine Scarabaeidae (Coleoptera) (Kaya, 2000) in se ne more razmnoževati v drugih gostiteljih (Köppenhöfer in Kaya, 2002). Entomopatogene ogorčice so zelo učinkovite pri parazitiranju rastlinskih škodljivcev v rastlinjakih (Wouts, 1991).

Zatiranje rilčkarjev (Curculionidae) z entomopatogenimi ogorčicami je bilo uspešnejše pri višji temperaturi. Učinkovitost je naraščala tudi s koncentracijo ogorčic, vendar ni bilo statistične razlike med 25 in 50 ogorčicami/cm². Ugotovljeno je bilo, da so ogorčice v tleh učinkovite do 5 tednov, vendar se njihova učinkovitost v tem času zmanjša. Učinkovitost je manjša tudi pri manjših ličinkah (Berry, 2000).

Žuželke, ki vsaj del razvojnega kroga preživijo v tleh in žuželke, ki živijo v rastlinah, so najbolj dovzete za entomopatogene ogorčice. Pri zatiranju nadzemskih škodljivcev entomopatogene ogorčice niso tako uspešne, vendar pa med vrstami entomopatogenih ogorčic obstajajo razlike. Nekatere so bolj učinkovite pri zatiranju žuželk, ki živijo na talnem površju ali plitvo v tleh. Takšna vrsta je na primer *Steinernema carpocapsae*. Vrste *Heterorhabditis bacteriophora* in *Steinernema riobrave* pa sta bolj učinkoviti pri zatiranju žuželk, ki živijo globoko v tleh (Lewis, 2000).

Ugotovljeno je bilo, da so infektivne ličinke, ki prve zapustijo gostitelja, v primerjavi s tistimi, ki ga zapustijo pozneje, učinkovitejše pri iskanju novega gostitelja, prenašajo višje

temperature, a se slabše razporedijo po prostoru in so občutljivejše na sušo (O'Leary in sod., 1998). Učinkovitost entomopatogenih ogorčic za parazitiranje žuželk v tleh se slabša z večjim deležem gline (Kamionek in sod., 1997).

Preglednica 3: Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri parazitiranju gostiteljev (Gaugler in Kaya, 1990).

Table 3: Efficacy of entomopathogenic nematodes in parasitizing on hosts (Gaugler in Kaya, 1990).

Gostitelj	Vrsta entomopatogenih ogorčic	Učinkovitost parazitiranja (%)
<i>Otiorhynchus sulcatus</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	71
	<i>Steinernema feltiae</i>	75
	<i>Steinernema carpocapsae</i>	58
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>	57
<i>Diabrotica</i> spp.	<i>Steinernema carpocapsae</i>	61
<i>Popillia japonica</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	80
	<i>Steinernema carpocapsae</i>	47
	<i>Steinernema glaseri</i>	63
	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	72
<i>Cyclocephala</i> spp.	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	59
<i>Lycoriella</i> spp. in <i>Bradysia</i> spp.	<i>Steinernema feltiae</i>	89
<i>Liriomyza trifolii</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>	66
<i>Agrotis ipsilon</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>	86
<i>Plutella xylostella</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>	56
<i>Helicoverpa zea</i>	<i>Steinernema riobrae</i>	90
<i>Synanthedon</i> spp.	<i>Steinernema feltiae</i>	86
<i>Spodoptera</i> spp.	<i>Steinernema carpocapsae</i>	27
<i>Solenopsis invicta</i>	<i>Steinernema carpocapsae</i>	25

2.8 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Dejavniki, ki vplivajo na preživetje entomopatogenih ogorčic, so notranji, kot na primer genetski, fiziološki in vedenjski dejavniki, ter zunanji dejavniki, ki jih delimo na abiotične in biotične. Abiotični dejavniki so temperatura, vlaga, tekstura tal, UV svetloba in fitofarmacevtska sredstva. Biotični dejavniki, ki so ugodni za ogorčice, ustvarjajo ustrezno okolje za preživetje ogorčic. Mednje sodita prisotnost gostiteljev in rastlin. Biotični dejavniki so lahko tudi antagonistični (Gaugler, 2002).

2.8.1 Abiotični dejavniki

Naravni življenjski prostor entomopatogenih ogorčic so tla. So kozmopoliti, tako da jih lahko najdemo tudi v ekstremnih razmerah ledene Antarktike in na območjih s tropsko vročino. V obdobju evolucije so entomopatogene ogorčice pridobile edinstven mehanizem preživetja, ki jim omogoča preživeti tudi v ekstremnih razmerah.

Ogorčice, kot tudi bakterije, glive in rastline, lahko preživijo neugodne okoljske razmere v dormantnem stanju, ki jim znatno podaljša življenjsko dobo. V stanju dormance so lahko organizmi v diapavzi ali mirovanju. Diapavza je stanje, kjer se razvoj organizma ustavi. Razvoj se ne nadaljuje vse dotlej, dokler niso izpolnjene določene zahteve, tudi če se zopet vzpostavijo ugodne okoljske razmere. Mirovanje pa je neobvezen odgovor na neugodne okoljske razmere. V mirovanju se metabolizem upočasni in se hitro vrne v prvotno stanje, ko se vzpostavijo ugodni okoljski pogoji. Za neugodne okoljske razmere štejemo pomanjkanje vode, ekstremne temperature, pomanjkanje kisika in ozmotski stres. Vsak od teh dejavnikov vpliva na preživetje ogorčic (Gaugler, 2002).

Pri mnogih parazitskih ogorčicah, ki preživijo del življenjskega obdobja v zavarovanem okolju, to je v gostitelju, ima samo infektivni stadij ličinke sposobnost, da preživi zunaj gostitelja. Pri večini entomopatogenih ogorčic povzroči okoljski stres, kot je pomanjkanje hrane, visoka populacijska gostota, vročina in drugo, razvoj infektivnega stadija. Ta stadij je prilagojen morfološko in fiziološko, da preživi zunaj gostitelja in varuje tudi simbiotske bakterije, shranjene v črevesju.

Infektivne ličinke imajo dva sloja zunanje povrhnjice. Povrhnjica se strukturno razlikuje med različnimi vrstami entomopatogenih ogorčic in ima pomembno vlogo pri zadrževanju vode v telesu, s čimer preprečuje izsušitev. V infektivnem stadiju imajo entomopatogene ogorčice zaprto ustno in zadnjično odprtino in s tem preprečujejo vstop mikrobnim škodljivim organizmom in škodljivim kemikalijam. Infektivne ličinke se ne prehranjujejo in so odvisne od svojih notranjih virov energije, ki jo potrebujejo za preživetje vse dotlej, dokler ne najdejo gostitelja. Analize biokemijskih rezerv so pokazale, da sta količina lipidov in sestava maščobnih kislin odvisni od sestave medija, na katerem so se razvijale ogorčice do infektivnega stadija. Raziskave kažejo, da je preživetje infektivnih ličink slabše, če so njihovi energetske viri porabljeni. Preživetje infektivnih ličink 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 uporabljamo v biotičnem varstvu rastlin z namenom, čim hitreje zatreti škodljivce rastlin. Od njih zato pričakujemo, da bodo na kmetijskih zemljiščih aktivne vsaj dva do tri tedne po nanosu. Entomopatogene ogorčice z večjo sposobnostjo preživetja so učinkovitejše pri parazitiranju škodljivcev rastlin. Razjasnitev metabolnih in fizioloških procesov, ki so vključeni v preživetje infektivnih ličink, bo v prihodnje

zagotovo pripomoglo k boljšemu preživetju infektivnih ličink in s tem k boljšemu parazitiranju rastlinskih škodljivcev (Gaugler, 2002).

2.8.1.1 Odpornost na mraz

Ogorčice, katerih življenjski prostor so tla, so izpostavljene temperaturam nižjim od ledišča, in sicer v zmernih, arktičnih in subarktičnih območjih, kot tudi na visokih nadmorskih višinah. Ogorčice iz družine Steinernematidae so našli na nekaterih območjih severne Evrope in Kanade, ogorčice iz družine Heterorhabditidae pa na nekaterih območjih severne Evrope. To dokazuje, da so ogorčice zmožne preživeti tudi v razmerah, kjer se temperatura spusti pod ledišče.

Preživetje v tako hladnih območjih jim omogoča njihova odpornost oziroma dovzetnost na mraz. Organizmi, odporni na mraz, preživijo tvorbo ledu v telesni votlini in v zunajceličnih prostorih. Intracelularna zmrznitev je najpogostejše smrtna. Organizmi, dovzetni na mraz, pa imajo to sposobnost, da telesne tekočine ohranijo v tekočem stanju tudi takrat, ko temperatura pade pod ledišče (Gaugler, 2002).

Dokazano je, da so ogorčice vrst *Steinernema feltiae*, *Steinernema anomali* in *Heterorhabditis bacteriophora* odporne na mraz in lahko preživijo tudi pri temperaturah -22°C, -14°C oziroma -19°C. Nekatere ogorčice lahko preživijo tudi pri temperaturah nižjih od -80°C, kjer se metabolizem skoraj ustavi. Raziskave so pokazale, da bi entomopatogene ogorčice lahko shranjevali tudi v tekočem dušiku (Gaugler, 2002).

2.8.1.2 Odpornost na vročino

Vpliv temperature na entomopatogene ogorčice je odvisen od vrste ogorčic. Na splošno postanejo infektivne ličinke počasne pri temperaturah nižjih od 10°C do 15°C in neaktivne pri temperaturah višjih od 30°C do 40°C. Večina infektivnih ličink je najučinkovitejša pri parazitiranju žuželk pri temperaturah med 20°C in 30°C. Izjemi sta vrsti *Steinernema feltiae*, ki je najučinkovitejša v temperaturnem intervalu med 12°C in 25°C in *Steinernema riobrave* med 25°C in 35°C (Koppenhöfer, 2000).

V razmerah s temperaturo nižjo od 0°C ali višjo od 40°C večina vrst ogorčic ne preživi. Preživetje je odvisno tudi od trajanja izpostavljenosti takšnim pogojem. Na splošno infektivne ličinke najboljše preživijo v temperaturnem intervalu med 5°C in 15°C. Višje temperature povzročijo višjo metabolno aktivnost in porabo energijske rezerve in zato krajšo življenjsko dobo (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Temperature višje od 32°C imajo negativen vpliv na razmnoževanje, rast in preživetje različnih organizmov, tudi ogorčic. V tleh so ogorčice varovane pred ekstremnimi temperaturami in tu lahko tudi poiščejo

območje z ugodnejšo temperaturo ali vlago. Osnovni cilj številnih raziskovalnih projektov v zadnjih letih je povečati odpornost entomopatogenih ogorčic na vročino (Kaya, 2000).

2.8.1.3 UV svetloba

Entomopatogene ogorčice so zelo občutljive na sončno svetlobo, še posebno na UV sevanje. S poskusi je bilo dokazano, da je ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora*, ki je bila izpostavljena 4 min UV sevanju z valovno dolžino 302 nm, znatno izgubila sposobnost parazitiranja, kot tudi vrsta *Steinernema carpocapsae*, če je bila izpostavljena enakemu sevanju za 6 min (Smith, 1999). UV svetloba lahko povzroči smrt ogorčic v nekaj minutah (Koppenhöfer, 2000).

2.8.1.4 Odpornost na sušo

Ogorčice so občutljive na številne okoljske dejavnike, vključno na sušo, kar zelo omejuje njihovo uporabo v biotičnem varstvu rastlin. Ogorčice potrebujejo vodni film okoli svojega telesa. Sušne razmere slabo vplivajo na njihovo premikanje in preživetje (O'Leary s sod., 2001). Nekatere ogorčice tvorijo tanko povrhnjico, kadar so izpostavljene sušnim razmeram. To zmanjša izgubo vode zaradi zmanjšanja kutikule, ki je izpostavljena izsuševanju. Entomopatogene ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae lahko preživijo 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).

Ugotovljeno je bilo, da ogorčica *Steinernema carpocapsae*, v razmerah počasnega izsuševanja, preživi znatno dlje kot druge vrste entomopatogenih ogorčic. Vrsti *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis megidis* zelo slabo prenašata sušo. Če je izsuševanje postopno in imajo dovolj časa za prehod v neaktivno stanje lahko infektivne ličinke preživijo v tleh z nizko vsebnostjo vlage. Pri nekaterih vrstah ogorčic, kot na primer *Steinernema glaseri* in *Steinernema carpocapsae*, so raziskovalci opazili, da so v sušnih razmerah izgubile sposobnost zvijanja. Če se foliarni nanos ogorčic izvede podnevi, je življenjska doba ogorčic le nekaj minut ali ur, če ni relativna zračna vlaga blizu 100 % (Wardlow in sod., 2002). Ogorčice poginejo zaradi izsušitve ali zaradi vpliva UV svetlobe (Kaya, 2000). Suša lahko povzroči dormanco ogorčic, kar jim omogoča preživetje ob neugodnih okoljskih razmerah. Tedaj lahko izgubijo tudi do 95 % telesne tekočine (Grewal in Jagdal, 2002). Ogorčice se lahko izognejo izsušitvi tako, da ostanejo v gostitelju, dokler se vlažnost v okolju ne izboljša (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Parazitirani gostitelji tedaj ogorčice varujejo pred neugodnimi okoljskimi razmerami (Koppenhöfer, 2000).

2.8.1.5 Odpornost na osmozo

Ogorčice lahko prenašajo velike spremembe koncentracije soli v okolju. Težave pri tem povzročajo vdor vode v telo zaradi osmoze. Nekatere vrste ogorčic imajo posebne mehanizme za odstranjevanje odvečne vode. Odstranjujejo jo z uravnavanjem permeabilnosti kutikule oziroma skozi črevo ali z izločanjem soli in tako zmanjšajo osmotski gradient. Dokazano je, da infektivne ličinke vrste *Steinernema carpocapsae*, dehidrirane zaradi osmoze ali izsušitve, enako dobro prenašajo vročinski stres. Ni pa jasnih dokazov, da dehidriranost zaradi osmoze vzpodbudi dormanco, podobno kot pri počasnem izsuševanju (Gaugler, 2002).

2.8.1.6 Kisik

Ker so ogorčice aerobni organizmi, vpliva zmanjšanje dostopnosti kisika na njihovo preživetje. Kisik je omejujoč dejavnik v glinastih tleh, mokrih tleh in v tleh z visoko vsebnostjo organskih snovi. Ni še jasnih dokazov, da zmanjšanje koncentracije kisika vzpodbudi dormanco pri ogorčicah iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Infektivne ličinke ogorčice *Steinernema carpocapsae* postanejo popolnoma neaktivne, če so 16 ur izpostavljene anerobnim razmeram. Aktivne postanejo, če so ponovno izpostavljene aerobnim razmeram. V anaerobnih razmerah so infektivne ličinke vrste *Steinernema carpocapsae* odvisne od svojih zalog ogljikovih hidratov, ki jih porabijo za proizvodnjo energije. Čas, ki ga infektivne ličinke lahko preživijo v anaerobnih razmerah, je zelo odvisen od temperature (Gaugler, 2002).

2.8.1.7 pH in slanost tal

Entomopatogene ogorčice zelo dobro prenašajo različne pH vrednosti tal. Našli so jih v različnih tipih tal, katerih pH se je gibal od 4,0 do 8,1 (Smith, 1999). Če je pH tal višji od 10, se smrtnost infektivnih ličink znatno poveča (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Slanost tal ima manjši negativni vpliv na preživetje entomopatogenih ogorčic. Te lahko preživijo v tleh, katerih slanost je veliko nad sprejemljivo za večino kmetijskih rastlin. Visoka koncentracija NaCl ima negativen vpliv na preživetje ogorčic vrste *Heterorhabditis bacteriophora*, medtem ko na preživetje vrste *Steinernema glaseri* nima vpliva. Koncentracija CaCl in KCl nima vpliva na entomopatogene ogorčice. Morska voda nima vpliva na preživetje večine vrst ogorčic iz rodu *Heterorhabditis* (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

2.8.1.8 Hkratna uporaba entomopatogenih ogorčic in fitofarmaceutskih sredstev

Entomopatogene ogorčice je mogoče nanašati skupaj s fitofarmaceutskimi sredstvi, bioinsekticidi ali mineralnimi gnojili. Do medsebojnega vpliva pride v odvisnosti od sestavin, časa nanosa in fizikalno-kemijskih lastnosti fitofarmaceutskih sredstev. Vpliv je lahko antagonističen ali sinergističen. Ogorčice so »združljive« s številnimi herbicidi, fungicidi, akaricidi, insekticidi, nematicidi in izdelki na podlagi *Bacillus thuringensis*. Ugotovljeno je tudi bilo, da ima veliko fitofarmaceutskih sredstev negativen vpliv na infektivne ličinke. Na drugi strani je bilo dokazano sinergistično delovanje entomopatogenih ogorčic in številnih insekticidov. Zaradi številnih in raznovrstnih fitofarmaceutskih sredstev, ki so na trgu, pa ni možno splošno zagovarjati o združljivosti fitofarmaceutskih sredstev in ogorčic. Združljivost za vsako fitofarmaceutsko sredstvo in vrsto entomopatogene ogorčice je namreč potrebno oceniti ločeno (Kaya, 2000).

Ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae lahko preživijo, tudi če so izpostavljene številnim fitofarmaceutskim sredstvom. Vendar pa so infektivne ličinke občutljive na več nematicidov, ki se uporabljajo v kmetijstvu. Nekatera fitofarmaceutska sredstva je priporočljivo uporabiti šele po enem ali dva tednih po aplikaciji ogorčic (Smith, 1999).

Kompost in urea nimata negativnega vpliva na ogorčice, medtem ko ga sveži gnoj ima. Drugače je z vplivom gnojil na naravne populacije ogorčic; na naravne populacije negativno vplivajo mineralna gnojila, pozitivno pa organska gnojila (Koppenhöfer, 2000).

Težke kovine, kot so kadmij, baker, svinec in cink, vplivajo na povečano smrtnost infektivnih ličink vrste *Steinernema feltiae*, na slabšo učinkovitost parazitiranja gostiteljev in tudi na manjšo reprodukcijo ogorčic (Jaworska in Gorczyca, 2002).

2.8.2 Biotični dejavniki

Biotični dejavniki, kot je prisotnost rastlin in gostiteljev ogorčic, vplivajo na vlažnost, temperaturo in poroznost tal in s tem ustvarjajo ustrezno okolje za preživetje ogorčic. Biotični dejavniki so lahko tudi antagonistični in jih delimo v več skupin, in sicer v antibiozo, kompetitorje, naravne sovražnike in mrhovinarje (Gaugler, 2002).

2.8.2.1 Antibioza

Rastline sproščajo nekatere sekundarne metabolite prek korenin v tla. S tem lahko negativno vplivajo na infektivne ličinke pri iskanju gostiteljev. Prisotnost sekundarnih metabolitov v gostitelju lahko negativno vpliva na razmnoževanje ogorčic (Gaugler, 2002).

2.8.2.2 Kompetitorji

Vrstno in medvrstno tekmovanje ogorčic se lahko kaže v zmanjšani življenjski moči ogorčic oziroma vodi v beg ogorčic.

Za vrstno tekmovanje je značilno, da več infektivnih ličink parazitira enega gostitelja, pri čemer lahko ogorčice medsebojno tekmovanje fizično oslabi. Čeprav se lahko več ogorčic iz rodu *Steinernema* razvija v enem gostitelju, pa že prisotnost ene dodatne ogorčice zmanjša življenjsko moč obeh, kar se odraža v manjši reprodukciji. To lahko vodi tudi do lokalnega iztrebljenja določene vrste entomopatogene ogorčice (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Z različnim načinom iskanja gostitelja oziroma različnimi potrebami po določenih vrstah gostiteljev lahko različne vrste entomopatogenih ogorčic živijo v istem prostoru (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Medvrstno tekmovanje je tekmovanje med entomopatogenimi ogorčicami in drugimi organizmi, kot so virusi, bakterije in glive. Medvrstno tekmovanje je posredno tekmovanje, saj prej omenjeni organizmi tekmujejo za dosego gostitelja in ne med seboj. Preživetje ogorčic je boljše v sterilnih kot v nesterilnih tleh (Smart, 1995).

Ko virusi okužijo gostitelja, ta ponavadi pogine v petih do dvajsetih dneh. Gostitelja, okuženega z virusom, lahko vrsta *Steinernema carpocapsae* parazitira in se v njem tudi razvija. Z virusom okužen gostitelj ima mehkejšo povrhnjico, še posebno dan ali dva pred poginom. Ko infektivna ličinka vrste *Steinernema carpocapsae* parazitira gostitelja, okuženega z virusom, se v njem razvija vse dotlej, dokler povrhnjica gostitelja ne počí. Takrat so razvijajoče se ogorčice izpostavljene zunanjim vplivom in poginejo še preden se lahko razvijejo infektivne ličinke. Če povrhnjica gostitelja ne počí, se razvije znatno manj infektivnih ličink kot v gostitelju, ki ni okužen z virusom. Verjetno je v gostitelju, okuženim z virusom, manj hranil kot v neokuženem gostitelju (Gaugler, 2002).

Gostitelja, okuženega z bakterijo *Bacillus thuringiensis*, lahko parazitirajo tudi infektivne ličinke ogorčic *Steinernema carpocapsae* ali *Heterorhabditis bacteriophora*. Razvoj omenjenih ogorčic v okuženem gostitelju je odvisen od tega, kdaj je bil gostitelj izpostavljen okužbi z *Bacillus thuringiensis*. V primeru, da gostitelja najprej parazitirajo infektivne ličinke ogorčic in šele nato *Bacillus thuringiensis*, se ogorčice normalno razvijejo v gostitelju. Če pa gostitelja najprej okuži *Bacillus thuringiensis* in šele nato parazitirajo infektivne ličinke, je razvoj ogorčic zelo počasen ali pa ga sploh ni. V tem primeru *Bacillus thuringiensis* preprečuje razvoj simbiotskih bakterij infektivnih ličink. V primeru, ko infektivne ličinke prve parazitirajo gostitelja, njihova simbiotska bakterija preprečuje razvoj bakterij *Bacillus thuringiensis* (Gaugler, 2002).

V primeru, da voščeno veščo (*Galleria mellonella*) hkrati napadeta entomopatogena gliva *Beauveria bassiana* in infektivne ličinke ogorčic *Steinernema carpocapsae* ali *Heterorhabditis bacteriophora*, se ogorčice v gostitelju normalno razvijejo. Infektivne

ličinke novega rodu v večini primerov niso okužene z entomopatogeno glivo. Na to verjetno vplivata obe vrsti simbiotskih bakterij ogorčic z izločanjem antibiotikov, ki zavirajo rast glive *Beauveria bassiana*. Če pa je gostitelj že okužen z entomopatogeno glivo, ima ta antagonističen vpliv na entomopatogene ogorčice. Z mikotoksini gliva preprečuje ogorčicam dostop do hrane. Poskusi so pokazali, da se ogorčice v tleh izogibajo gostiteljev, ki so okuženi z entomopatogeno glivo *Beauveria bassiana* (Gaugler, 2002).

