UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Petra PREMRL

LABORATORIJSKO PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI DVEH RAS ENTOMOPATOGENE OGORČICE *Steinernema feltiae* (Filipjev) ZA ZATIRANJE OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae)

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Petra PREMRL

LABORATORIJSKO PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI DVEH RAS ENTOMOPATOGENE OGORČICE *Steinernema feltiae* (Filipjev) ZA ZATIRANJE OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae)

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

RESEARCH ON EFFICACY OF TWO STRAINS OF *Steinernema feltiae* (Filipjev) AGAINST WHITE GRUBS OF COMMON COCKCHAFER (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae) UNDER LABORATORY CONDITTIONS

GRADUATION THESIS
Higher Professional studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega strokovnega študija agronomije. Opravljeno je bilo v Laboratoriju za entomologijo na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Ogrce poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) smo nabrali na travnikih in pašnikih na območju Črnega vrha nad Idrijo.

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

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Marijana JAKŠE
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

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

Član: prof. dr. Anton VIDRIH
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

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

Petra Premrl

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Vs
DK	UDK 632.937:632.76:632.651:591.5(043.2)
KG	laboratorijska raziskava/entomopatogene ogorčice/*Steinernema feltiae*/poljski majski hrošč/*Melolontha melolontha*/biotično varstvo rastlin/temperatura/koncentracija suspenzije ogorčic
KK	AGRIS H01/H10
AV	PREMRL, Petra
SA	TRDAN, Stanislav (mentor)
KZ	SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2011
IN	LABORATORIJSKO PREUČEVANJE UČIKOVITOSTI DVEH RAS ENTOMOPATOGENE OGORČICE *Steinernema feltiae* (Filipjev) ZA ZATIRANJE OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae)
TD	Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP	IX, 31,[1] str., 2 pregl., 6 sl., 57 vir.
IJ	sl
JI	sl/en

AI V laboratorijskem poskusu smo preučevali učinkovitost entomopatogene ogorčice *Steinernema feltiae* za zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha)* tretje larvalne stopnje. V poskus smo vključili komercialni pripravek Entonem in domorodno raso C76. Delovanje omenjenih biotičnih agensov smo ugotavljali pri 20 in 25 °C ter štirih različnih koncentracijah suspenzije ogorčic: 0, 250.000 infektivnih ličink [IL]/m², 500.000 IL/m² in 1.000.000 IL/m². Rasa C76 je vplivala na višjo stopnjo smrtnosti (27 %) ogrcev, v primerjavi s komercialnim pripravkom (20 %). Temperatura se je v našem poskusu izkazala kot najbolj omejujoč dejavnik učinkovitosti preizkušenih biotičnih agensov, saj smo pri 20 °C dosegli 34 % smrtnost ogrcev, medtem ko je bila ta pri 25 °C le 12 %. Pri največji koncentraciji suspenzije ogorčic in 20 °C je bila pri rasi C76 dosežena najvišja stopnja smrtnosti ogrcev, in sicer 53 %.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs
DC UDC 632.937:632.76:632.651:591.5(043.2)
CX laboratory research/entomopathogenic nematodes/*Steinernema feltiae*/common cockchafer/*Melolontha melolontha*/white grubs/biological control /temperature/concentration of nematode suspension
CC AGRIS H01/H10
AU PREMRL, Petra
AA TRDAN, Stanislav (supervisor)
PP SI-1111 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2011
PI RESEARCH ON EFFICACY OF TWO STRAINS OF *Steinernema feltiae* (Filipjev) AGAINST WHITE GRUBS OF COMMON COCKCHAFER (*Melolontha melolontha* [L.], Coleoptera, Scarabaeidae) UNDER LABORATORY CONDITIONS
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
NO IX, 31, [1] p., 2 tab., 6 fig., 57 ref.
LA sl
AL sl/en
AB In a laboratory experiment an efficacy of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in controlling third-stage larvae of common cockchafer (*Melolontha melolontha*) was studied. The experiment comprised of commercial product Entonem and domestic strain C76. The efficacy of both biological agents was tested at 20 and 25 ºC and at four different concentrations of nematode suspension: 0, 250.000 infective juveniles [IJs]/m^2, 500.000 IJs/m^2, and 1.000.000 IJs/m^2. Higher mortality rate (27 %) of white grubs was obtained for strain C76 rather than for commercial product (20 %). In our experiment the temperature was proved to be the most limiting factor in efficacy of tested biological agents. Meanwhile, mortality rate at 20 ºC was 34 %, only 12 % mortality was achieved at 25 ºC. At highest concentration of nematode suspension and 20 ºC also the highest mortality rate (53 %) with strain C76 was obtained.