2.8.2.3 Naravni sovražniki

Predatorji in paraziti entomopatogenih ogorčic lahko zelo zmanjšajo učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju žuželk. Tudi simbiotske bakterije imajo svoje naravne sovražnike, ki negativno vplivajo na entomopatogene ogorčice (Kerry, 1995).

Infektivne ličinke so lahko žrtve pršic (Acarina) in predatorskih ogorčic (Kaya, 2000). Do sedaj še niso našli virusnih ali bakterijskih patogenov, ki bi jih izolirali iz entomopatogenih ogorčic (Kaya in sod., 1998).

Številni nevretenčarji, pršice in žuželke so predatorji ogorčic, ki lahko zelo vplivajo na njihovo številčnost. Še posebno pomemno vlogo imajo v tej povezavi pršice (Smart, 1995).

Nematogene glive lahko najdemo v različnih tipih tal po vsem svetu. Pojavljajo se v dveh oblikah, in sicer v obliki predatorjev in v obliki endoparazitskih gliv. Obe obliki nematogenih gliv imata prilagodljive hife, s katerimi zaužijeta vsebino telesa ogorčic. Nekatere nematogene glive so dovzetne samo za določene vrste ogorčic, medtem ko lahko druge napadajo vse vrste. Nematogene glive se uporabljajo v biotičnem varstvu rastlin, in sicer za zatiranje rastlinskih parazitskih ogorčic (Gaugler, 2002).

Predatorske glive, kot so *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys dactyloides*, *Monacrosporium ellipso sporum* in *Monacrosporium cionopagum*, dosežejo ogorčice s posebnimi hifami. Hife so lahko v obliki lepljivih hif, vejic, mrež ali bradavic. S hifami predatorske glive nato prodrejo skozi telesne odprtine ogorčic in tako ubijejo gostitelja. Predatorske glive lahko preživijo tudi kot saprofiti (Gaugler, 2002).

Endoparazitske glive, kot na primer *Drechmeria coniospora*, *Verticillium balanoides* in *Hirsutella rhossiliensis*, s pomočjo konidijev ali zoospor okužijo kutikulo in nato prodrejo v telo ogorčice (Kaya in sod., 1998; Gaugler, 2002).

2.8.2.4 Vsejedci in mrhovinarji

Tudi vsejedci in mrhovinarji vplivajo na populacije entomopatogenih ogorčic. Ko infektivne ličinke napadejo gostitelja, ta pogine v roku 48-ih ur in tako poginuli gostitelj ostane v tleh ali na talnem površju vsaj 7 do 15 dni preden ga zapustijo infektivne ličinke novega rodu. V tem času obstaja nevarnost, da poginulega gostitelja zaužije vsejdec ali mrhovinar. Znanstveniki predvidevajo, da fluorescenčna svetloba, ki jo proizvajajo bakterije iz rodu *Photorhabdus*, v poginulih gostiteljih, ki so jih napadle entomopatogene ogorčice iz družine Heterorhabditidae, odvrčajo mrhovinarje (Gaugler, 2002).

Več vrst mravelj se hrani na poginulih žuželkah, ki so jih napadle entomopatogene ogorčice iz družine Steinernematidae, zelo malo pa se jih hrani na poginulih žuželkah, ki so poginile zaradi napada entomopatogenih ogorčic iz družine Heterorhabditidae (Kaya, 2002).

2.8.3 Notranji dejavniki

2.8.3.1 Vertikalno in horizontalno premikanje

Entomopatogene ogorčice se v tleh premikajo vertikalno in horizontalno. Po prostoru se razporejajo zelo neenakomerno, odvisno od vrste ogorčic. Na splošno se ogorčice vrste *Heterorhabditis bacteriophora* bolje razporedijo po prostoru kot tiste iz vrst *Steinernema carpocapsae* ali *Steinernema feltiae*. Ogorčica *Steinernema carpocapsae* se zadržuje v globini od enega do dveh centimetrov, vrsta *Heterorhabditis bacteriophora* pa v globini osmih centimetrov. Omenjeni vrsti med seboj ne tekmuje za gostitelje (Kamionek, 1997).

Ogorčice se lahko v dveh tednih premaknejo tudi do 50 cm, in sicer v tleh, ki vsebujejo 40 % peska, 33 % blata in 26 % gline (Kamionek, 1997).

2.8.3.2 Aktivno in pasivno premikanje

Infektivne ličinke se po prostoru širijo horizontalno in vertikalno, in sicer tako aktivno kot pasivno. Pasivno se premikajo z dežjem, vetrom, zemljo, živalmi ali ljudmi. Aktivno premikanje merimo v cm, pasivno v km (Smart, 1995).

2.8.3.3 Načini iskanja gostitelja

Infektivne ličinke iščejo gostitelja aktivno ali pa ga čakajo na mestu, oziroma ga iščejo na kombiniran način.

Infektivne ličinke, ki gostitelja čakajo na mestu, se zelo malo premikajo in stremijo k temu, da se zadržujejo blizu površja tal. S tem načinom iskanja gostitelja so uspešne pri iskanju premičnih gostiteljev blizu površja, kot so na primer gosenice. Tak način iskanja gostitelja je značilen za ogorčice vrst *Steinernema carpocapsae* in *Steinernema scapterisci*. Ogorčice teh vrst se ostavijo na zadnji del telesa, rep, in tako čakajo na mimoidoče gostitelje. Infektivne ličinke, ki na gostitelja čakajo na mestu, se na večje razdalje prenašajo s pomočjo vode, vetra, parazitiranih gostiteljev in ljudmi (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Nekatere vrste ogorčic iščejo gostitelja s premikanjem po prostoru. Te vrste so uspešne pri zatiranju žuželk, ki se ne premikajo veliko. Takšni vrsti ogorčic sta na primer *Steinernema glaseri* in *Heterorhabditis bacteriophora*. Infektivne ličinke, za katere je značilno aktivno iskanje gostitelja, se lahko v tridesetih dneh premaknejo za devetdeset centimetrov horizontalno ali vertikalno (Gaugler, 2002).

Za večino entomopatogenih ogorčic je značilen kombiniran način iskanja, med aktivnim iskanjem gostitelja in čakanjem na gostitelja. Ogorčice nekaj časa iščejo gostitelja aktivno po prostoru, nekaj časa pa ga čakajo na mestu, da ta pride mimo. Takšni vrsti ogorčic sta na primer *Steinernema riobrave* in *Steinernema feltiae* (Kaya, 2000).

2.8.3.4 Nihanje telesa

Za infektivne ličinke je značilno nihanje telesa, kjer je 30-95 % telesa za nekaj sekund dvignjeno od podlage. Nekatere ogorčice lahko dvignejo tudi več kot 95 % telesa, tako da se postavijo na rep. Ko stojijo na repu so vzravnane in mirne ali pa se izmenično gibajo naprej in nazaj (Kaya, 2000). Nihanje ima več oblik, od pokončnega stanja brez premikanja do delnega dviga od tal in hitrega nihanja naprej in nazaj. Ogorčice, ki gostitelja čakajo na mestu, nihajo več kot 70 % iskalnega časa. Z dvigom skoraj celega telesa od podlage lahko napadejo mimoidočega gostitelja. Ogorčice s kombiniranim načinom iskanja gostitelja nihajo manj pogosto in tudi krajši čas, kot na primer vrsta *Steinernema riobrave* ali pa sploh ne nihajo, kot na primer ogorčica *Steinernema feltiae*. Za ogorčice, ki svojega gostitelja iščejo aktivno, nihanje ni značilno. Infektivne ličinke nekaterih vrst, kot na primer vrsti *Steinernema carpocapsae* in *Steinernema scapterisci*, po več ur preživijo v dvignjenem stanju brez nihanja. Ogorčici *Steinernema feltiae* in *Steinernema riobrave* se redkokdaj dvignejo od podlage in še takrat za kratek čas (Gaugler, 2002).

2.8.3.5 Skakanje

Infektivne ličinke, za katere je značilno nihanje, lahko tudi skačejo. Skakanje je lahko neposredno, to je na gostitelja ali posredno, za premikanje (Kaya, 2000). Za nekatere vrste ogorčic iz družine Steinernematidae je značilno, da skačejo. Vrsta *Steinernema*

carpocapsae meri v dolžino 0,56 mm in lahko skoči do 4,8 mm v dolžino in 3,9 mm v višino. Pogostnost skakanja je spremenljiva med vrstami, poveča pa jo mehanski dotik, veter in vonj gostitelja. Ugotovljeno je bilo, da vrsti *Steinernema carpocapsae* in *Steinernema scapterisci* skačeta proti vonju gostitelja, kar dokazuje, da je skakanje povezano z iskanjem gostitelja ličink (Grewal, 1999b).

Preglednica 4: Velikost, nihanje, način iskanja gostitelja in temperaturni interval v katerem so infektivne ličinke aktivne (Grewal, 1999b).

Table 4: Size of nematodes, nictating, way of searching for a host and temperature interval where infective juveniles are active (Grewal, 1999b).

Vrsta ogorčice	Dolžina x širina telesa (µm)	Nihanje	Način iskanja gostitelja	Temperaturni interval v katerem so infektivne ličinke aktivne (°C)
<i>Steinernema carpocapsae</i>	438-650 x 20-30	da	čakanje	10-32
<i>Steinernema feltiae</i>	736-950 x 22-29	da	kombinirano	8-30
<i>Steinernema glaseri</i>	864-1448 x 31-50	ne	aktivno	10-37
<i>Steinernema riobrave</i>	561-701 x 26-30	da	kombinirano	10-39
<i>Steinernema scapterisci</i>	517-609 x 18-30	da	čakanje	10-35
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	512-671 x 18-31	ne	čakanje	10-32
<i>Heterorhabditis megidis</i>	736-800 x 27-32	ne	čakanje	8-32

2.9 PROIZVODNJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Entomopatogene ogorčice lahko gojimo »in vivo« in »in vitro« (Ehlers, 2001).

2.9.1 Gojenje »in vivo«

»In vivo« gojenje ogorčic poteka s pomočjo žuželk, njihovih gostiteljev. Gojenje na ta način je zelo zanesljivo in poceni (Grewal, 1999c). Navadno so gostitelji ličinke voščene večse (*Galleria mellonella*). Voščena večša je znana kot vrsta, ki je ustrezna za gojenje različnih vrst ogorčic. Pridelek na eno ličinko voščene večše je do $3,5 \times 10^5$ infektivnih ličink oziroma do 4×10^5 , kot navaja Grewal (1999c). Za tretiranje enega ha z $2,5 \times 10^5$ infektivnimi ličinkami potrebujemo 25 ličink voščene večše. Pridelek ogorčic na način »in vivo« je lahko manjši zaradi virusnih okužb ličink (Grewal, 1999b).

2.9.2 Gojenje »in vitro«

»In vitro« gojenje ogorčic poteka na trdem ali tekočem gojišču.

2.9.2.1 Trdo gojišče

Trdo gojišče je že leta 1931 odkril Rudolf Glaser. Takrat še niso poznali simbiotske bakterije. Ogorčice so gojili na gojišču iz tankih rezin telečjega mesa, z dodatkom salicilne kisline in formaldehida za preprečitev okužbe z mikrobi. Leta 1981 je Bedding razvil gojišče, ki je bilo kot prvo uspešno uporabljeno za komercialno proizvodnjo ogorčic. Pri tej metodi so ogorčice gojili na gojišču, sestavljenem iz nadrobljene poliuretanske gobe, prepojene z emulzijo goveje maščobe in prašičjih ledvic. Na en gram trdega gojišča je bil pridelek od 6×10^5 do 10×10^5 infektivnih ličink (Grewal, 1999c). Za trdo gojišče so ustrezne sestavine, kot so goveja ali svinjska jetra ali kokošja drobovina. Te sestavine so ponavadi zmlete in v obliki paste nanesene na porozno podlago, kot je na primer goba (Smart, 1995). To je cenejši način proizvodnje in zahteva manj znanja kot gojenje ogorčic v tekočem gojišču (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Poceni se lahko goji ogorčice tudi na gojišču, pasji hrani, kot je to na primer trgovski izdelek Top-Karm (Pezowicz in sod., 1997).

2.9.2.2 Tekoče gojišče

Leta 1990 je Friedman poročal o tekoči fermentacijski metodi za proizvodnjo velikega števila infektivnih ličink. Za proizvodnjo ogorčic vrste *Steinernema carpocapsae* je predlagal tekočo kulturo, sestavljeno iz sojine moke, kvasa, koruznega olja in rumenjaka. Pridelek je bil $1,1 \times 10^5$ infektivnih ličink na ml tekoče kulture. Večina proizvajalcev goji entomopatogene ogorčice na tekočem gojišču, saj je proizvodnja zelo poceni in pridelek velik. Sestava tekočega gojišča je varovana skrivnost vsakega proizvajalca. Gojenje entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis* je v tekoči kulturi nestabilno (Shapiro in Gaugler, 2002).

2.10 FORMULACIJA OGORČIC

Formulacija entomopatogenih ogorčic se nanaša na pripravo sredstva, ki je sestavljeno iz aktivne snovi, to je entomopatogenih ogorčic, in dodatkov. Formulacija je namenjena izboljšanju učinkovitosti, transportu, enostavnejši uporabi in nespremenljivosti aktivne snovi med shranjevanjem. Velika vsebnost kisika in vlažnost, občutljivost na ekstremne temperature in obnašanje infektivnih ličink so dejavniki, ki omejujejo možnosti izbire formulacijskih oblik in sestavin. Glavni cilj pri oblikovanju formulacij entomopatogenih

ogorčic je povečanje stabilnosti med shranjevanjem, enostaven transport in uporaba (Grewal, 1998).

Škodljive dejavnike okolja je mogoče omejiti z nekaterimi dodatki k formulaciji. Ker so škodljivi dejavniki okolja največji pri foliarni aplikaciji, so ti dodatki v glavnem namenjeni ogorčicam, ki zatirajo nadzemske škodljivce rastlin. Bauer (1997) priporoča dodatek olja Rodspray za preprečevanje izsuševanja, Broadbent in Olthop (1995) pa priporočata glicerol. Ker so dodatki lahko fitotoksični ali negativno vplivajo na infektivne ličinke oziroma služijo kot substrat za rast gliv ali bakterij, mora biti vsak dodatek preverjen za vsako vrsto rastlin in škodljivcev. Schroeder in Sieber (1997) poročata, da sredstvo za pomivanje posode poveča hitrost prehajanja ogorčic v tla (Koppenhöfer, 2000).

2.10.1 Formulacija za shranjevanje in transport

Infektivne ličinke so lahko shranjene v vodni suspenziji pri nizki temperaturi tudi več mesecev. Uporabo takšnega načina shranjevanja in transporta pa ovirajo veliki stroški in težave pri ohranjanju kakovosti ogorčic. Velike potrebe po kisiku, občutljivost nekaterih vrst ogorčic na nizke temperature in občutljivost na okužbe z mikrobi so dejavniki, ki vplivajo na kakovost ogorčic, shranjenih v vodni suspenziji. Zato so ogorčice navadno formulirane v netekočih ali delno tekočih medijih (Grewal, 2000a).

Infektivne ličinke so lahko shranjene v vodni suspenziji pri temperaturi od 4°C do 15°C, odvisno od vrste ogorčic in sicer za obdobje od 6 do 12 mesecev za ogorčice iz rodu *Steinernema*, in od 3 do 6 mesecev za ogorčice iz rodu *Heterorhabditis*. Pri višji temperaturi je življenjska doba tako shranjenih ogorčic krajša.

Danes je na trgu že veliko formulacij z ogorčicami, temelječih na vlažni podlagi, kot je na primer goba in vermikulit (Grewal, 1998). Takšne formulacije morajo biti shranjene pri nižjih temperaturah, da ostanejo ogorčice dlje žive. Za podaljšanje obstojnosti in odpornosti na ekstremne temperature so bile razvite formulacije, ki zmanjšajo metabolizem infektivnih ličink, kar se doseže z zmanjšanjem aktivnosti infektivnih ličink ali z njihovim delnim izsuševanjem (Grewal, 2000b). Formulacije se razlikujejo glede na vrste entomopatogenih ogorčic, saj različne vrste zahtevajo različno vlago in imajo različne potrebe po kisiku. Trenutno je najobetavnejša formulacija z vodotopnimi granulami, ki združuje tako dolgo obstojnost ogorčic brez hlajenja (6 mesecev od 4°C do 25°C oziroma 2 meseca pri 30°C) kot enostavno uporabo. Delno izsušene infektivne ličinke je potrebno po aplikaciji dobro navlažiti, zato so za učinkovito uporabo takšne formulacije najustreznejša zelo vlažna tla. Za foliarno aplikacijo je potrebno delno izsušene infektivne ličinke še pred uporabo dobro navlažiti. Uporaba formulacij z delno izsušenimi infektivnimi ličinkami je za foliarno aplikacijo nepraktična (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

2.10.2 Formulacije za povečanje učinkovitosti po aplikaciji

Nizka stopnja preživetja infektivnih ličink po nanosu v tla ali na tla zmanjšuje njihovo učinkovitost. Razvoj formulacij, s katerimi bodo ogorčice zavarovane pred ekstremnimi okoljskimi vplivi med in po nanosu, lahko zelo izboljša učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri parazitiranju gostiteljev (Gaugler, 2002).

2.10.2.1 Okužene žuželke

Ogorčice, formulirane v obliki okuženih ličink voščene vešče (*Galleria mellonella*), so bolj učinkovite pri zatiranju rastlinskih škodljivcev kot ogorčice v vodni suspenziji (Gaugler, 2002).

2.10.2.2 Vabe

Formulacija ogorčic v obliki vab je sestavljena iz infektivnih ličink, inertnega nosilca (koruzni zdrob, arašidov strok ali pšenični otrobi) in spodbujevalca hranjenja (glukoza, melasa) ali feromonov. Takšna formulacija je posebno učinkovita z ogorčicami vrst *Steinernema carpocapsae* in *Steinernema scapterisci*, saj ti dve vrsti na svojega gostitelja čakata v zasedi in zato ne zapuščata formulacije. Formulacija, ki ogorčicam zagotavlja stik s ciljnim škodljivcem, se je v nekaterih primerih izkazala za bolj učinkovito od kemijskih pripravkov (Gaugler, 2002).

2.10.3 Dejavniki, ki vplivajo na preživetje ogorčic v formulacijah

Na preživetje ogorčic v formulacijah vpliva metoda gojenja ogorčic, količina shranjene energijske rezerve, temperatura in okužba z mikrobi.

Dokazano je, da so ogorčice, gojene »in vivo«, stabilnejše od gojenih »in vitro« (Grewal, 2002).

Lipidi predstavljajo 60 % suhe snovi infektivnih ličink in veljajo za glavno energijsko rezervo. Količina lipidov se spreminja med vrstami in tudi znotraj vrste. Poraba lipidov je prav tako različna med vrstami in znotraj njih, nanjo pa vpliva temperatura, razpoložljivost kisika in aktivnost ogorčic (Grewal, 2002).

Temperatura je najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na preživetje ogorčic v formulacijah. Za vsako vrsto ogorčic je značilna najustreznejša temperatura shranjevanja, ki pa je precej nižja od najustreznejše temperature za aktivnost in razmnoževanje ogorčic. Najustreznejša

temperatura shranjevanja ogorčic odraža klimatske razmere od koder vrsta izvira (Grewal, 2000a).

Okužba z mikrobi je pogosta težava formulacij z večjo vsebnostjo vode oziroma vlage. Mikrobi črpajo razpoložljiv kisik, vplivajo na slabšo razpršenost formulacije, povzročajo zamašitve cevi v škropilnicah in zmanjšajo učinkovitost (Grewal, 1998).

2.10.3.1 Ugotavljanje vitalnosti

Vitalnost infektivnih ličink se določa pod mikroskopom na podlagi premikanja ogorčic v vodni suspenziji (Koppenhöfer, 2000). Vse vrste entomopatogenih ogorčic, razen *Steinernema carpocapsae*, se premikajo z vijuganjem, zvijanjem telesa. Med premikanjem imajo obliko črke »S«. Infektivne ličinke ogorčice *Steinernema carpocapsae* se premaknejo le, če jih k temu prisilimo z rahlim dotikom. Njihovo telo je med mirovanjem ravno, z rahlo upognjenim repom, v obliki črke »J« (Lewis, 2000). Tudi vrsta *Steinernema riobrave* ima med mirovanjem obliko črke »J«. Telo infektivne ličinke ogorčice *Steinernema feltiae* je med mirovanjem rahlo upognjeno, v obliki črke »C« (Koppenhöfer, 2000). Mrtve ogorčice so ponavadi ravne, iztegnjene in podobne tanki igli (Grewal, 1999b) (Lewis, 2000).

2.10.3.2 Ugotavljanje učinkovitosti

Učinkovitost na trgu dostopnih infektivnih ličink je mogoče preverjati v laboratorijskih razmerah. Na dno petrijevke položimo filter papir ali pa dno petrijevke prekrijemo s peskom. Na podlago naneseemo infektivne ličinke. Podlaga mora biti vlažna, vendar ne namočena. Nato v petrijevko dodamo ličinke voščene vešče (*Galleria mellonella*). Za preprečitev izsuševanja petrijevko pokrijemo in položimo v plastično posodo, ki omogoča kroženje zraka. Inkubacijska doba traja vsaj 48 ur pri ustrezni temperaturi. Inkubacijska doba je daljša pri nižji temperaturi. Po 48-ih urah preštejemo poginule ličinke voščene vešče in s seciranjem preverimo okužbo oziroma preštejemo ogorčice v poginulih gostiteljih (Koppenhöfer, 2000).

2.11 TEHNOLOGIJE NANOSOV OGORČIC

Za nanos ogorčic lahko uporabljamo opremo, ki je namenjena škropljenju s fitofarmaceutskimi sredstvi, gnojenju ali namakanju. Uporablja se ročne škropilnice, nahrbtnne in traktorske škropilnice, pršilnike in tudi letala. Infektivne ličinke prenesejo pritisk do 1086 kPa in lahko prehajajo prek škropilnih cevi, katerih premer znaša vsaj 100 µm. Žuželke, ki delajo izvrtine v rastlinah, je mogoče zatreti tudi z neposrednim

vbrizgavanjem suspenzije ogorčic v izvrtine ali pa odprtine izvrtin zapremo z gobo, prepojeno z infektivnimi ličinkami (Koppenhöfer 2002) .

Priporočljiv je nanos ogorčic v zgodnjih jutranjih ali poznih večernih urah oziroma v oblačnih dneh, ko ni nevarnosti za izsušitev ogorčic, negativnega vpliva UV svetlobe ali ekstremnih temperatur (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Čeprav entomopatogene ogorčice v glavnem uporabljamo za kurativno tretiranje, so znana tudi priporočila za preventivno tretiranje okoli sadik in semena. Standardna koncentracija nanosa je ena milijarda ogorčic na 0,5 ha polja oziroma 20000 ogorčic na lonček s premerom 30 cm (Lewis, 2000).

2.12 VPLIV ENTOMOPATOGENIH OGORČIC NA NECILJNE ORGANIZME

Laboratorijski poskusi in poskusi na prostem so pokazali, da so žuželke iz 17 redov in 135 družin do neke stopnje dovzetne na delovanje entomopatogenih ogorčic. Širok spekter delovanja entomopatogenih ogorčic na žuželke in njihova velika uporaba sta spodbudila raziskovalce k proučevanju vpliva entomopatogenih ogorčic in simbiotskih bakterij na neciljne organizme in okolje (Gaugler, 2002).

2.12.1 Nevretenčarji

Podatki o naravnih gostiteljih ogorčic iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* so zelo pomankljivi. Prvi podatki o naravnih gostiteljih entomopatogenih ogorčic so bili pridobljeni iz naravno parazitiranih žuželk, pozneje pa iz, v ta namen, nastavljenih gostiteljskih žuželk.

Nevretenčarski predatorji in parazitoidi so lahko »prizadeti« s strani entomopatogenih ogorčic zaradi neposrednega vpliva ali zaradi zmanjšane populacije gostiteljev. Nekatere parazitoidne vrste so bile posredno prizadete prek parazitiranega gostitelja. Navadno so predatorji prizadeti neposredno, parazitoidi pa posredno prek gostitelja. Vpliv ogorčic je različen tudi v odvisnosti od razvojnega stadija predatorjev in parazitoidov. Ugotovljeno je bilo, da je najverjetnejša okužba tistih neciljnih organizmov, ki imajo med nanosom entomopatogenih ogorčic aktiven razvojni stadij (Gaugler, 2002).

Entomopatogene ogorčice lahko v laboratorijskih razmerah parazitirajo in se razmnožujejo tudi v členonožcih, ki niso žuželke, kot so na primer drobnonoge (Symphyla), pajki (Arachnida), raki (Crustacea) in dvojnonoge (Diplopoda). Entomopatogene ogorčice so škodljive tudi za nekatere vrste klopov. Proučevan je bil vpliv na različne vrste deževnikov. V nekaterih primerih je bil razvoj ogorčic v deževnikih potrjen, vendar niso ugotovili parazitskega delovanja na populacije deževnikov. Nekatere vrste iz razreda

Gastropoda so občutljive na entomopatogene ogorčice. Ugotovljeno je bilo, da se v laboratorijskih razmerah ogorčice vrst *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* in *Heterorhabditis bacteriophora* lahko razvijejo in razmnožujejo v poginulem telesu polžev *Deroceras agreste* in *Deroceras reticulatum* (Gaugler, 2002).

Podatki kažejo, da je vpliv entomopatogenih ogorčic na neciljne žuželke in druge nevretenčarje zelo omejen. V laboratorijskih razmerah in z veliko koncentracijo ogorčic, so te sposobne parazitirati nekatere nevretenčarje, na prostem pa je njihov vpliv zelo majhen oziroma ga ni (Bathon, 1996).

2.12.2 Vretenčarji

Entomopatogene ogorčice niso sposobne parazitirati ali se razmnoževati v vretenčarjih. Proučevan je bil vpliv različnih vrst entomopatogenih ogorčic na nekatere toplokrvne živali, kot so krastače, žabe, miši, podgane, opice, kokoši in druge. Sumili so, da so smrtnost paglavcev krastač povzročile entomopatogene ogorčice. Vendar pa smrti niso povzročile ogorčice oziroma simbiotske bakterije temveč neznana bakterija, ki je v paglavce vstopila prek luknjic, ki so jih naredile ogorčice ob vstopu v telo paglavcev (Bathon, 1996).

Zelo malo je tudi možnosti pojava alergij pri ljudeh na entomopatogene ogorčice. Doslej sta znana le dva primera kožne reakcije na ogorčice, in sicer pri delavcih v družbi, ki se ukvarja s pridelavo ogorčic. Simbiotske bakterije ogorčic nimajo škodljivega vpliva na toplokrvne živali. Pri enem delavcu v proizvodnji ogorčic so se pojavili znaki alergije na bakterijo *Xenorhabdus nematophila* v obliki astmatičnosti (Gaugler, 2002).

2.12.3 Talni mikroorganizmi in mikrofavna

Simbiotske bakterije entomopatogenih ogorčic, *Xenorhabdus* in *Photorhabdus*, proizvajajo številne metabolite, ki so toksični za nekatere talne mikroorganizme, kot so bakterije in glive. Ostanke gostitelja, okuženega z bakterijo *Xenorhabdus nematophila*, imajo zelo majhen vpliv na bakterijske populacije v tleh. Metaboliti simbiotskih bakterij lahko povzročijo lokalne spremembe v rizosferi mikroflore, ker pritegnejo žuželke, ki se hranijo na koreninah. Nekateri metabolni produkti so nematicidni. Tu gre verjetno za varovalne mehanizme simbiotskih bakterij, saj s tem preprečujejo naselitev gostitelja z drugimi entomopatogenimi in saprofitskimi vrstami (Gaugler, 2002).

2.12.4 Fitofagne ogorčice

Nekatere entomopatogene ogorčice posredno vplivajo na fitofagne ogorčice. Zaradi odvračalnega delovanja snovi, ki jih proizvajajo simbiotske bakterije entomopatogenih ogorčic, ličinke fitofagne ogorčice *Meloidogyne incognita* za nekaj časa prenehajo s penetracijo v korenine. Same entomopatogene ogorčice nimajo neposrednega vpliva na fitofagne ogorčice. Vpliv prvih se kaže tudi v manjšem številu odloženih in izvaljenih jajčec samic vrste *Meloidogyne incognita*, če so samice v razvojnem stadiju ličink izpostavljene delovanju entomopatogenih ogorčic. Entomopatogene ogorčice nimajo vpliva na samice *Meloidogyne incognita*, ki so v koreninah (Grewal, 1999a).

2.13 PROUČEVANE VRSTE NADZEMSKIH ŠKODLJIVCEV VRTNIN

2.13.1 Predstavitev rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood])

Odrasli osebki so veliki 1,5-2,0 x 0,5-0,6 mm. Imajo dva para ovalnih krilc. Prekrita so z nežnim voskastim poprhom, ki daje žuželki snežno bel videz. Zložena krilca oblikujejo trikotnik, v stadiju mirovanja pa so relativno ravna. Jajčeca so ovalna, sprva so rumenobela po dveh dneh pa postanejo siva, črna ali temno vijolična. Velika so 0,25 mm in imajo kratke peclje. Ličinke L1 stadija so ploščate, dolge 0,3 mm, svetlo zelene, rumene ali temno rjave barve z rdečimi očmi. Na nogah imajo štiri ali pet segmentov in na tipalkah dva ali tri segmente. Segmenti niso zelo jasni, zato se včasih zdi, kot da imajo sestavljene noge samo iz treh in tipalke samo iz dveh segmentov. V stadiju L2, ko merijo 0,38 mm v dolžino, postanejo negibljive. V stadiju L3 merijo 0,58 mm. Puparij je zadnji razvojni stadij. Meri 0,7 do 0,8 mm in je prosojne, bele ali sivobebe barve. Ima obliko ploščice. V pogledu s strani je stranski rob navpičen in spodnja ploskev enako velika kot zgornja. Ob zunanjem robu ima venec majhnih dlačic. Na hrbtni strani pa ima 12 močnih dlačic, katerih dolžina je odvisna od dlakavosti lista (Viscarret in Botto, 1996; Milevoj, 2005a).

Rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) izvira iz Srednje Amerike. Pred 130 leti je bil prenesen v Veliko Britanijo, zdaj pa je razširjen po vseh kontinentih.

Znanih je 859 vrst rastlin gostiteljic iz 121 družin. Večina rastlinskih vrst, gojenih v rastlinjakih, je dovzetnih za napad rastlinjakovega ščitkarja. Škodljivec verjetno lahko živi in se razmnožuje na vseh rastlinah, katerih listi imajo takšne fizikalne in kemijske lastnosti, da se lahko omenjena vrsta na njih prehranjuje. Škodo povzroča tako na sadikah kot na starejših rastlinah, in sicer na vseh delih rastlin: na listih, steblih, cvetovih in plodovih. Glavne gostiteljske rastline rastlinjakovega ščitkarja so kumare (Cucurbitaceae), paradižnik (*Lycopersicon esculentum*), jajčevec (*Solanum melongena*), fižol (*Phaseolus vulgaris*) in veliko število okrasnih rastlin, še zlasti tistih iz rodov *Fuchsia*, *Gerbera*, *Pelargonium*, *Hibiscus*, *Dianthus*, *Chrysanthemum* in *Primula* (Thomas, 1993).

Rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) povzroča na rastlinah neposredno škodo s sesanjem rastlinskih sokov in posredno škodo s prenašanjem rastlinskih virusov in z izločanjem medene rose. Medena rosa ovira rastline pri normalnem »delovanju«, hkrati pa predstavlja substrat za glive (Rumein in sod., 1994).

Tako odrasli osebki kot ličinke se prehranjujejo tako, da sesalni aparat zabodejo v list, in sicer v floem ali prevodno žilo, od koder sesajo rastlinski sok. Med prehranjevanjem izločajo slino v rastlinsko tkivo (Rumein in sod., 1994). To prehranjevanje povzroča slabšo rast in razvoj napadenih rastlin, odpadanje listov, manjši pridelek in v izjemnih primerih tudi propad rastlin. Obseg škode, povzročene zaradi sesanja rastlinskih sokov, je ponavadi odvisen od velikosti populacije rastlinjakovega ščitkarja. Manjše število osebkov zelo redko povzroči večjo škodo. Na nekaterih rastlinah lahko pride do slabše rasti in razvoja ali nenavadnega obarvanja, kot posledica fiziološkega stresa zaradi sesanja rastlinskih sokov. Takšne rastline, ki so podvržene stresu zaradi sesanja rastlinskih sokov, je potrebno še dodatno zalivati (Rumein in sod., 1994).

Med prehranjevanjem izločajo odrasli osebki in ličinke medeno roso v znatnih količinah. Odrasli osebki izločijo v eni uri približno 10 kapljic, ki jih mečejo daleč stran. Če je na rastlinah veliko medene rose, ta zdrsi po listih in kaplja na plodove. Na medeno roso se naselijo in na njej uspevajo glive, ki povzročajo sajavost rastlin. Sajasta prevleka ovira fotosintezo rastlin, zaradi nje pa so te, prav tako pa tudi plodovi, grdega videza (Milevoj, 2005a). Škoda na vrtninah se odraža tudi v manjšem pridelku. Rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) je s svojim sesalnim aparatom odličen prenašalec rastlinskih virusov. Ker pa se ličinke ne premikajo iz ene rastline na drugo, tudi ne prenašajo virusov na druge rastline. To nalogo opravljajo samo odrasli osebki, ki letajo z rastline na rastlino. Pomembnejši rastlinski virusi, ki jih prenaša rastlinjakov ščitkar, so beet pseudo-yellow closterovirus, chlorosis closterovirus in yellow closterovirus (Rumein in sod., 1994).

Vsi ščitkarji imajo podoben razvojni krog, ki vključuje jajčece, gibljiv larvalni stadij (L1), negibljive larvalne stadije (L2, L3, L4), stadij puparija (to je del četrtega larvalnega stadija) in stadij imaga. Razvojni krog poteka v celoti na gostiteljski rastlini. Samica odloži jajčeca na spodnjo stran komaj razprtih mladih listov in sicer pokončno, tako da se širša stran jajčeca drži lista. Jajčeca so pritrjena na list s pecljem, ki je vstavljen v zarezo, ki jo v listno tkivo naredi samica ali pa je vstavljen v listno režo. Vsaka samica odloži od 50 do 150 jajčec. Ko se iz jajčec izležejo ličinke, se te le malo premikajo in se v bližini jajčec pritrdijo na list. Tu začno s sesanjem rastlinskih sokov. Noge jim zakrnijo in sledita negibljiva stadija L2 in L3 ter stadij puparija. Puparij ima na hrbtni strani 12 močnih dlačic, izrastkov, katerih dolžina je odvisna od dlakavosti lista na katerem se prehranjuje. Če je list močno dlakav, so dlačice dolge, če je list gladek, so dlačice zelo kratke. Iz puparija zleze odrasel rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), na pupariju pa ostane zareza v obliki črke T. Čez nekaj ur so imagi že značilno bele barve, krila so suha in sposobni so letenja. Čeprav so sposobni leteti dve uri in več, pa navadno

letijo le na krajše razdalje, z rastline na rastlino ali med polji. Na daljše razdalje so lahko preneseni z vetrom ali s transportom rastlin (Viscarret in Botto, 1996).

Trajanje posameznega razvojnega stadija je močno odvisno od temperature okolja, relativne zračne vlage in gostiteljske rastline. Življenjska doba odraslega osebkja je odvisna od temperature in gostiteljske rastline ter pri 21°C navadno traja 18 dni. Razvojni krog traja pri tej temperaturi 27 dni (Vaishampayan in sod., 1975). Optimalna temperatura za razvoj rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) je 21°C, razmnožuje pa se v temperaturnem intervalu od 8°C do 33°C. Vrsta prezimi v stadiju puparija ali jajčec. Z jajčeci prezimi tudi, če je 15 dni temperatura -3°C in 5 dni -6°C. Nekateri avtorji navajajo, da lahko pri tako nizkih temperaturah škodljivec preživi tudi daljše obdobje. V hladnejših območjih najdemo rastlinjakovega ščitkarja samo v rastlinjaki, drugače pa ga najdemo tudi na prostem, tako na gojenih kot na samoniklihrastlinah. Na prostem lahko prezimijo tudi odrasli osebki, če le ni premrzlo (Viscarret in Botto, 1996).

Uporaba insekticidov navadno zagotavlja dobre rezultate pri zatiranju rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). Vendar so nekateri soji tega škodljivca odporni na določene pripravke, pa tudi sorazmerno malo pripravkov je registriranih za uporabo v rastlinjaki. Nekateri insekticidi so učinkoviti samo za zatiranje odraslih osebkov. Zaradi povoskanega ovoja, ki obdaja ličinke, nekateri insekticidi niso dovolj učinkoviti za njihovo zatiranje, še posebno pri nekovostni aplikaciji pripravkov (Rumein in sod., 1994).

Integrirano varstvo rastlin pred rastlinjakovim ščitkarjem je v tujini zelo razširjeno, še posebno v rastlinjaki, kjer so se razvile na insekticide odporne populacije škodljivca. Pomemben del tega načina je tudi biotično varstvo, ki temelji na uporabi parazitske ose najezdnice (*Encarsia formosa*) in entomopatogenih gliv. Parazitska osa najezdnica odloži v svojem življenjskem obdobju, ki traja od 10 do 14 dni, 50 do 200 jajčec. Odloži jih v starejše ličinke rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). Entomopatogena gliva *Verticillium lecanii* okuži ličinke in odrasle osebkje rastlinjakovega ščitkarja. Za razvoj potrebuje od enega do dveh tednov. Posebno je učinkovita v krajih z visoko zračno vlago. V svetu so na tržišču že trgovski pripravki na podlagi omenjene glive in tudi na podlagi glive *Paecilomyces fumosoroseus* za zatiranje rastlinjakovega ščitkarja. Predatorski hrošč vrste *Delphastus* sp. je tudi zelo koristen v varstvu rastlin, saj se hrani z vsemi razvojnimi stadiji rastlinjakovega ščitkarja (Rumein in sod., 1994).

2.13.2 Predstavitev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say])

Hrošč je dolg okrog 10 mm, je jajčaste oblike, na trebušni strani sploščen, hrbtna stran pa je polkroglasto izbočena. Samec je malo manjši in bolj podolgovat kot samica (Milevoj, 2005b). Osnovna barva telesa je rumeno oranžna. Na pokrovkah ima 10 vzporednih črnih

prog. Na glavi ima med očmi črno pego, na vratnem ščitku pa 7 do 12 črnih peg, od katerih se dve združujeta tako, da tvorita obliko črke V. Jajčeca so oranžna, dolga 1,2 mm, podolgovata in valjasta. Odložena so v jajčna legla na spodnjo stran lista, po 12 do 80 jajčec, v povprečju pa 30 jajčec. Odrasla ličinka doseže dolžino do 15 mm. Ličinke prvega in drugega stadija dosežejo 4 mm, ličinke tretjega in četrtega pa od 4 do 15 mm. Telo ličinke je mehko, z izbočenim zadkom, svetlo do temno rdečkasto ali oranžno, s črno glavo. Črne so tudi noge in ščitek ličink. Na bočnih straneh ima vsaka ličinka po dve vrsti črnih pik. Buba je umazano rdeča, dolga približno 10 mm (Vrabl, 1992).

Koloradski hrošč izvira iz Severne Amerike. Leta 1922 so ga odkrili v Franciji. V Sloveniji so ga prvič našli leta 1946 na Krškem polju. V Evropi se ni udomačil v Veliki Britaniji in Skandinaviji, čeprav so ga zabeležili. Na drugih kontinentih se njegova navzočnost omenja v Aziji, Kanadi, Severni in Srednji Ameriki. Za Avstralijo ni navedb, v Afriki pa je navzoč v Gabonu (Milevoj, 2005b).

Koloradski hrošč je oligofag. Njegova glavna gostiteljska rastlina je krompir, občasni gostitelji pa so: jajčevec (*Solanum melongena*), grenkoslad (*Solanum dulcamara*), pasje zelišče (*Solanum nigrum*), paradižnik (*Lycopersicum esculentum*), črni zobnik (*Hyascyanus niger*), volčja češnja (*Atropa belladonna*), nekatere vrste okrasnega tobaka (Vrabl, 1992).

Koloradski hrošč je zlasti omejujoč dejavnik pri pridelavi krompirja. Vpliva na zmanjševanje listne mase, kar se lahko odraža v precejšnjih izgubah pridelka (Stanković in sod., 2004). Hrošči in ličinke objedajo liste krompirja in drugih gostiteljev od roba ali pa objedajo cele listne ploskve, pri čemer ostanejo nedotaknjene včasih le prevodne cevi. En odrasel hrošč poje pri 16°C 259 mm² listne površine, pri 21°C 422 mm² in pri 25°C 800 mm². Samica mora zaužiti 20 cm² lista preden odloži jajčeca. Ličinka zaužije do stadija bube 28-30 cm² listne površine. Napad pred cvetenjem je od 2 do 5-krat nevarnejši kot po cvetenju (Vrabl, 1992).

Pri nas ima koloradski hrošč navadno dva rodova letno, možen je tudi tretji rod. Hrošči prezimijo v tleh, spomladi, proti koncu aprila ali v prvi polovici maja, pa zapustijo prezimovališče in pridejo na plan. Slednje pospeši temperatura 14,5°C v globini 10 cm. Hrošči preletavajo na njive s krompirjem, pri temperaturi višji od 20°C. Po dopolnilnem prehranjevanju se po 6 do 12 dneh pariyo. Samice lahko odlagajo jajčeca več kot en mesec. Ena samica odloži od 400 do 800 jajčec, v ugodnih razmerah tudi do 1100. Plodnost samic in čas odlaganja jajčec zavisi od količine in vrste hrane, temperature, relativne zračne vlage in svetlobe (Vrabl, 1992).

Embrionalni razvoj vrste traja 5 do 12 dni. Prve ličinke se pojavijo konec maja ali v začetku junija, množično pa konec junija. Ličinke se levijo trikrat. V L1 razvojnem stadiju ostanejo skupaj, pred levitvijo se razidejo. Celoten postembrionalni razvoj traja od 14 do 22 dni. Nato odidejo ličinke L4 v tla, kjer se v posebni bubni zibelki zabubijo. Za razvoj

bube je pomembna temperatura nad 11,5°C, katere vsota mora doseči 180°C. Tako se po približno dveh tednih izležejo hrošči prvega rodu, ki pridejo na prosto v sedmem mesecu. Hrošči prvega rodu, ki se pojavijo od sredine julija, do konca septembra nadaljujejo s svojim razvojem. Tako se v avgustu razvije še drug rod ličink. Hranijo se spet s krompirjem, ki pa je tedaj bolj bujen in zato manj prizadet. Hrošči se spet pojavijo v septembru in oktobru (Vrabl, 1992).

Naravni sovražniki koloradskega hrošča so nekatere ptice, ki se z njimi hranijo, pa tudi manjši sesalci. Med žuželkami jih plenijo predvsem hrošči brzci, plenilske stenice in strigalice. Hrošče v tleh zlasti pozimi okužujejo entomopatogene glive, kot na primer *Beauveria bassiana*. Bioinsekticidni pripravek za zatiranje koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) je pripravljen na podlagi bakterije *Bacillus thuringiensis*. S pomočjo genetskih transformacij so že vzgojili transgeni kultivar krompirja, ki proizvaja toksin bakterije *Bacillus thuringiensis*. Ta prizadene koloradskega hrošča, če se hrani na takšnem krompirju. Kemično zatiranje je tudi pri nas splošno razširjeno. Zavedati pa se moramo, da je koloradski hrošč sposoben prilagoditve na različne okoljske razmere in da s pojavom rezistence (odpornosti) na insekticide zelo draži pridelavo krompirja. Zaradi nevarnosti pojava rezistence moramo sredstva menjavati in uporabljati insekticide iz različnih skupin (Stanković in sod. 2004).

2.13.3 Predstavitev cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande])

Imagi so manjši od 2 mm. So vitke žuželke z ozkimi resastimi krili. Imajo svetlo do temno rjavo telo. Pri nižjih temperaturah se pojavljajo temnejše forme. Samice se pojavljajo v različnih barvah. Samci (1,26 do 1,31 mm) so manjši in svetlejši od samic (1,66 do 1,70 mm), imajo ožji storžast abdomen (EPPO, 2002). Odrasle samice imajo zadek bolj zaobljen. Njihovo telo je prekrito s številnimi setami. Ličinke imajo dva razvojna stadija. Predstavniki prvega so prozorni, predstavniki drugega pa zlato rumeni. Imajo že kratke tipalke. Prepupe (predbube) že imajo zasnove kril in pokončne tipalke. Na telesu pup (bub) se že začnejo oblikovati značilne sete (Trdan, 2005).

Škodljivec izvira iz Združenih držav Amerike, od leta 1970 pa ga lahko najdemo v številnih državah Azije, Afrike, Srednje in Južne Amerike in Oceanije. V Evropi je bil prvič ugotovljen leta 1983 na Nizozemskem (EPPO, 2002).

Doslej so škodljivca našli na okoli 250-ih vrstah rastlin iz več kot 62-ih družin (EPPO, 2002). Med gojenimi rastlinskimi vrstami naseljuje okrasne rastline in vrtnine v rastlinjakih in na prostem, najdemo pa ga tudi na sadnem drevju in poljščinah. V Evropi najdemo cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) v glavnem v rastlinjakih, v toplejših predelih na različnih koncih sveta pa ga najdemo tudi na prostem (zahod ZDA, Avstralija, Nova Zelandija, JAR).