KAZALO VSEBINE

		str.
	Ključna dokumentacijska informacija	III
	Key words documentation	IV
	Kazalo vsebine	V
	Kazalo preglednic	VII
	Kazalo slik	VIII
	Okrajšave in simboli	IX
1	**UVOD**	1
1.1	POVOD ZA DELO	1
1.2	CILJ RAZISKAVE	2
2	**PREGLED OBJAV**	3
2.1	ENTOMOPATOGENE OGORČICE	3
2.1.1	**Zgodovina uporabe entomopatogenih ogorčic**	3
2.1.2	**Sistematika entomopatogenih ogorčic**	3
2.1.3	**Deblo Nemata**	4
2.1.4	**Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Steinernema***	4
2.1.4.1	*Steinernema feltiae*	5
2.2	RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	5
2.3	ODNOSI MED ENTOMOPATOGENIMI OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI	6
2.3.1	**Načini parazitiranja**	7
2.4	DEJAVNIKI KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	8
2.4.1	**Biotični in abiotični dejavniki**	8
2.5	PROIZVODNJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	9
2.6	SIMBIONTSKE BAKTERIJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	10
2.6.1	**Sistematika**	10
2.6.2	**Entomopatogene ogorčice in njihove simbiotske bakterije**	10
2.7	UČINKOVITOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC	11
2.8	POLJSKI MAJSKI HROŠČ	12
2.8.1	**Bionomija poljskega majskega hrošča**	12
2.8.2	**Opis vrste**	12
2.8.3	**Življenski krog**	13
2.9	TRAVINJE	15
2.9.1	**Pojem in pomen**	15
2.9.2	**Nastanek in vrste travinja**	15
2.9.2.1	Pašniki	16
2.9.2.2	Travniki	16
2.9.2.3	Kombinirani pašno-košni travniki	17
2.9.3	**Tipi travinja**	17
2.9.4	**Razširjenost travinja**	18

3	**MATERIALI IN METODE**	19
3.1	POLJSKI MAJSKI HROŠČ IN ENTOMOPATOGENE OGORČICE	19
3.2	LABORATORIJSKI POSKUS	20
3.3	STATISTIČNA ANALIZA	21
4	**REZULTATI**	22
4.1	GENERALNA ANALIZA SMRTNOSTI OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA	22
4.2	ANALIZA SMRTNOSTI OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA DESETI DAN PO APLIKACIJI	22
5	**RAZPRAVA IN SKLEPI**	27
6	**POVZETEK**	29
7	**VIRI**	30
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Entomopatogene ogorčice in njihove simbiontske bakterije (Kaya, 2000) 10

Preglednica 2: Smrtnost ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča (*Melolntha melolontha* [L.]), izpostavljenih trem različnim koncentracijam rase C76 pri 20 °C deseti dan po tretiranju 23

Preglednica 3: Smrtnost ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča (*Melolntha melolontha* [L.]), izpostavljenih trem različnim koncentracijam rase C76 pri 25 °C deseti dan po tretiranju 24