Gostiteljskim rastlinam je škodljiv neposredno in posredno. Imagi in ličinke imajo kratek ustni aparat, s katerim strgajo po napadenem površju. Hranijo se z izsesavanjem celične vsebine celic povrhnjice. Tako poškodovane, prebodene celice propadejo. Škodljivca lahko najdemo na vseh rastlinskih organih, najpogosteje na cvetovih in listih. Zgodnja navzočnost resarja na brstih vpliva na zvijanje mladih listov in deformacijo plodov. Na napadenih cvetovih se pojavijo značilne, največkrat bele pege, na listih pa blede rumena območja. Napadena mesta na starejših listih so bleščeče srebrne barve. Na območjih, ki so poškodovana zaradi napada cvetličnega resarja najdemo značilne črne pike - resarjeve iztrebke. Tip poškodb je zlasti odvisen od vrste gostiteljskih rastlin in od njihovega razvojnega stadija. Vrsta spada med pomembne prenašalce virusov (EPPO, 2002).

Cvetlični resar (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) ima šest razvojnih stadijev (EPPO, 2002). Samice odlagajo jajčeca posamično v cvetove, mlade liste in nežnejše dele stebel. Na površju lahko vidimo le manjši delež odloženih jajčec. Ko se iz njih izležejo ličinke, se premaknejo na »užitna« območja gostiteljskih rastlin in se začnejo hraniti. V stadiju prepupe (predbube) se premaknejo v tla, kjer zaključijo razvojni stadij pupe (bube). Nekateri osebki preživijo stadij pupe na skritih območjih gostiteljskih rastlin. Na prostem verjetno prezimijo samo samice. Gospodarski pomen vrste je vezan na trajanje njenega razvojnega kroga, ki je najbolj odvisen od temperature okolja. Razvojni krog traja pri 15°C 48 dni, pri 20°C 22 dni, pri 25°C 15 dni in pri 30°C 12 dni. Na leto ima cvetlični resar v rastlinjaku 11 do 15 rodov, na prostem pa je število rodov manjše. Samica odloži v povprečju od 20 do 40 jajčec. Če imajo samice na voljo cvetni prah, ki je njihova najpomembnejša alternativna hrana, je lahko število odloženih jajčec precej večje. Pod 9,5°C oziroma nad 34°C se škodljivec ne razmnožuje ali umre. V povprečju živijo imagi 21 dni (Trdan, 2005).

Med pomembne plenilce cvetličnega resarja štejemo predstavnike rodov *Orius*, *Geocoris*, *Nabis*, vrsti *Amblyseius barkeri* in *Neoseiulus cucumeris* in druge. Kemično varstvo vrste je zahtevno, saj se škodljivec lahko skriva v različne odprtine na gostiteljskih rastlinah, kjer ga ne dosežejo kapljice škropiva. Poleg tega je za vrsto značilen hiter pojav odpornosti na različne insekticide. Širjenje škodljivca v rastlinjaki lahko omejimo z nekaterimi rutinskimi ukrepi, kot je na primer zatiranje plevelov, ker na njih lahko imago prezimi. Uporaba kemičnih sredstev za varstvo rastlin naj bi služila le kot dopolnilo ukrepom rastlinske higiene. Za načrtno spremljanje številčnosti cvetličnega resarja uporabljamo svetlo modre lepljive plošče (Trdan, 2005).

3 MATERIAL IN METODE DELA

Poskus je potekal v entomološkem laboratoriju na Katedri za entomologijo in fitopatologijo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

3.1 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

Ogorčice *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* in *Steinernema carpocapsae* smo za namen raziskave naročili pri podjetju Koppert b.v. z Nizozemske. Tri vrste ogorčic so bile poslane v obliki biopripravkov, katerih aktivna snov so infektivne ličinke omenjenih vrst ogorčic. Ogorčice *Steinernema carpocapsae* nismo prejeli v obliki biopripravka, temveč so nam jih poslali iz raziskovalnega laboratorija podjetja Koppert b.v. V poskus smo tako vključili naslednje biopripravke:

LARVANEM, katerega aktivna snov so infektivne ličinke vrste *Heterorhabditis bacteriophora*. Pripravek je na Nizozemskem registriran za zatiranje rilčkarjev (Curculionidae), kot so ličinke vrste *Otiorhynchus sulcatus* F., in za zatiranje ličink vrste *Hepialus lupulinus* L. (Hepialidae);

LARVANEM, katerega aktivna snov so infektivne ličinke vrste *Heterorhabditis megidis*. Pripravek je na Nizozemskem registriran za zatiranje rilčkarjev (Curculionidae), kot so ličinke *Otiorhynchus sulcatus* F., in za zatiranje vrst iz družine Pseudococcidae (*Planococcus citri* R., *Pseudococcus* spp.);

ENTONEM, katerega aktivna snov so infektivne ličinke vrste *Steinernema feltiae*. Pripravek je na Nizozemskem registriran za zatiranje ličink iz rodu *Sciara*, vrste *Bradysia paupera* in za zatiranje bolh (Siphonaptera).

Pripravki z infektivnimi ličinkami so bili med prevozom obdani z ledenimi vložki in shranjeni v paketu iz stiroporja, kar je preprečevalo negativen vpliv višje okoljske temperature in morebitnih poškodb med transportom. Z vsako pošiljko smo prejeli po 50 milijonov ogorčic vsake vrste. To je najmanjša pakirna enota, ki jo podjetje Koppert b.v. pripravlja za trg.

3.1.1 Shranjevanje ogorčic

Ogorčice smo shranjevali v hladilniku pri temperaturi od 2°C 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 ogorčic sicer zmanjša. Ker vseh ogorčic nismo porabili naenkrat, smo njihovo vitalnost s standardno metodo preverjali ob vsaki njihovi uporabi.

3.1.2 Določevanje koncentracije ogorčic

V stekleno čašo smo dali 0,1 g pripravka, katerega aktivna snov so infektivne ličinke, in dodali 10 ml destilirane vode. Tako pripravljeno suspenzijo smo za približno 1 uro pustili na sobni temperaturi. Na parafilm smo s pipeto nanесли 1 μ l suspenzije ogorčic in pod svetlobnim mikroskopom prešteli žive infektivne ličinke. To smo ponovili 10 krat in izračunali povprečno število živih infektivnih ličink v 1 μ l suspenzije. Iz dobljenih podatkov smo izračunali koncentracijo suspenzije. Za želeno koncentracijo ogorčic v obravnavanju smo odmerili potrebno količino suspenzije.

3.1.3 Rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood])

Image rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) smo nabrali na listih kumar v rastlinjaku, v Bukovici pri Volčji dragi. Vrsto smo nadalje gojili v insektarijih v entomološkem laboratoriju. Pri tem smo na sadike kumar, prinesenih iz istega rastlinjaka, nanесли image rastlinjakovega ščitkarja.

3.1.4 Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* [Say])

Ličinke koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) smo nabrali na krompirju v kraju Kleče pri Dolu pri Ljubljani.

3.1.5 Cvetlični resar (*Frankliniella occidentalis* [Pergande])

V rastlinjaku Biotehniške fakultete v Ljubljani smo na fižolu in kumarah gojili cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]). Osebkе za preliminarne raziskave smo nabrali v rastlinjaku, in sicer na gostiteljskih rastlinah radiča (*Cichorium intybus* var. *foliosum* L.) in jajčevca (*Solanum melongena*).

3.2 POTEK RAZISKAVE

V entomološkem laboratoriju na Katedri za entomologijo in fitopatologijo smo proučevali učinkovitost entomopatogenih ogorčic *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* in *Steinernema carpocapsae* za zatiranje nadzemskih škodljivcev, in sicer ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]).

Poskus smo izvajali v plastičnih posodah z dimenzijami 10 x 10 x 3,5 cm, ki so namenjene zamrzovanju živil. Na sredini pokrova, ki dobro tesni in tako onemogoča pobeg osebkov, smo naredili luknjo s premerom 2,4 cm. Z zunanje strani smo jo prekrili z gosto najlonsko mrežo, s premerom luknjic 45 µm. To je omogočalo zadostno kroženje zraka v posodah. V posodico smo položili narobe obrnjeno petrijevko s premerom 5 cm in ob njo prilepili »Eppendorfovo tubo«, ki smo jo napolnili z destilirano vodo. Liste rastlin smo položili v posodice tako, da so bili peclji v »Eppendorfovi tubi«, listna ploskev pa položena na petrijevko (Trdan, 2000). Na listno ploskev smo nanесли proučevano vrsto škodljivca in nato na list oziroma na žuželke nanесли suspenzijo infektivnih ličink. Ker so ogorčice aktivnejše v vlažnem okolju, smo po nanosu ogorčic dodali 1 ml destilirane vode z manjšo ročno škropilnico.

Za vsako vrsto škodljivca smo poskus izvajali pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25°C), in sicer v dvanajstih obravnavanjih s petimi ponovitvami, kjer so obravnavanja predstavljala tri različne koncentracije suspenzije ogorčic v destilirani vodi (500, 1000, 5000 IL (infektivnih ličink/ml vode) in štiri vrste entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis*, *Steinernema carpocapsae*). V kontroli ogorčic nismo nanесли, ampak smo liste in škodljivce le poškropili z destilirano vodo.

Tako pripravljene posodice in še 5 posodic za kontrolo smo dali v gojitveno komoro (RH-900 CH, proizvajalec: Kambič, Semič), ki omogoča nastavitve temperature, osvetlitve (4 ure svetlobe in 20 ur teme) in zračne vlage (95 %). Tretji in peti dan po nanosu ogorčic smo v posodah prešteli število preživelih škodljivcev.

3.3 STATISTIČNA ANALIZA IN GRAFIČNA PREDSTAVITEV REZULTATOV

Rezultate poskusov smo statistično izrednotili (analiza variance, primerjava rezultatov povprečij z Duncanovim preizkusom mnogoterih primerjav pri $P < 0,05$) s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0, grafično pa smo jih predstavili s programom MS Excel 2003.



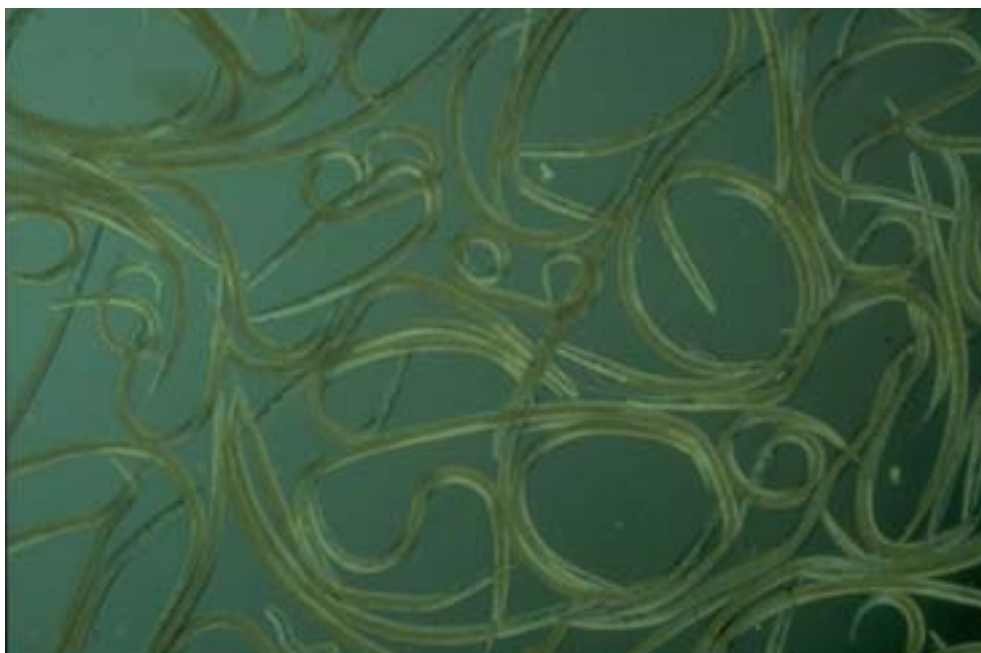
Slika 2: Trgovska priprava entomopatogenih ogorčic (foto: S. Trdan).

Figure 2: Commercial preparations of entomopathogenic nematodes (photo: S. Trdan).



Slika 3: Posodica z obrnjeno petrijevko, »Eppendorfovo tubo« in krompirjevim listom (foto: S. Trdan).

Figure 3: Vessel with Petri dish turned upside down, »Eppendorf tube« and potato leaf (photo: S. Trdan).



Slika 4: Suspenzija infektivnih ličink (foto: fotonematoden.jpg, 2005).

Figure 4: Suspension of infective juveniles (photo: fotonematoden.jpg, 2005).



Slika 5: Gojitvena komora v entomološkem laboratoriju Katedre za entomologijo in fitopatologijo (foto: S. Trdan).

Figure 5: Breeding chamber in the entomologic laboratory of the Chair for Entomology and Phytopathology (photo: S. Trdan).



Slika 6: Infektivne ličinke vrste *Steinernema carpocapsae* zapuščajo parazitirano ličinko voščene vešče (*Galleria mellonella*) (foto: Slides1.jpg, 2005).

Figure 6: Infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* emerging from *Galleria mellonella* cadaver (photo: Slides1.jpg, 2005).



Slika 7: Imagi rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) na paradižnikovem listu (foto: S. Trdan).

Figure 7: Adults of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) on potato leaf (photo: S. Trdan).



Slika 8: Ličinke koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) med hranjenjem na listu krompirja (foto: S. Trdan).

Figure 8: Larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) while feeding on potato leaf (photo: S. Trdan).



Slika 9: Ličinka cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) (foto: Sanderson, 2005).

Figure 9: Larva of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) (photo: Sanderson, 2005).



Slika 10: Poškodbe cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) na listih fižola (foto: S. Trdan).

Figure 10: Damages caused by western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) on bean leaves (photo: S. Trdan).

4 REZULTATI

4.1 ANALIZA REZULTATOV PO VRSTAH ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

4.1.1 *Heterorhabditis megidis*

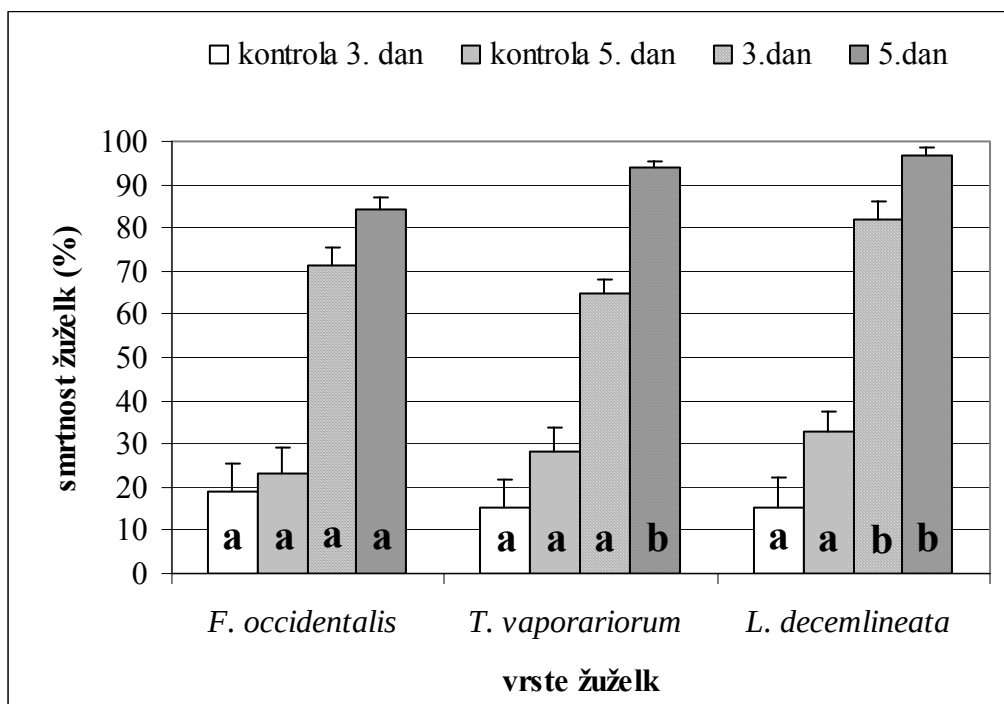
3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0252$) in temperature ($P=0,0018$) na odstotek smrtnosti žuželk. Koncentracija ogorčic ($P=0,2689$) ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0000$) in temperature ($P=0,0014$) na odstotek smrtnosti žuželk. Koncentracija ogorčic ($P=0,5755$) ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

4.1.1.1 Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk

3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo pri vseh treh obravnavanih vrstah žuželk ugotovili nad 60 % smrtnost. Statistično značilno najvišjo smrtnost ($82,00 \pm 4,10$) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* ugotovili pri ličinkah koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Med smrtnostjo imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) ($64,89 \pm 3,25$) in ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) ($71,27 \pm 4,01$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo statistično značilno najnižjo smrtnost ugotovili pri ličinkah cvetličnega resarja ($84,19 \pm 2,81$), medtem ko med smrtnostjo ličink koloradskega hrošča ($96,66 \pm 2,16$) in imagov rastlinjakovega ščitkarja ($94,12 \pm 1,28$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik (Slika 11).



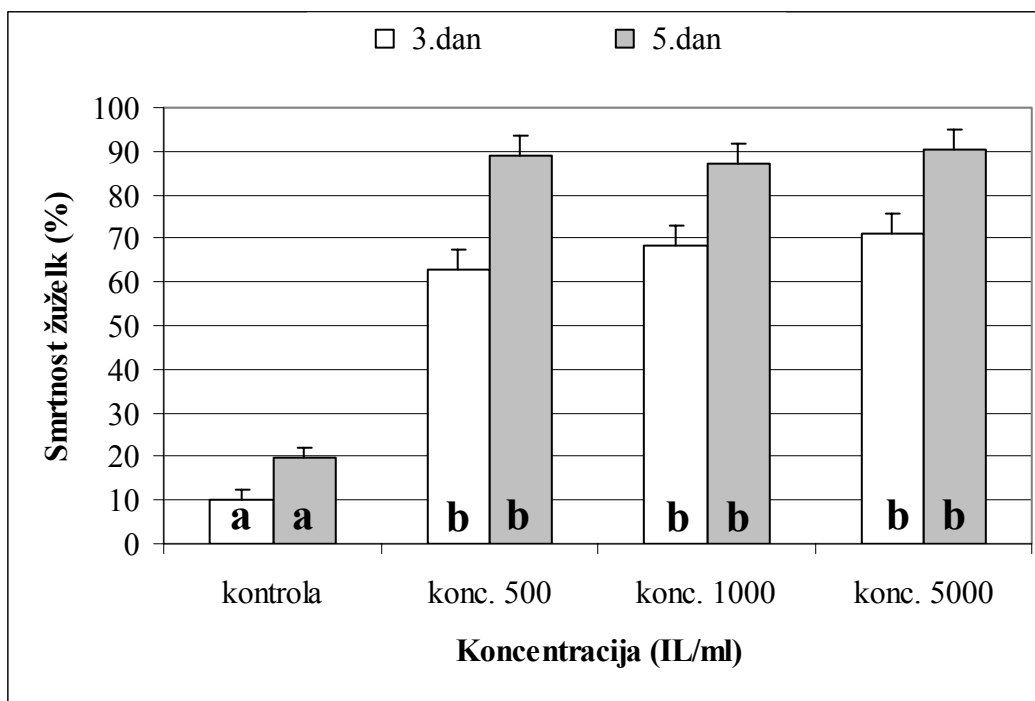
Slika 11: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis megidis* glede na vrste žuželk.

Figure 11: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis megidis* according to the species of insects.

4.1.1.2 Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic

Najvišjo smrtnost žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo ugotovili pri koncentraciji 5000 IL/ml ($71,26 \pm 4,44$) in najnižjo pri koncentraciji 500 IL/ml ($62,93 \pm 4,35$). Smrtnost žuželk pri koncentraciji 1000 IL/ml je bila $68,22 \pm 4,71$. Med smrtnostjo žuželk pri različnih koncentracijah nismo ugotovili statistično značilnih razlik.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo ugotovili najvišjo smrtnost žuželk pri koncentraciji 5000 IL/ml ($90,40 \pm 4,57$) in najnižjo pri koncentraciji 1000 IL/ml ($87,23 \pm 4,46$). Smrtnost žuželk pri koncentraciji 500 IL/ml je bila $89,08 \pm 4,59$. Med smrtnostjo žuželk pri različnih koncentracijah nismo ugotovili statistično značilnih razlik (Slika 12).



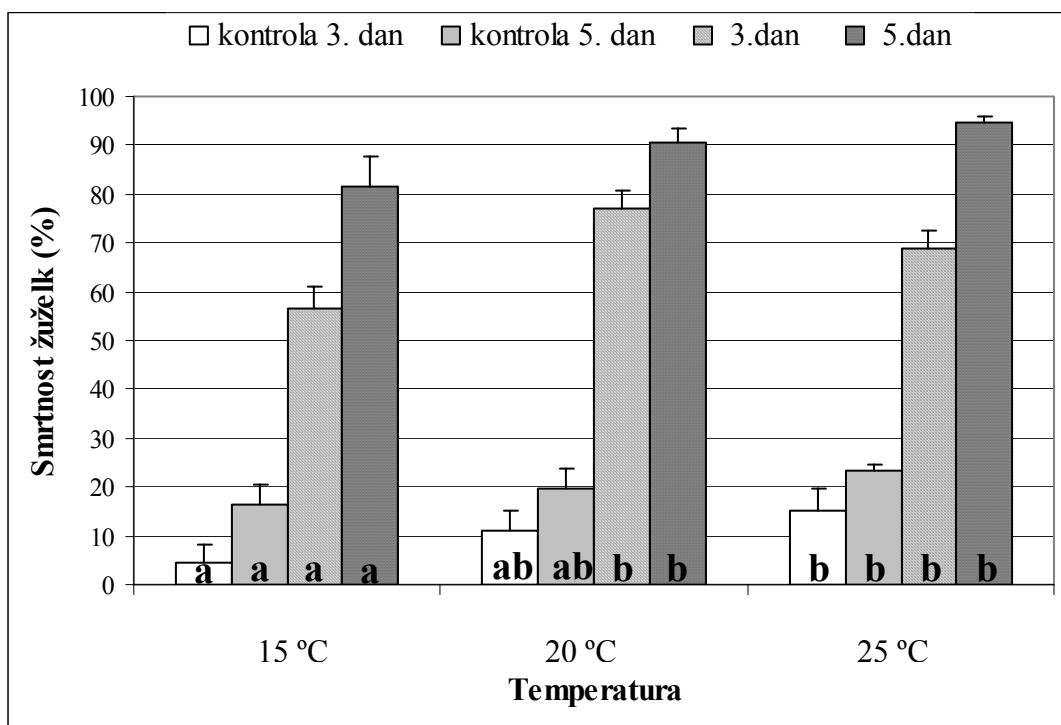
Slika 12: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis megidis* glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 12: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis megidis* according to the concentration of nematodes.

4.1.1.3 Smrtnost žuželk glede na temperaturo

3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo statistično značilno najnižjo smrtnost žuželk ($56,50 \pm 4,40$) ugotovili pri temperaturi 15°C . Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 25°C ($68,72 \pm 3,99$) in 20°C ($77,19 \pm 3,36$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* smo statistično značilno najnižjo smrtnost žuželk ($81,61 \pm 6,11$) ugotovili pri temperaturi 15°C . Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 20°C ($90,55 \pm 2,71$) in 25°C ($94,56 \pm 1,29$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik (Slika 13).



Slika 13: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis megidis* glede na temperaturo.

Figure 13: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis megidis* according to the temperature.

4.1.2 *Heterorhabditis bacteriophora*

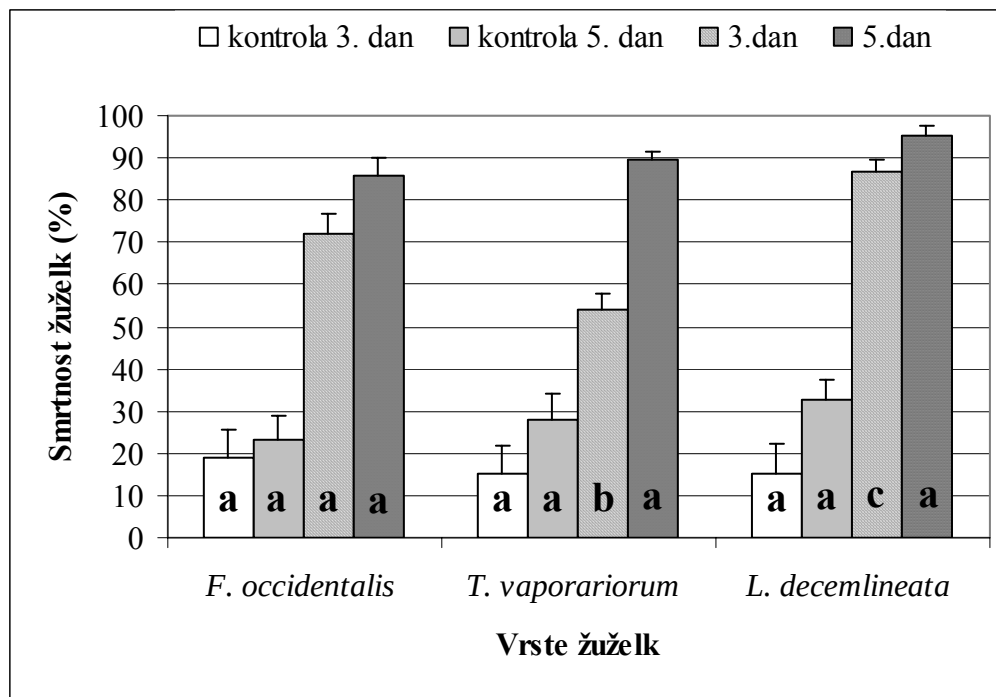
3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0000$) in koncentracije ogorčic ($P=0,0024$) na odstotek smrtnosti žuželk. Temperatura ($P=0,2689$) ni imela vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0211$) in temperature ($P=0,0007$) na odstotek smrtnosti žuželk. Vrsta žuželk ($P=0,1207$) ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

4.1.2.1 Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk

Najvišji odstotek smrtnosti žuželk 3. dan po aplikacij ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* smo ugotovili pri ličinkah koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) ($86,66 \pm 3,08$), ki se tudi statistično značilno razlikuje od smrtnosti ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) ($71,97 \pm 4,77$) in imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) ($54,18 \pm 3,85$). Vse obravnavane vrste nadzemskih škodljivcev se med seboj statistično značilno razlikujejo glede na smrtnost 3. dan po aplikacij ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora*.

Tudi 5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* smo pri ličinkah koloradskega hrošča ugotovili najvišji odstotek smrtnosti žuželk ($95,33 \pm 2,07$), ki pa se statistično značilno ne razlikuje od smrtnosti imago rastlinjakovega ščitkarja ($89,74 \pm 1,73$) in ličink cvetličnega resarja ($86,00 \pm 3,94$). Glede na smrtnost obravnavanih vrst nadzemskih škodljivcev se 5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora*, vrste med seboj statistično značilno ne razlikujejo (Slika 14).



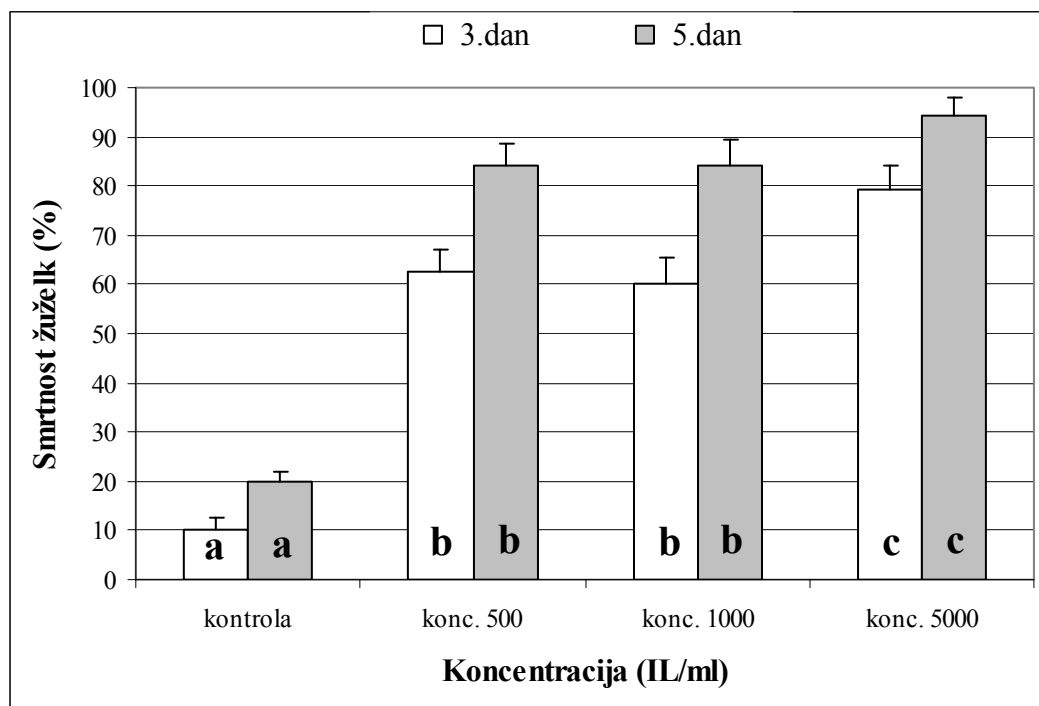
Slika 14: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis bacteriophora* glede na vrste žuželk.

Figure 14: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis bacteriophora* according to the species of insects.

4.1.2.2 Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($79,43 \pm 4,91$) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije 500 IL/ml ($62,42 \pm 4,76$) ter koncentracije 1000 IL/ml ($60,11 \pm 5,23$).

Najvišja smrtnost žuželk 5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($94,14 \pm 4,73$) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($84,18 \pm 5,17$) ter koncentracije 500 IL/ml ($83,97 \pm 4,69$) (Slika 15).



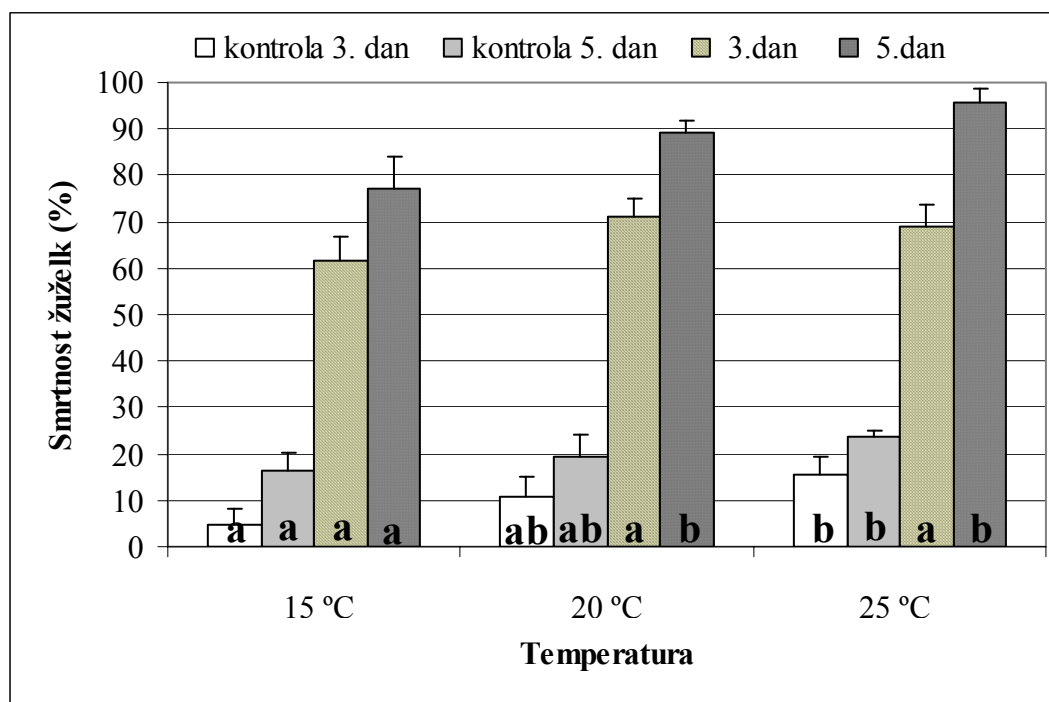
Slika 15: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis bacteriophora* glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 15: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis bacteriophora* according to the concentration of nematodes.

4.1.2.3 Smrtnost žuželk glede na temperaturo

3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* smo najnižjo smrtnost žuželk ($61,68 \pm 5,26$) ugotovili pri temperaturi 15°C , ki se statistično značilno ne razlikuje od smrtnosti žuželk pri temperaturi 25°C ($69,05 \pm 4,62$) in 20°C ($71,23 \pm 3,76$).

5. dan po aplikaciji ogorčic vrste *Heterorhabditis bacteriophora* smo statistično značilno najnižjo smrtnost žuželk ($77,29 \pm 6,69$) ugotovili pri temperaturi 15°C . Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 20°C ($89,15 \pm 2,49$) in 25°C ($95,86 \pm 2,97$) nismo ugotovili statistično značilnih razlik (Slika 16).



Slika 16: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Heterorhabditis bacteriophora* glede na temperaturo.

Figure 16: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Heterorhabditis bacteriophora* according to the temperature.

4.1.3 *Steinernema carpocapsae*

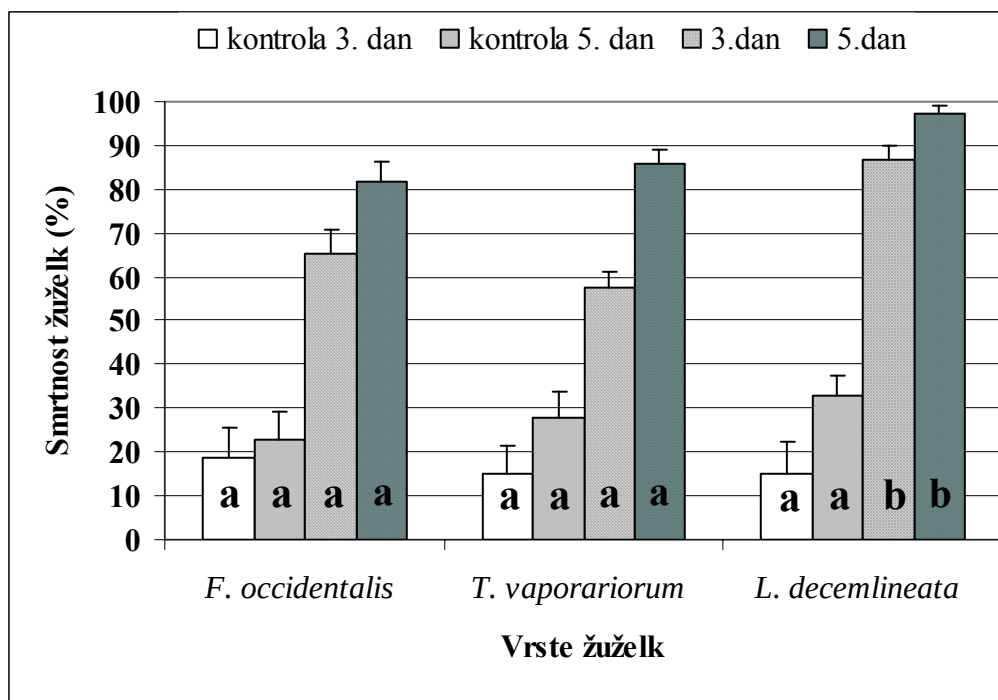
3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0009$) in temperature ($P=0,0010$) na odstotek smrtnosti žuželk. Koncentracija ogorčic ($P=0,7249$) ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0199$) in temperature ($P=0,0007$) na odstotek smrtnosti žuželk. Koncentracija ogorčic ($P=0,3344$) ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrtnosti žuželk.

4.1.3.1 Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk

Najvišji odstotek smrtnosti žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* smo ugotovili pri ličinkah koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) ($86,66 \pm 3,22$), ki se tudi statistično značilno razlikuje od smrtnosti ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) ($65,20 \pm 5,68$) in imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) ($57,46 \pm 3,59$).

Tudi 5. dan po aplikaciji ogorčic smo pri ličinkah koloradskega hrošča ugotovili najvišji odstotek smrtnosti ($97,33 \pm 1,58$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti imagov rastlinjakovega ščitkarja ($85,68 \pm 3,45$) in ličink cvetličnega resarja ($81,89 \pm 4,29$). Med smrtnostjo imagov rastlinjakovega ščitkarja ($85,68 \pm 3,45$) in ličink cvetličnega resarja ($81,89 \pm 4,29$) ni statistično značilne razlike (Slika 17).



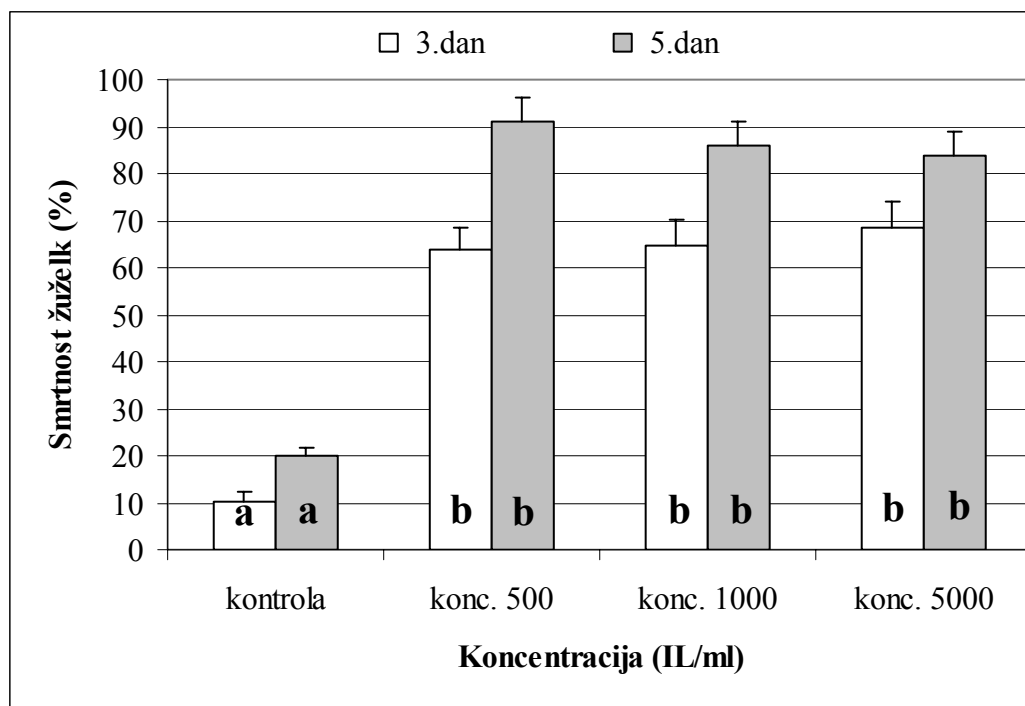
Slika 17: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema carpocapsae* glede na vrste žuželk.

Figure 17: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema carpocapsae* according to the species of insects.

4.1.3.2 Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($68,44 \pm 5,41$) in se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($64,63 \pm 5,43$) ter koncentracije 500 IL/ml ($63,66 \pm 4,92$).

Najvišja smrtnost žuželk 5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* je bila pri koncentraciji 500 IL/ml ($91,18 \pm 5,07$) in se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($85,85 \pm 5,30$) ter koncentracije 5000 IL/ml ($83,65 \pm 5,29$) (Slika 18).



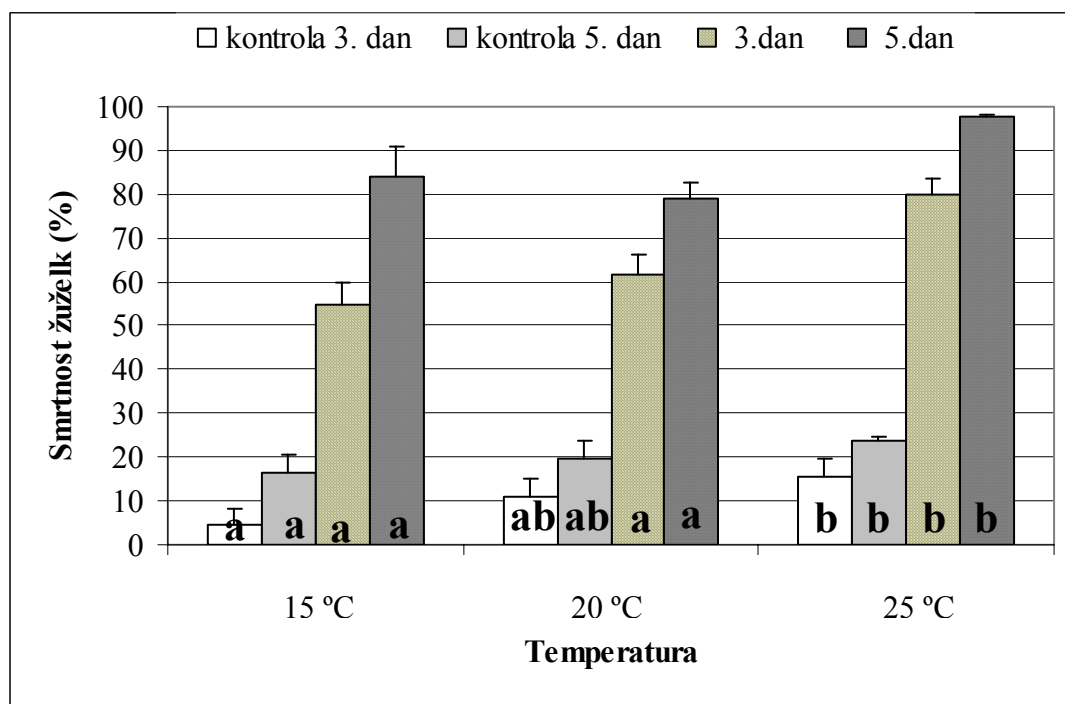
Slika 18: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema carpocapsae* glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 18: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema carpocapsae* according to the concentration of nematodes.

4.1.3.3 Smrtnost žuželk glede na temperaturo

3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* smo najvišjo smrtnost žuželk ($79,94 \pm 3,50$) ugotovili pri temperaturi 25°C , ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti žuželk pri temperaturi 20°C ($61,78 \pm 4,23$) in 15°C ($55,00 \pm 5,01$).

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* smo statistično značilno najvišjo smrtnost žuželk ($97,93 \pm 0,45$) ugotovili pri temperaturi 25°C . Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 15°C ($83,81 \pm 6,89$) in 20°C ($78,94 \pm 3,67$) nismo ugotovili statistično značilne razlike (Slika 19).



Slika 19: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema carpocapsae* glede na temperaturo.

Figure 19: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema carpocapsae* according to the temperature.

4.1.4 *Steinernema feltiae*

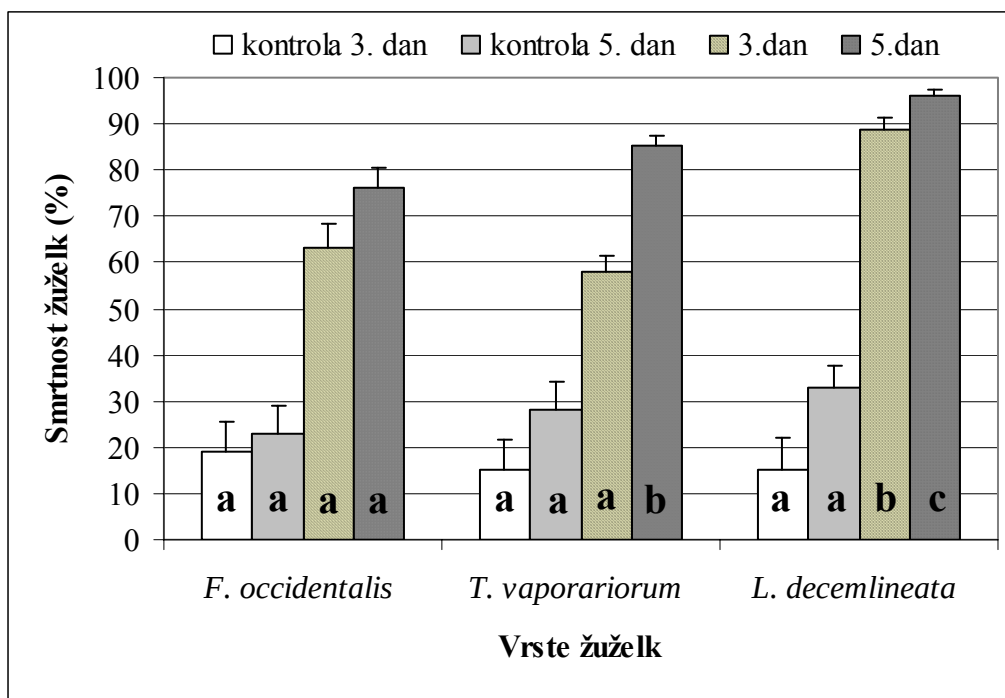
3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0000$), koncentracije ogorčic ($P=0,0092$) in temperature ($P=0,0105$) na odstotek smrti žuželk.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo ugotovili statistično značilen vpliv vrste žuželk ($P=0,0002$) in temperature ($P=0,0002$) na odstotek smrti žuželk. Koncentracija ogorčic ni imela statistično značilnega vpliva na odstotek smrti žuželk ($P=0,2545$).

4.1.4.1 Smrtnost žuželk glede na vrste žuželk

Statistično značilno najvišjo smrtnost žuželk smo 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* ugotovili pri ličinkah koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) ($88,66 \pm 2,65$), ki se statistično značilno razlikuje od smrti imago rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]). Med smrti ličink cvetličnega resarja ($63,29 \pm 5,21$) in imago rastlinjakovega ščitkarja ($57,85 \pm 3,52$) nismo ugotovili statistično značilne razlike.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo statistično značilno najnižjo smrtnost ugotovili pri ličinkah cvetličnega resarja ($76,40 \pm 4,94$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti imago rastlinjakovega ščitkarja ($85,09 \pm 2,55$) in ličink koloradskega hrošča ($96,00 \pm 1,48$). Vse tri vrste nadzemskih škodljivcev se statistično značilno razlikujejo glede na smrtnost 5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* (Slika 20).



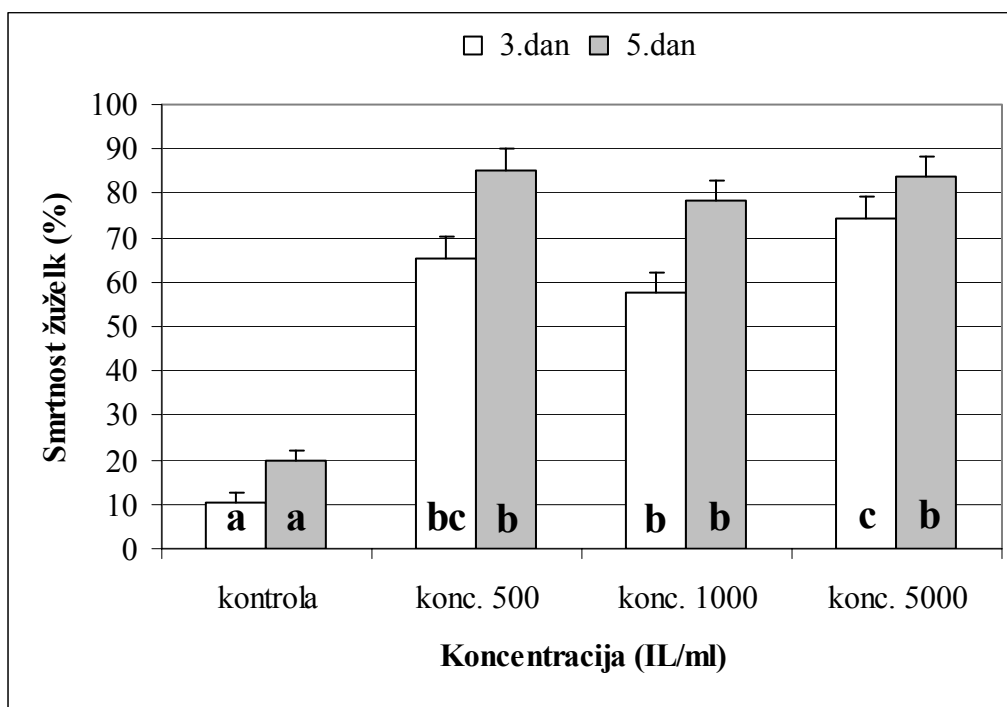
Slika 20: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema feltiae* glede na vrste žuželk.

Figure 20: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema feltiae* according to the species of insects.

4.1.4.2 Smrtnost žuželk glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($74,49 \pm 4,69$) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($57,75 \pm 5,09$). Smrtnost žuželk pri koncentraciji 500 IL/ml je bila $65,35 \pm 5,09$.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo ugotovili najvišjo smrtnost žuželk pri koncentraciji 500 IL/ml ($85,27 \pm 4,66$), ki se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 5000 IL/ml ($83,88 \pm 4,58$) in koncentracije 1000 IL/ml ($78,34 \pm 4,38$) (Slika 21).

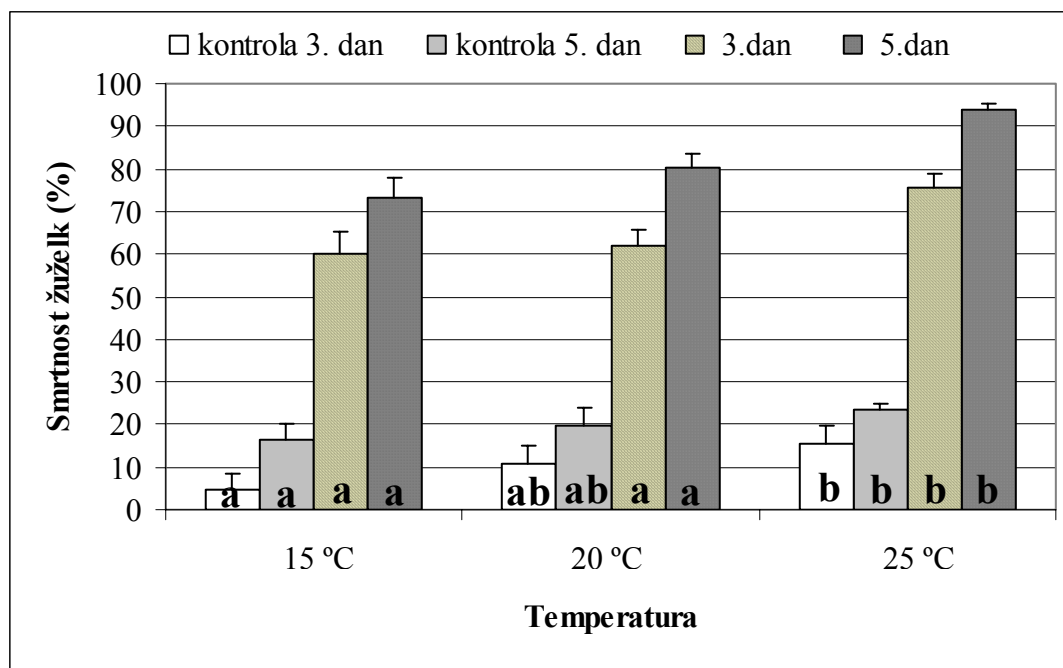


Slika 21: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema feltiae* glede na koncentracijo ogorčic.
Figure 21: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema feltiae* according to the concentration of nematodes.

4.1.4.3 Smrtnost žuželk glede na temperaturo

3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo statistično značilno najvišjo smrtnost ugotovili pri temperaturi 25°C (75,69±3,05). Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 20°C (62,02±3,78) in 15°C (59,89±5,26) nismo ugotovili statistično značilnih razlik.

5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* smo statistično značilno najvišjo smrtnost ugotovili pri temperaturi 25°C (93,98±1,17). Med smrtnostjo žuželk pri temperaturi 20°C (80,33±3,13) in 15°C (73,18±4,92) nismo ugotovili statistično značilne razlike (Slika 22).



Slika 22: Smrtnost žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji vrste *Steinernema feltiae* glede na temperaturo.

Figure 22: Mortality of insects on the third and fifth day after application of species *Steinernema feltiae* according to the temperature.

4.2 ANALIZA REZULTATOV PO ŠKODLJIVCIH

4.2.1 Rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood])

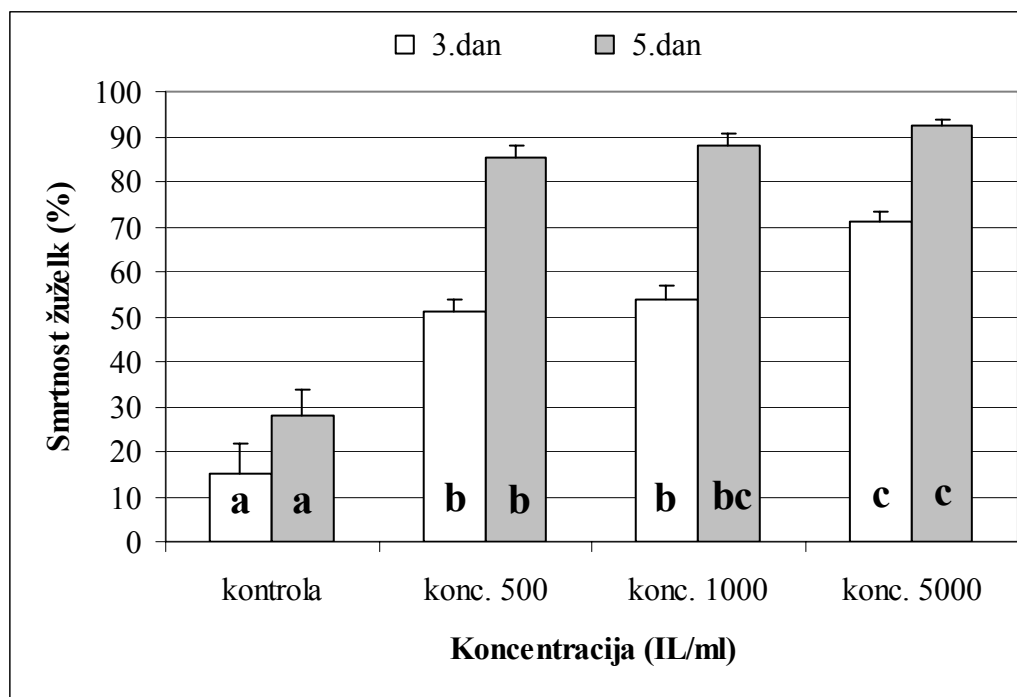
3. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0000$), vrste ogorčic ($P=0,0246$) in temperature ($P=0,0000$) na odstotek smrtnosti imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0190$), vrste ogorčic ($P=0,0060$) in temperature ($P=0,0000$) na odstotek smrtnosti imagov rastlinjakovega ščitkarja.

4.2.1.1 Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja je bila 3. dan po aplikaciji ogorčic pri koncentraciji 5000 IL/ml ($71,00 \pm 2,38$), in se statistično značilno razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($53,86 \pm 3,25$) ter koncentracije 500 IL/ml ($50,92 \pm 2,98$).

Najvišja smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja je bila 5. dan po aplikaciji ogorčic pri koncentraciji 5000 IL/ml ($92,41 \pm 1,32$) in se statistično značilno razlikuje od koncentracije 500 IL/ml ($85,42 \pm 2,36$). Pri koncentraciji 1000 IL/ml je bila smrtnost $88,14 \pm 2,41$ (Slika 23).



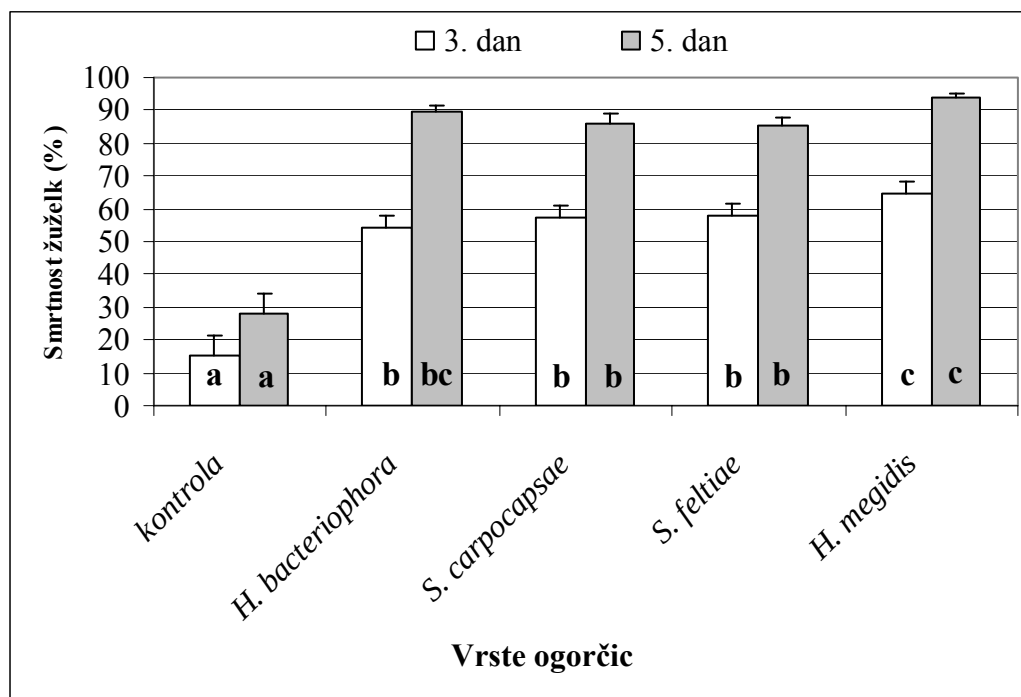
Slika 23: Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 23: Mortality of adults of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the concentration of nematodes.

4.2.1.2 Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na vrste ogorčic

Najvišjo smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri ogorčici *Heterorhabditis megidis* ($64,89 \pm 3,25$), ki se statistično značilno razlikuje od vrst *Steinernema feltiae* ($57,85 \pm 3,52$), *Steinernema carpocapsae* ($57,46 \pm 3,59$) in *Heterorhabditis bacteriophora* ($54,18 \pm 3,85$).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo najvišjo smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja ugotovili pri ogorčici *Heterorhabditis megidis* ($94,12 \pm 1,28$), ki se statistično značilno razlikuje od vrst *Steinernema carpocapsae* ($85,68 \pm 3,45$) in *Steinernema feltiae* ($85,09 \pm 2,55$). Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja je bila 5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* $89,74 \pm 1,73$ (Slika 24).



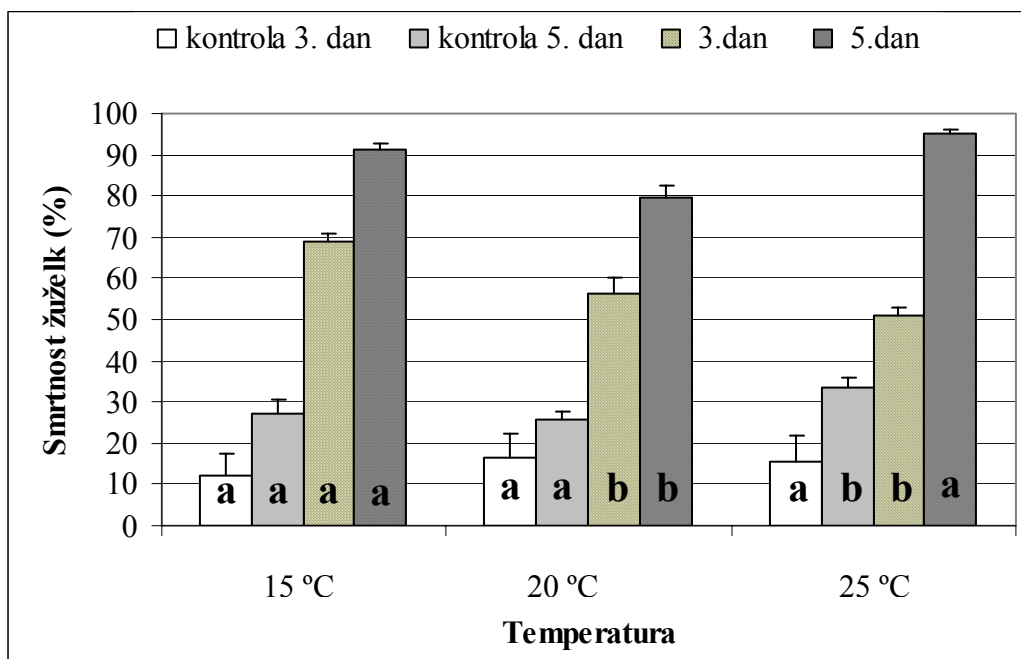
Slika 24: Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrste ogorčic.

Figure 24: Mortality of adults of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the species of nematodes.

4.2.1.3 Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja glede na temperaturo

Najvišjo smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 15°C ($68,90 \pm 2,14$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti pri temperaturah 20°C ($56,09 \pm 3,96$) in 25°C ($50,79 \pm 2,36$).

Najnižjo smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja smo 5. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 20°C ($79,56 \pm 3,02$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti pri temperaturi 15°C ($91,43 \pm 1,49$) in 25°C ($94,98 \pm 0,97$) (Slika 25).



Slika 25: Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.

Figure 25: Mortality of adults of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) on the third and fifth day after the application of nematodes at different temperatures.

4.2.2 Cvetlični resar (*Frankliniella occidentalis* [Pergande])

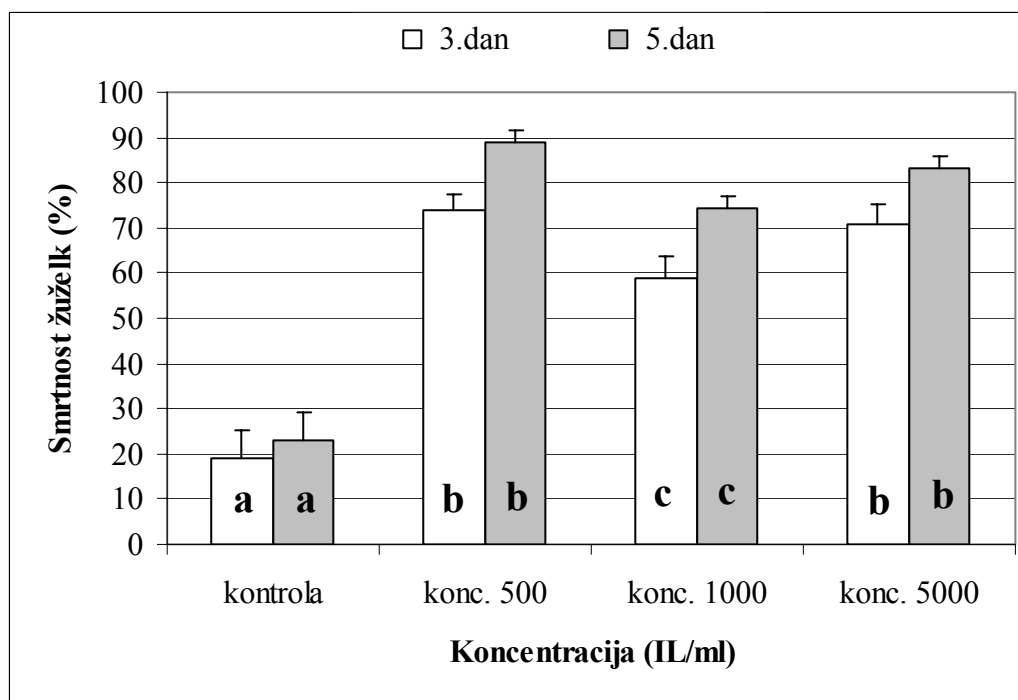
3. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0006$) in temperature ($P=0,0000$) na odstotek smrti ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]). Na odstotek smrti ličink cvetličnega resarja nismo ugotovili statistično značilnega vpliva vrste ogorčic ($P=0,1504$).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0004$) in temperature ($P=0,0000$) na odstotek smrti ličink cvetličnega resarja. Na odstotek smrti ličink cvetličnega resarja nismo ugotovili statistično značilnega vpliva vrste ogorčic ($P=0,1209$).

4.2.2.1 Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) 3. dan po aplikaciji ogorčic je bila pri koncentraciji 500 IL/ml ($73,83 \pm 3,46$), ki se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 5000 IL/ml ($70,97 \pm 4,45$), statistično značilno pa se razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($59,00 \pm 4,53$).

Najvišja smrtnost ličink cvetličnega resarja 5. dan po aplikaciji ogorčic je bila pri koncentraciji 500 IL/ml ($88,91 \pm 2,41$), ki se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 5000 IL/ml ($83,12 \pm 3,64$), statistično značilno pa se razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($74,33 \pm 3,66$) (Slika 26).



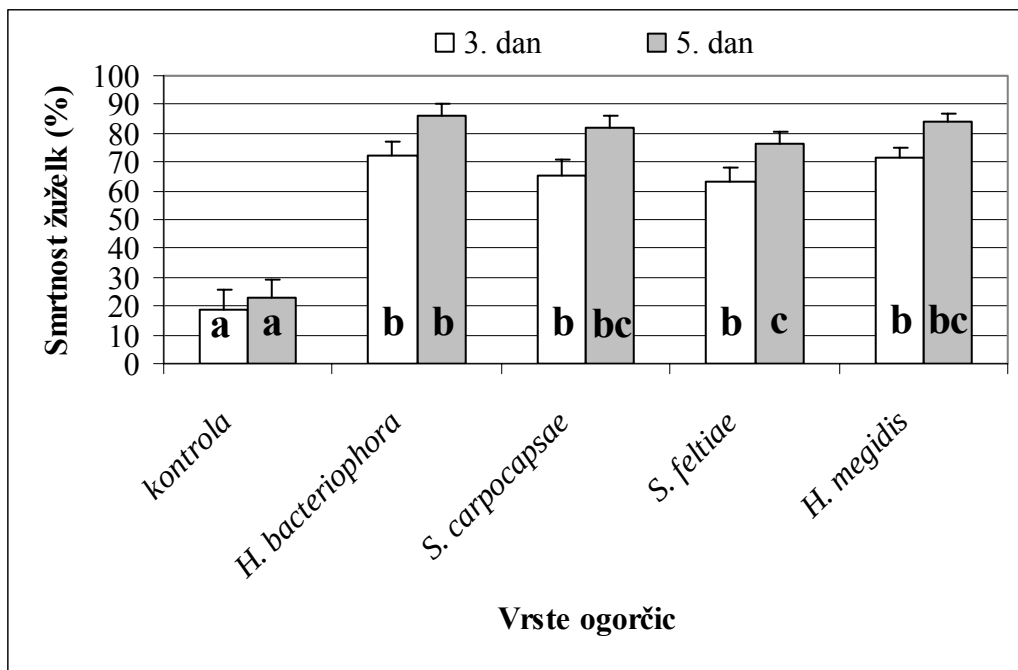
Slika 26: Smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 26: Mortality of larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the concentration of nematodes.

4.2.2.2 Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na vrste ogorčic

Najvišjo smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri vrsti *Heterorhabdites bacteriophora* ($71,97 \pm 4,77$), ki se statistično značilno ne razlikuje od *Heterorhabdites megidis* ($71,27 \pm 4,01$), *Steinernema carpocapsae* ($65,20 \pm 5,68$) in *Steinernema feltiae* ($63,29 \pm 5,01$).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo najvišjo smrtnost ličink cvetličnega resarja ugotovili po aplikaciji ogorčic *Heterorhabdites bacteriophora* ($86,00 \pm 3,94$), ki se statistično značilno ne razlikuje od *Heterorhabdites megidis* ($84,19 \pm 2,81$) in *Steinernema carpocapsae* ($81,89 \pm 4,29$), statistično značilno pa se razlikuje od *Steinernema feltiae* ($76,40 \pm 4,27$) (Slika 27).



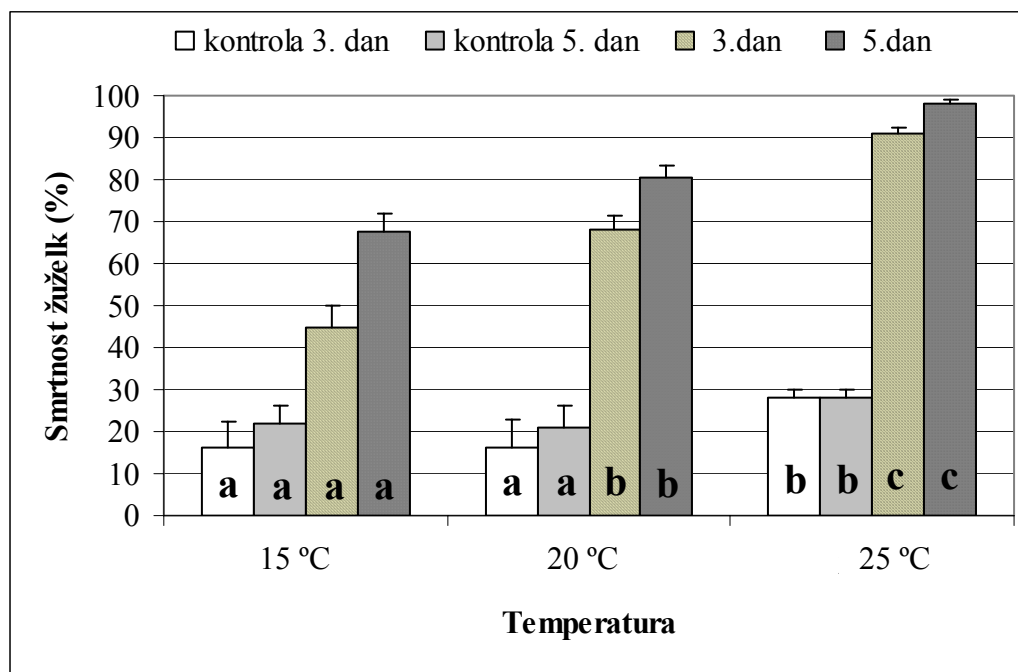
Slika 27: Smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrste ogorčic.

Figure 27: Mortality of larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the species of nematodes.

4.2.2.3 Smrtnost ličink cvetličnega resarja glede na temperaturo

Najvišjo smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 25°C (90,83±1,42), ki se statistično značilno razlikuje od smrtlosti pri temperaturi 20°C (68,08±3,13) in 15°C (44,89±4,93).

Najvišjo smrtnost ličink cvetličnega resarja smo 5. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 25°C (98,33±0,89), ki se statistično značilno razlikuje od smrtlosti pri temperaturi 20°C (80,33±3,01) in 15°C (67,70±4,23) (Slika 28).



Slika 28: Smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.

Figure 28: Mortality of larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) on the third and fifth day after the application of nematodes at different temperatures.

4.2.3 Koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* [Say])

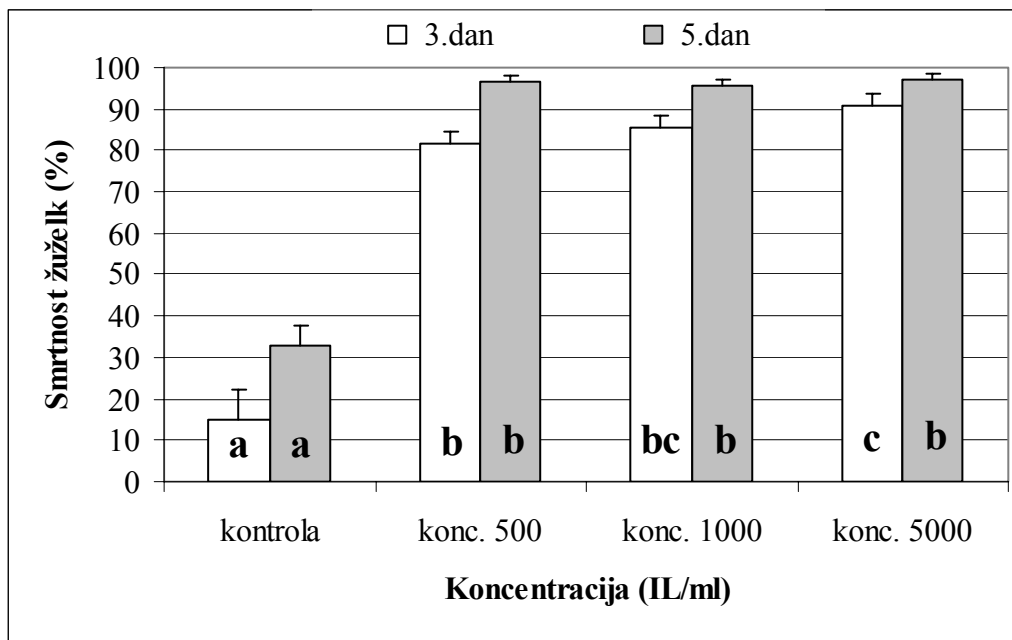
3. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv koncentracije ogorčic ($P=0,0387$) in temperature ($P=0,0001$) na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča. Na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča nismo ugotovili statistično značilnega vpliva vrste ogorčic ($P=0,4500$).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo ugotovili statistično značilen vpliv temperature ($P=0,0283$) na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča. Na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča nismo ugotovili statistično značilnega vpliva koncentracije ogorčic ($P=0,7860$) in vrste ogorčic ($P=0,8754$).

4.2.3.1 Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na koncentracijo ogorčic

Najvišja smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 3. dan po aplikaciji ogorčic je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($91,00 \pm 2,57$), ki se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml ($85,50 \pm 2,86$) in statistično značilno razlikuje od koncentracije 500 IL/ml ($81,50 \pm 2,98$).

Najvišja smrtnost ličink koloradskega hrošča 5. dan po aplikaciji ogorčic je bila pri koncentraciji 5000 IL/ml ($97,00 \pm 1,68$), ki se statistično značilno ne razlikuje od koncentracije 500 IL/ml ($96,50 \pm 1,41$) in koncentracije 1000 IL/ml ($95,50 \pm 1,67$) (Slika 29).



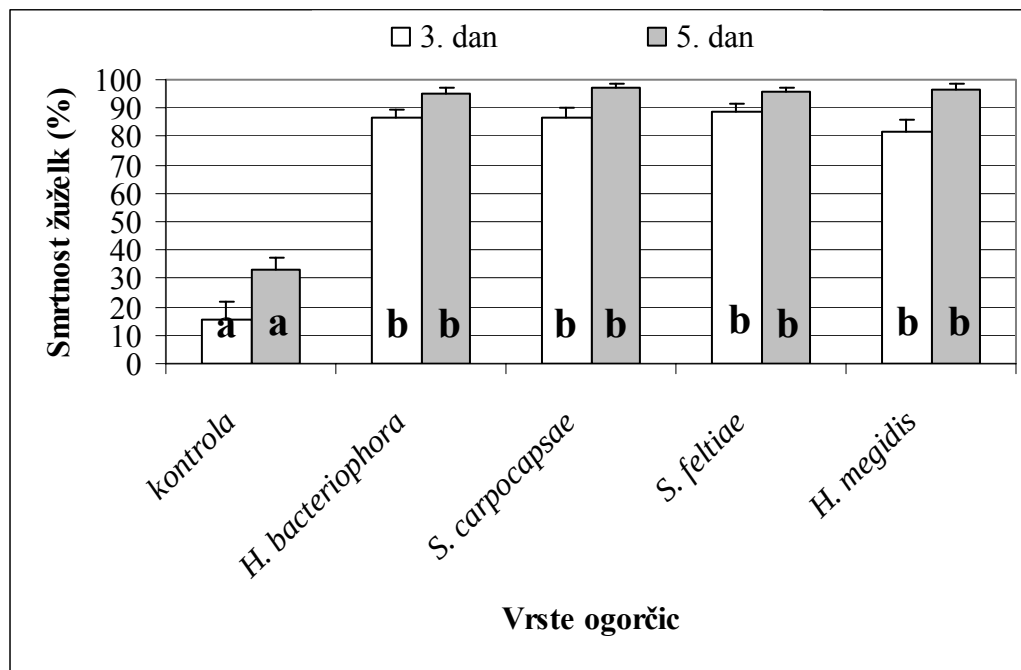
Slika 29: Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na koncentracijo ogorčic.

Figure 29: Mortality of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the concentration of nematodes.

4.2.3.2 Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na vrste ogorčic

Najvišjo smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri vrsti *Steinernema feltiae* ($88,66 \pm 2,65$), ki se statistično značilno ne razlikuje od vrst *Steinernema carpocapsae* ($86,66 \pm 3,22$), *Heterorhabditis bacteriophora* ($86,66 \pm 3,08$) in *Heterorhabditis megidis* ($82,00 \pm 4,10$).

5. dan po aplikaciji ogorčic smo najvišjo smrtnost ličink koloradskega hrošča ugotovili po aplikaciji vrste *Steinernema carpocapsae* ($97,33 \pm 1,58$), ki se statistično značilno ne razlikuje od vrst *Heterorhabditis megidis* ($96,66 \pm 2,16$), *Steinernema feltiae* ($96,00 \pm 1,48$) in *Heterorhabditis bacteriophora* ($95,33 \pm 2,07$) (Slika 30).



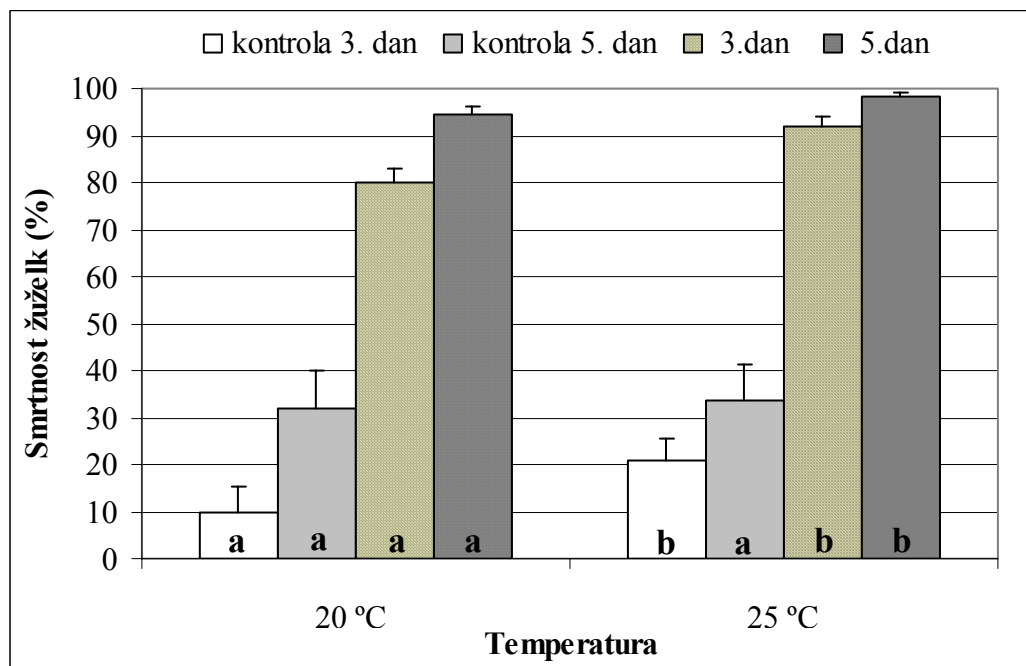
Slika 30: Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic glede na vrste ogorčic.

Figure 30: Mortality of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on the third and fifth day after the application of nematodes according to the species of nematodes.

4.2.3.3 Smrtnost ličink koloradskega hrošča glede na temperaturo

Najvišjo smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) smo 3. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 25°C ($92,00 \pm 2,19$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti pri temperaturi 20°C ($80,00 \pm 3,05$).

Najvišjo smrtnost ličink koloradskega hrošča smo 5. dan po aplikaciji ogorčic ugotovili pri temperaturi 25°C ($98,33 \pm 0,96$), ki se statistično značilno razlikuje od smrtnosti pri temperaturi 20°C ($94,33 \pm 1,65$) (Slika 31).



Slika 31: Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic pri različnih temperaturah.

Figure 31: Mortality of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) on the third and fifth day after the application of nematodes at different temperatures.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Raziskave učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje škodljivcev rastlin se doslej v Sloveniji še niso izvajale, zato smo želeli v laboratorijskih razmerah proučiti učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic za zatiranje treh vrst škodljivih žuželk. Novost našega pristopa je bila izbira proučevanih ciljnih škodljivcev, saj smo želeli proučiti učinkovitost entomopatogenih ogorčic za zatiranje tistih škodljivih žuželk, ki povzročajo škodo na nadzemskih delih vrtnin in okrasnih rastlin.

Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju škodljivih organizmov je bila v tujini proučevana na mnogih vrstah škodljivih organizmov, pri čemer je bil ugotovljen razpon učinkovitosti zatiranja od popolne neučinkovitosti do odličnega zatiranja. Na učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju škodljivih organizmov vpliva veliko dejavnikov.

Namen naše raziskave je zato bil v laboratorijskih razmerah proučiti učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis*, *Steinernema carpocapsae*) za zatiranje nadzemskih škodljivcev vrtnin, in sicer ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). S proučevanjem hkratnega delovanja večjega števila abiotičnih in biotičnih dejavnikov (koncentracija ogorčic v suspenziji) smo pridobili pomembne podatke o učinkovitosti obravnavanih vrst entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev v laboratorijskih razmerah.

Z raziskavo smo ugotovili, da so vse štiri vrste entomopatogenih ogorčic uspešne pri zatiranju vseh treh proučevanih vrst nadzemskih škodljivcev, vendar na učinkovitost zatiranja vplivajo različni dejavniki. Na učinkovitost zatiranja izbranih vrst nadzemskih škodljivcev vpliva vrsta škodljivca in temperatura okolja. Koncentracija ogorčic vpliva na učinkovitost zatiranja škodljivcev le 3. dan in 5. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* in 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae*.

V povprečju so bile ogorčice 3. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), in sicer je bila smrtnost ličink od 82 % do 88 %, nato ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), od 63 % do 71 %, in imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), od 54 % do 64 %. Znano je, da so ogorčice učinkovitejše pri zatiranju večjih organizmov. Infektivne ličinke namreč težje vstopijo v manjše organizme, kjer lahko ozke naravne odprtine ovirajo oziroma onemogočajo vstop infektivnim ličinkam v gostitelja. Pri nekaterih žuželkah so lahko običajna vstopna mesta neprehodna; tako so lahko usta zaprta z ustnim filtrom ali preozka, kar je značilno za žuželke s sesajočim ustnim aparatom, in

tudi zadnjična odprtina je lahko preozka za vdor ogorčic (Koppenhöfer, 2000). V naši raziskavi smo ugotovili, da so bile ogorčice najučinkovitejše pri zatiranju največjega gostitelja, to je ličink koloradskega hrošča, ki v tretjem in četrtem larvalnem stadiju merijo od 4 do 15 mm. Čeprav so ličinke cvetličnega resarja manjše od odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja, so bile ogorčice učinkovitejše pri zatiranju manjšega organizma, kar si lahko razlagamo tudi kot posledico mehanskih poškodb (Kaya in Koppenhöfer, 1999). Pri manjših gostiteljih namreč lahko nastopi smrt zaradi mehanskih poškodb. Infektivne ličinke verjetno lažje in zato hitreje predrejo mehkejšo kutikulo ličink cvetličnega resarja kot kutikulo imagov rastlinjakovega ščitkarja.

V povprečju so bile ogorčice 5. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), kjer je bila smrtnost od 95 % do 97 %, nato imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), od 85 % do 94 %, in najmanj ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), od 76 % do 86 %. V primerjavi s 3. dnem, so bile ogorčice 5. dan po aplikaciji bolj učinkovite pri zatiranju imagov rastlinjakovega ščitkarja kot ličink cvetličnega resarja.

Pri varstvu rastlin je zelo pomembno kako hitro se zmanjša populacija škodljivih organizmov. Z raziskavo smo ugotovili, da se z uporabo omenjenih ogorčic populacije proučevanih škodljivih organizmov že v treh dneh po aplikaciji ogorčic zmanjšajo vsaj za 50 %. Ogorčice lahko gostitelja ubijejo zelo hitro, po 24 do 48 urah, in tako preprečijo nadaljevanje škode, ki jo povzročajo njihovi gostitelji.

Na učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju škodljivih organizmov vpliva tudi temperatura zraka. Ogorčice *Steinernema feltiae* in *Steinernema carpocapsae* so najučinkoviteje parazitirale žuželke pri najvišji uporabljeni temperaturi, to je pri 25°C. Ogorčice vrste *Heterorhabditis megidis* in *Heterorhabditis bacteriophora* so bile pri parazitiranju žuželk enako učinkovite pri temperaturah 20°C in 25°C. *Heterorhabditis bacteriophora* je bila 3. dan po aplikaciji enako učinkovita pri vseh treh obravnavanih temperaturah. Znano je, da postanejo infektivne ličinke počasne in s tem manj učinkovite pri temperaturah nižjih od 10°C oziroma 15°C in neaktivne pri temperaturah višjih od 30°C oziroma 40°C. Večina infektivnih ličink je najučinkovitejša pri parazitiranju žuželk pri temperaturah med 20°C in 30°C (Koppenhöfer, 2000), kar smo dokazali tudi z našo raziskavo.

V raziskavi smo ugotovili, da imajo na smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) vse štiri vrste obravnavanih ogorčic podoben vpliv. Na smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) pa različne vrste ogorčic vplivajo različno.

Na smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja ima 3. dan po aplikaciji ogorčic največji vpliv ogorčica *Heterorhabditis megidis*, 5. dan pa tudi vrsta *Heterorhabditis bacteriophora*. Glede na naše rezultate sklepamo, da so bakterije iz rodu *Photorhabdus* za image rastlinjakovega ščitkarja bolj patogene kot bakterije iz rodu *Xenorhabdus*.

Pri parazitiranju ličink cvetličnega resarja so 3. dan po aplikaciji ogorčic vse obravnavane vrste ogorčic enako učinkovite, medtem ko je 5. dan najučinkovitejša ogorčica *Heterorhabditis bacteriophora*, ki pa se po učinkovitosti statistično značilno razlikuje samo od vrste *Steinernema feliae*. Predvidevamo, da so bakterije iz rodu *Photorhabdus* patogenejše za ličinke cvetličnega resarja.

Temperatura zraka in koncentracija ogorčic vplivata na odstotek smrtnosti vseh proučevanih žuželk razen na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 5. dan po aplikaciji ogorčic, kjer na odstotek smrtnosti koncentracija ogorčic ne vpliva.

Smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) je bila 3. dan po nastavitvi poskusa v kontroli enaka pri vseh treh obravnavanih temperaturah, medtem ko je bila pri aplikaciji ogorčic najvišja pri temperaturi 15°C. 5. dan po nastavitvi poskusa pa je bila smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja v kontroli najvišja pri temperaturi 25°C, medtem ko je bila pri aplikaciji ogorčic najvišja pri temperaturi 15°C in 25°C. Sklepamo, da je bila smrtnost 5. dan visoka tudi pri temperaturi 25°C, ker je bila smrtnost škodljivcev pri tej temperaturi visoka tudi v kontroli in ker pri višji temperaturi ogorčice bolj učinkovito parazitirajo.

Smrtnost rastlinjakovega ščitkarja je bila tako 3. kot 5. dan najmanjša pri temperaturi zraka 20°C (Viscarret in Botto, 1996). Sklepamo, da so bili pri tej temperaturi imagi najmanj dovzetni za napad ogorčic, saj je 21°C optimalna temperatura za njihov razvoj (Viscarret, 1996). Pričakovano je bila smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja večja pri višji koncentraciji ogorčic.

Smrtnost ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) je bila 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic najvišja pri 25°C. Pri tej temperaturi je bila smrtnost najvišja tudi v kontroli. Smrtnost ličink cvetličnega resarja je bila 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic najmanjša pri koncentraciji 1000 IL/ml.

Smrtnost ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) je bila 3. dan najvišja pri najvišji koncentraciji ogorčic, medtem ko je bila 5. dan enaka pri vseh treh obravnavanih koncentracijah. Pri višjih temperaturah je bila tudi smrtnost ličink koloradskega hrošča večja.

5.2 SKLEPI

Rezultati ugotavljanja učinkovitosti štirih vrst entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis*, *Steinernema carpocapsae*) za zatiranje treh vrst nadzemskih škodljivcev - ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande], Thysanoptera, Thripidae), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood], Homoptera, Aleyrodidae) in ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) - v laboratorijskih razmerah, pri stalni zračni vlagi (95 %) in razmerju med svetlobo in temo 4 : 20, nam omogočajo postavitev sledečih sklepov:

1. Vse štiri vrste entomopatogenih ogorčic so učinkovite pri zatiranju vseh treh vrst nadzemskih škodljivcev.
2. V učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev obstajajo razlike.
3. Temperatura okolja vpliva na učinkovitost entomopatogenih ogorčic za zatiranje proučevanih škodljivih vrst žuželk, razen pri vrsti *Heterorhabditis bacteriophora* 3. dan po aplikaciji.
4. Vrsta žuželk vpliva na učinkovitost entomopatogenih ogorčic za zatiranje škodljivih žuželk, razen pri *Heterorhabditis bacteriophora* 5. dan po aplikaciji ogorčic.
5. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic *Heterorhabditis megidis* in *Steinernema carpocapsae* pri zatiranju nadzemskih škodljivcev ni odvisna od koncentracije ogorčic, prav tako učinkovitost entomopatogenih ogorčic *Steinernema feltiae* 5. dan po aplikaciji pri zatiranju nadzemskih škodljivcev ni odvisna od koncentracije ogorčic.
6. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju nadzemskih škodljivcev je 5. dan po aplikaciji ogorčic večja kot 3. dan.
7. Vse štiri vrste ogorčic so 3. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), 5. dan po aplikaciji pa najmanj učinkovite pri zatiranju ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]).
8. Na odstotek smrtnosti žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis megidis* vpliva poleg vrste žuželk tudi temperatura okolja. Enako učinkovito zatira ličinke cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) in imago rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). 5. dan po aplikaciji pa omenjena ogorčica enako učinkovito zatira imago rastlinjakovega ščitkarja in ličinke koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Tako 3. kot 5. dan omenjeni

biotični agens najučinkoviteje zatira izbrane škodljive žuželke pri temperaturah okolja 20°C in 25°C.

9. Na odstotek smrtnosti žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Heterorhabditis bacteriophora* vpliva poleg vrste žuželk tudi koncentracija ogorčic. Vrsta najmanj učinkovito zatira ličinke rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). 5. dan po aplikaciji vrsta najučinkoviteje zatira nadzemske škodljivce pri temperaturi okolja 20°C in 25°C. Tako 3. kot 5. dan pa ogorčica najučinkoviteje zatira nadzemske škodljivce pri koncentraciji 5000 IL/ml vode.
10. Na odstotek smrtnosti žuželk 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema carpocapsae* vpliva poleg vrste žuželk tudi temperatura okolja. Ogorčica enako učinkovito zatira ličinke cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) in image rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). Ogorčica najbolj učinkovito zatira nadzemske škodljivce pri temperaturi 25°C.
11. Na odstotek smrtnosti žuželk 3. dan po aplikaciji ogorčic *Steinernema feltiae* vpliva poleg vrste žuželk tudi koncentracija ogorčic in temperatura okolja. Ogorčica, 3. dan po aplikaciji, enako učinkovito zatira ličinke cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) in image rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). Vrsta *Steinernema feltiae*, 3. dan po aplikaciji, najučinkoviteje zatira nadzemske škodljivce pri koncentraciji 5000 IL/ml vode. Omenjena ogorčica, tako 3. kot 5. dan po aplikaciji, najučinkoviteje zatira ličinke koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in je najbolj učinkovita pri temperaturi 25°C.
12. Na odstotek smrtnosti imagov rastlinjakovega ščitkarja, 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic, vpliva vrsta ogorčic, koncentracija ogorčic in temperatura okolja. Največjo smrtnost imagov rastlinjakovega ščitkarja, 3. dan in 5. dan po aplikaciji ogorčic, povzroča vrsta *Heterorhabditis megidis*. 5. dan po aplikaciji je enako učinkovita tudi vrsta *Heterorhabditis bacteriophora*. Ostale vrste entomopatogenih ogorčic se pri učinkovitosti zatiranja imagov rastlinjakovega ščitkarja ne razlikujejo. Največja smrtnost škodljivca, 3. dan po aplikaciji ogorčic, je pri temperaturi 15°C, 5. dan po aplikaciji ogorčic pa pri temperaturi 15°C in 25°C. Najvišja smrtnost škodljivca je pri koncentraciji 5000 IL/ml, ki pa se 5. dan po aplikaciji ogorčic ne razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml.
13. Na odstotek smrtnosti ličink cvetličnega resarja 3. in 5. dan po aplikaciji ogorčic vpliva koncentracija ogorčic in temperatura okolja. Ličinke cvetličnega resarja so 3. dan po aplikaciji ogorčic enako dovzetne na vse štiri vrste ogorčic, 5. dan po aplikaciji ogorčic pa so najbolj dovzetne na ogorčice *Heterorhabditis bacteriophora*, najmanj pa na ogorčice *Steinernema feltiae*. Največja smrtnost ličink cvetličnega resarja 3. in 5. dan

po aplikaciji ogorčic, je pri koncentraciji 500 IL/ml in 5000 IL/ml in pri temperaturi okolja 25°C.

14. Na odstotek smrtnosti ličink koloradskega hrošča 3. dan po aplikaciji ogorčic vpliva koncentracija ogorčic in temperatura okolja, 5. dan po aplikaciji ogorčic pa temperatura okolja. Ličinke koloradskega hrošča so enako dovzetne na vse štiri vrste ogorčic. Največja smrtnost ličink koloradskega hrošča 3. dan po aplikaciji ogorčic, je pri koncentraciji 5000 IL/ml, ki se ne razlikuje od koncentracije 1000 IL/ml. 5. dan po aplikaciji ogorčic ni razlike v smrtnosti ličink koloradskega hrošča glede na koncentracijo ogorčic. Največja smrtnost ličink koloradskega hrošča 3. dan in 5. dan po aplikaciji ogorčic, je pri temperaturi 25°C.

6 POVZETEK (SUMMARY)

6.1 POVZETEK

Številni pridelovalci hrane in okrasnih rastlin uporabljajo insekticide za varstvo rastlin pred cvetličnim resarjem (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), rastlinjakovim ščitkarjem (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in koloradskim hroščem (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Pretiravanje z rabo fitofarmacevtskih sredstev lahko privede do odpornosti omenjenih in drugih vrst škodljivcev, kar zmanjšuje učinkovitost prvih. Stranski učinki nestrokovnih ukrepov v varstvu rastlin so onesnaževanje okolja, zlasti kontaminacija podtalnice in ostanki fitofarmacevtskih sredstev v tako pridelanem živežu. Med pomembnimi cilji integrirane pridelave živeža je tudi kar največje možno zmanjšanje uporabe fitofarmacevtskih sredstev, kar je mogoče doseči tudi z uvajanjem biotičnega varstva rastlin.

Entomopatogene ogorčice imajo dobre lastnosti za učinkovito biotično varstvo rastlin, saj nimajo negativnih učinkov na okolje, lahko jih uporabljamo v »občutljivem« okolju (vodovarstvena območja), imajo veliko gostiteljev med rastlinskimi škodljivci, enostavno se razmnožujejo, so komercialno dostopne v tujini, niso fitotoksične in lahko gostitelja oslabijo ali ubijejo v 48-ih urah. V nekaterih primerih jih lahko uporabljamo skupaj z insekticidi, brez negativnega vpliva na učinkovitost entomopatogenih ogorčic. Te ogorčice lahko nanašamo z opremo, ki je sicer namenjena za aplikacijo fitofarmacevtskih sredstev.

V raziskavi smo ugotavljali vpliv pomembnejših okoljskih dejavnikov na učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic - *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* in *Steinernema carpocapsae* - za zatiranje ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), odraslih osebkov rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) in ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Njihovo učinkovitost za zatiranje nadzemskih škodljivcev smo ugotavljali pri različnem številu infektivnih ličink, v suspenziji, s katero smo tretirali škodljivce (0 - kontrola, 500, 1000, 5000 ogorčic/ml destilirane vode). Učinkovitost naravnih sovražnikov treh vrst škodljivih žuželk smo ugotavljali pri različnih temperaturah (15°C, 20°C in 25°C) in pri stalni zračni vlagi (95 %). Razmerje med svetlobo in temo v gojitveni komori je bilo 4 : 20.

S proučevanjem hkratnega delovanja večjega števila abiotičnih (okoljski parametri) in biotičnih dejavnikov (koncentracija ogorčic v suspenziji) smo pridobili pomembne in doslej še malo znane podatke o učinkovitosti obravnavanih vrst entomopatogenih ogorčic za zatiranje izbranih nadzemskih škodljivcev. Ogorčice *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* in *Steinernema carpocapsae* smo za namen naše raziskave dobili v obliki biopripravkov pri podjetju Koopert b.v. na Nizozemskem.

Image rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) smo nabrali na listih kumar, v rastlinjaku v Bukovici pri Volčji dragi. Ličinke koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) smo nabrali na krompirju v kraju Kleče pri Dolu pri Ljubljani, ličinke cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) pa v rastlinjaku na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Laboratorijski poskus smo izvajali v plastičnih posodicah z dimenzijami 10 x 10 x 3,5 cm, ki so namenjene zamrzovanju živil. Na sredini pokrova, ki dobro tesni in tako onemogoča pobeg osebkov, smo naredili odprtino s premerom 2,4 cm. Z zunanje strani smo jo prekrili z gosto najlonsko mrežo, s premerom luknjic 45 µm. To je omogočalo zadostno kroženje zraka v posodicah. V posodico smo položili narobe obrnjeno petrijevko s premerom 5 cm in ob njo prilepili »Eppendorfovo tubo«, ki smo jo napolnili z destilirano vodo. Liste rastlin smo položili v posodice tako, da so bili peclji v »Eppendorfovi tubi«, listna poskev pa je bila položena na petrijevko. Na listno ploskev smo najprej nanesti osebke proučevane škodljive vrste žuželk in nato nanjo nanesti suspenzijo infektivnih ličink. Zatem smo list še poškropili z 1 ml destilirane vode, ker so ogorčice aktivnejše v vlažnem okolju.

Za vsako vrsto škodljivega organizma smo poskus izvajali pri treh različnih temperaturah (15°C, 20°C in 25°C), in sicer v dvanajstih obravnavanjih s petimi ponovitvami, kjer so obravnavanja predstavljala tri različne koncentracije suspenzije ogorčic v destilirani vodi (500, 1000, 5000 IL/ml vode) in štiri vrste entomopatogenih ogorčic.

Tako pripravljene posodice in še 5 posodic za kontrolo smo dali v gojitveno komoro (RH-900 CH, proizvajalec: Kambič, Semič), ki omogoča nastavitev želene temperature, dolžine osvetlitve (4 ure svetloba in 20 ur tema) in zračne vlage (95 %). Po treh in petih dneh smo prešteli število preživelih osebkov proučevanih škodljivcev. Rezultate smo statistično analizirali (analiza variance, primerjava rezultatov povprečij z Duncanovim preizkusom mnogoterih primerjav pri $P < 0,05$ s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0).

Vse štiri vrste entomopatogenih ogorčic so bile uspešne pri zatiranju vseh treh vrst nadzemskih škodljivcev. Ugotovili smo, da obstajajo razlike v učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje nadzemskih škodljivcev. Na učinkovitost zatiranja nadzemskih škodljivcev so vplivali različni dejavniki, kot so na primer vrsta žuželk in temperatura okolja. Koncentracija ogorčic je vplivala na učinkovitost zatiranja škodljivcev le pri ogorčicah *Heterorhabditis bacteriophora* in *Steinernema feltiae* (3. dan po aplikaciji). Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju nadzemskih škodljivcev je bila 5. dan po aplikaciji ogorčic večja kot 3. dan.

V povprečju so bile ogorčice 3. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), in sicer je bila smrtnost od 82 % do 88 %, nato ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), od 63 %

do 71 %, ter najmanj uspešno imago rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), od 54 % do 64 %.

V povprečju so bile ogorčice 5. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), kjer je bila njihova smrtnost od 95 % do 97 %, nato imago rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), od 85 % do 94 %, in najmanj ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) od 76 % do 86 %.

Vse štiri vrste ogorčic so bile 3. dan po aplikaciji najučinkovitejše pri zatiranju ličink koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in 5. dan po aplikaciji najmanj učinkovite pri zatiranju ličink cvetličnega resarja (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]).

6.2 SUMMARY

Many producers of food and ornamental plants use insecticides for the protection of plants against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) and Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). Overuse of plant protection products may result in the resistance of the above stated and other pests and consequently decreased efficacy of plant protection products. Such unprofessional measures in the protection of plants have side effects such as environmental pollution, in particular contamination of underground water and pesticide residues in the related plants. Integrated food production is aiming also at decreasing the use of plant protection products as much as possible, which may be attained also through the introduction of biological control of plants.

Entomopathogenic nematodes have fairly good characteristics to provide effective biological control of plants, since they have no negative effects on the environment, may be used in a »sensitive« environment (safeguard zones), have many hosts among pests, their replication is not complicated, are commercially available in foreign countries, are not phytotoxic and may enable or kill a host within 48 hours. In some cases they may be used together with insecticides, free of any negative effects on their efficacy. The entomopathogenic nematodes may be applied by means of equipment for the application of plant protection products.

In the research the effect of significant environmental factors on the efficacy of four species of entomopathogenic nematodes - *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* and *Steinernema carpocapsae* – for the control of larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), adults of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) and larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) was established. The efficacy as to the control of foliar pests was established on the basis of a different number of infective larvae in a suspension used for the treatment of pests (0 - control, 500, 1000, 5000 nematodes/ml distilled water). The efficacy of natural enemies of the three species of pests was established at various temperatures (15°C, 20°C and 25°C) and constant atmospheric humidity (95 %). The light : dark period ratio in the rearing chamber was 4 : 20.

Through the studying of simultaneous operation of a number of abiotic (environmental parameters) and biological factors (concentration of nematodes in a suspension) we obtained significant and not very well known data on the efficacy of the discussed species of entomopathogenic nematodes for the control of the selected pests. For the purposes of our examination we took a supply of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* and *Steinernema carpocapsae* in the form of biopreparations from the Netherlands company Koopert b.v.

We collected images of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) from cucumber leaves in a greenhouse in Bukovica near Volčja draga. Larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) were collected from potato in Kleče near Dol pri Ljubljani, and larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) in a greenhouse at the laboratory field of the Biotechnical Faculty in Ljubljana.

The laboratory test was performed in plastic vessels of 10 x 10 x 3,5 cm, intended for the freezing of foods. In the middle of the lid for tight closing of the pot, so as to enable the specimens to run away, a hole was made of 2,4 cm diameter. From the exterior, it was covered with a dense nylon net with holes of 45 µm diameter. The circulation of air in the pots was thus sufficient. A 5 cm diameter Petri dish was placed in the pot upside down, stuck together with a »Eppendorf tube«, which was filled with distilled water. Leaves of the plants were then placed in the vessel with their petioles in the »Eppendorf tube« and the leaf surfaces on the Petri dish. The leaf surfaces were applied by specimens of the studied pest species and these were applied by the suspension of infective juveniles. The leaves were then sprayed with 1 ml of distilled water, in order to make the nematodes more active.

The test was repeated for each pest species at three temperatures (15°C, 20°C and 25°C), in twelve treatments with five replicates, the replicates considered to be three different concentrations of suspensions of nematodes in distilled water (500, 1000, 5000 IL/ml of water) and four species of entomopathogenic nematodes.

These vessels were then placed, together with 5 control vessels, in a breeding chamber (RH-900 CH, producer: Kambič, Semič), which enables setting of the desired temperature, illumination time (4 hours of light and 20 hours of dark) and atmospheric humidity (95 %). The survived specimens of the examined pests were then counted after three and five days. The results were subjected to statistical analysis (analysis of variance, comparing the results with Duncan's multiple comparison test at $P < 0.05$ using the program Statgraphics Plus for Windows 4.0).

All four species of entomopathogenic nematodes proved successful at suppressing all three species of foliar pests. However as we established, entomopathogenic nematodes differ in their efficacy as regards the suppression of foliar pests. The efficacy thereof was subject to various factors, such as insect species and air temperatures. The concentration of nematodes showed effect only at nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema feltiae* (third day following the application). On the fifth day after the application, the nematodes proved to be more efficient than on the third day.

In the average, on the third day after the application nematodes proved to be the most efficient as regards the control of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), with mortality varying from 82 % to 88 %, which was followed by larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]) with mortality from

63 % to 71 % and the less successful for images of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]), mortality varying from 54 % to 64 %.

In the average, on the fifth day following the application nematodes proved to be the most efficient in the control of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]), with mortality varying from 95 % to 97 %, which was followed by images of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]) with mortality from 85 % to 94 %, and the smallest was the number of larvae of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]), mortality varying from 76 % to 86 %.

The efficacy of all four species of nematodes was the highest on the third day from the application as regards the control of larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) and the lowest on the fifth day from the application as regards the suppression of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]).

7 VIRI

- Bathon H. 1996. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. *Biocontrol Science and Technology*, 6: 421-434
- Berry R.E. 2000. Control of root weevils in nursery crops with entomopathogenic nematodes. V: *Proceedings of beneficial nematode workshop*. Gothro P. (ed.). Oregon: 21-28
- Brivio M.F., Pagani M., Restelli S. 2002. Immune suppression of *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera) humoral defenses induced by *Steinernema feltiae* (Nematoda, Rhabditida). *Experimental Parasitology*, 101: 149-156
- Burnell A.M., Stock S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts - lethal pathogens of insects. *Nematology*, 2(1): 31-42
- Ehlers R.U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied microbiology and biotechnology*, 56: 5-6, 623-633
- EPPO Standards, Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/11 (1). 2002. *OEPP/EPPO Bulletin*, 32: 241-243
- Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: *Optimal use of insecticidal nematodes in pest management*. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14
- Gaugler R. 2002. *Entomopathogenic Nematology*. New Jersey, CABI Publishing: 373 str.
- Gaugler R., Kaya H.K. 1990. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Florida, Boca Raton, CRC Press: 365 str.
- Grewal P.S. 1998. Formulation of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Japanese Journal of Nematology*, 28: 68-74
- Grewal P.S. 2000a. Enhanced ambient storage stability of an entomopathogenic nematode through anhydrobiosis. *Pest Management Science*, 56: 401-406
- Grewal P.S. 2000b. Anhydrobiotic potencial and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 30: 995-1000
- Grewal P.S. 2002. Formulation and application technology. V: *Entomopathogenic nematology*. Gaugler R. 2002 (ed). Ohio: 265-287

- Grewal P.S., Jagdal G.B. 2002. Enhanced trehalose accumulation and desiccation survival of entomopathogenic nematodes through cold preacclimation. *Biocontrol Science and Technology*, 12: 533-545
- Grewal P.S., Lewis E.E., Venkatachari S. 1999a. Allelopathy: a possible mechanism of suppression of plant-parasitic nematodes by entomopathogenic nematodes. *Nematology*, 1: 735-743
- Grewal P.S. 1999b. Insecticidal Nematode Laboratory. V: Optimal use of insecticidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 51-61
- Grewal P.S. 1999c. Production, formulation, and quality. V: Optimal use of insecticidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 15-24
- 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
- Jaworska M., Gorczyca A. 2002. The effect of metal ions on mortality, pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Rhabditida, Steinernematidae). *Polish Journal of Environmental Studies*, 11, 5: 517-519
- Kamionek M., Pezowicz E., Weclewska G. 1997. The effect of ecological conditions on the behaviour of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) in the soil environment. *Animal Science*, 33: 3-13
- Kaya H.K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hoddle M.S. (ed.). Riverside, California: 38-46
- Kaya K.H. 2002. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R. (ed). Oxon, CAB International: 189-203
- Kaya K.H., Koppenhöfer A.M., Johnson M. 1998. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. *Japanese Journal of Nematology*, 28 Special Issue: 13-21
- Kaya H.K., Koppenhöfer A.M. 1999. Biology and ecology of insecticidal nematodes. V: Optimal use of insecticidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Blueberry Cranberry Research and Extension Center: 1-8

- Kerry B. 1995. The potential impact of natural enemies on the survival and efficacy of entomopathogenic nematodes. V: Biotechnology: COST 819. Ecology and transmission strategies of entomopathogenic nematodes: 7-13
- 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. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. V: Microbial-biopesticides: 277-305
- Lewis E.E. 2000. Biology, selection, handling and application of entomopathogenic nematodes. V: Proceedings of Beneficial nematode workshop. Gothro P. (ed.). Oregon: 7-10
- Milevoj L. 2002. Biotično varstvo solatnic. Sodobno kmetijstvo, 33, 6: 282-283
- Milevoj L. 2005a. Rastlinjakov ščitkar - *Trialeurodes vaporariorum* West. <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/> (9. februar 2005)
- Milevoj L. 2005b. Koloradski hrošč ali krompirjevec - *Leptinotarsa decemlineata* (Say 1824). <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/> (9. februar 2005)
- O'Leary S., Power A.P., Stack C. M., Burnell A.M. 2001. Behavioural and physiological responses of infective juveniles of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* to desiccation. BioControl, 46: 345-362
- O'Leary S.A., Stack C.M., Chubb M.A., Burnell A.M. 1998. The effect of day of emergence from the insect cadaver on the behavior and environmental tolerances of infective juveniles of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* (Strain UK211). The Journal of Parasitology, 84, 4: 665-672
- Pechenik J. 2005. Nematode Basics. <http://classes.seattleu.edu/biology/biol235/hodin/nematodepriapulidGroup/nematodes/basics.htm> (4. april 2005)
- Peters A. 1996a. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and Their impact on insect populations. Biocontrol Science and Technology, 6: 389-402
- Peters A. 1996b. Host finding by the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. V: Insect pathogens and insect parasitic nematodes. Proceedings of the first joint meeting. Bulletin-OILB-SROP, 19: 9, 99-102

- Peters A., Ehlers R.U. 1994. Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*; Tipulidae; Nematocera) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 63: 163-171
- Pezowicz E., Kamionek M., Weclawska G. 1997. The investigations of the technology of production of a biopreparation based on entomopathogenic nematodes. *Animal Science*, 33: 15-23
- Potonematoden.jpg, 2005.
<http://images.google.com/images?q=Steinernema+feltiae&hl=sl&lr=&start=20&sa=N>
(maj, 2005)
- Rumein X., Yun Z., Wenru M. 1994. The probing and feeding process of the greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* [Westwood]). *Entomologia Sinica*, 1: 67-76
- Sanderson J.P. 2005. Larval stage of western flower thrips, a vector of tomato spotted wilt tospovirus.
http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/Images/Tomato/Tom_SptWilt/TSWVfs1.jpg
(marec, 2005)
- Shapiro I., Gaugler R. 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28: 137-146
- Slides1.jpg, 2005.
<http://images.google.com/images?hl=sl&lr=&q=infective+juveniles> (maj, 2005)
- Smart G.C. Jr. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Journal of Nematology*, 27, 4: 529-534
- Smith K. 1999. Factors affecting efficacy. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ed). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 37-46
- Stackebrandt E., Ehlers R.U., Rainey F.A. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: are they sister genera or are their members phylogenetically intertwined? V: Simbiosis, 22. Galun M. (ed.). Philadelphia, Balaban Publishers: 59-65
- Stanković S., Zabel A., Kostić M., Manojlović B. 2004. Colorado potato beetle [*Leptinotarsa decemlineata* (Say)] resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. *Journal of Pest Science*, 77:1, 11-15
- Thomas D.C. 1993. Host plant adaptation in the glasshouse whitefly. *Journal of Applied*

Entomology, 115: 405-415

- Trdan S. 2000. A simple method for rearing of thrips (Thysanoptera) in laboratory to study their bionomys. Research Reports, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, 75, 1: 19-25
- Trdan S. 2005. Cvetlični resar - *Frankliniella occidentalis* (Pergande).
<http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/> (9. februar 2005)
- Vaishampayan S.M., Waldbauer G.P., Kogan M. 1975. Visual and olfactory responses in orientation to plant by the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Entomologia Experimentalis et Applicata, 18: 412-422
- Viscarret M., Botto E. 1996. Description e identification de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Chilena Entomologia, 23: 51-58
- Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 142 str.
- Wardlow L.R., Piggott S., Goldsworthy R. 2002. Foliar application of *Steinernema feltiae* for the control of flower thrips. V: Proceedings of the 53rd International Symposium on Crop Protection, Gent, Belgium, 8 May 2001. Part I. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste-Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent. 2001: 66
- Williams E.C., 2000. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against leafminers on vegetables; Biocontrol-Science-and-Technology, 10, 1: 61-70
- Wouts W. M. 1991. *Steinernema* (Neoplectana) and *Heterorhabditis* Species. V: Manual of Agricultural Nematology. Nickle W.R. (ed). New York: 1-3

ZAHVALA

Ob zaključku magistrske naloge se za vsestransko pomoč iskreno zahvaljujem mentorju doc. dr. Stanislavu Trdanu in somentorici prof. dr. Lei Milevoj.

Zahvaljujem se tudi strokovnim sodelavcem Katedre za entomologijo in fitopatologijo za vsestransko pomoč in nasvete, prof. dr. Miklosu Nádasy-ju, University of Agricultural Sciences, Georgikon Faculty of Agriculture, Keszthely z Madžarske, za pomoč pri uvajanju v svet entomopatogenih ogorčic, mag. Ivanu Žežlini, družini Čebren iz Bukovice in Bertu van der Geest-u za pomoč pri preskrbi z materialom, potrebnim za raziskave, ter vsem ostalim, ki so mi kakorkoli pomagali pri omenjeni nalogi.