Preglednica 4: Smrtnost ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča (*Melolntha melolontha* [L.]), izpostavljenih trem različnim koncentracijam komercialnega pripravka Entonem pri 20 °C deseti dan po tretiranju 25

Preglednica 5: Smrtnost ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča (*Melolntha melolontha* [L.]), izpostavljenih trem različnim koncentracijam komercialnega pripravka Entonem pri 25 °C deseti dan po tretiranju 26

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Laznik, 2006) 6

Slika 2: Odrasel osebek poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) (foto: A. Poženel) 13

Slika 3: Nabiranje ogrcev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) na travniku na območju Črnega vrha nad Idrijo (foto: Ž. Laznik) 19

Slika 4: Ogrci poljskega majskega hrošča v poskusni posodi (foto: Ž. Laznik) 20

Slika 5: Priprava poskusnih posod, v katere smo posejali ozimno pšenico (foto: Ž. Laznik) 21

Slika 6: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča tretje larvalne stopnje (*Mellolontha mellolontha*) v odvisnosti od temperature in neodvisno od koncentracije suspenzije pri tretiranju z dvema rasama entomopatogene ogorčice *Steinernema feltiae*. Prikazani podatki so korigirani za kontrolno smrtnost 22

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

sod.	sodelavci
IL	infektivne ličinke
a.s.	aktivna snov
t.j.	to je
oz.	oziroma

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Zatiranje ličink (ogrcev) poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* [L.]) predstavlja povsod težko rešljiv problem, saj gre za zelo trdoživega škodljivca. Pri nas povzročajo ogrci veliko škode na Idrijskem, predvsem v vaseh Zadlog in Črni vrh. Njihovo zatiranje je zelo težavno, pa naj gre za kemičen, mehanski ali biotični način ali za kombinacijo teh načinov (Poženel, 2005b).

Kar nekaj predstavnikov hroščev iz družine Scarabaeidae, *Phyllophaga* spp. Harris, *Rhizotrogus majalis* (Razomowsky), *Papillia japonica* Newman in *Melolontha melolontha* (L.), je pomembnih škodljivcev trav in okrasnih rastlin v Evropi in Severni Ameriki. Odrasli hrošči se hranijo z listi in cvetovi sadnih in gozdnih drevesnih vrst ter okrasnih rastlin, medtem ko so ogrci – talni škodljivci in se hranijo s talnimi deli rastlin (Keller in Zimmermann, 2005). V Sloveniji spada poljski majski hrošč med gospodarsko najpomembnejše škodljivce na travniju. Ima triletni razvojni krog z različnimi zaporedji časa in krajev pojavljanja (Vrabl, 1992). V obdobju med letoma 2001 in 2007 smo bili priča masovnemu pojavljanju tega škodljivca na območju Črnega vrha nad Idrijo, kar je v letih 2002, 2003, 2005 in 2006 povzročilo uničenje 760 ha travinja oz. na 62 % vseh kmetijskih zemljišč tega območja. Populacija ogrcev se je v teh letih povečala na več kot 200 ličink /m² (Poženel, 2007).

Ogrce poljskega majskega hrošča je bilo mogoče do nedavno zatirati z uporabo talnih insekticidov. Vendar pa se s pojavom odpornosti pri žuželkah zmanjšuje učinkovitost insekticidov, poleg tega se pojavlja vse več dvomov glede okoljske sprejemljivosti fitofarmacevtskih sredstev. Zato se v zadnjih letih vse bolj intenzivno iščejo alternativni načini za njegovo zatiranje (Koppenhofer in Kaya, 1998). Za biotično zatiranje ogrcev poljskega majskega hrošča se najpogosteje uporablja entomopatogena gliva *Beauveria brongniartii*. Na ogrcih, ki jih okuži ta gliva, se oblikuje micelij, na njem pa nastanejo konidiji. Konidiji večine entomopatogenih gliv iz reda Hypocreales se čvrsto pritrdijo na kutikulo žuželk. Gostitelj glive umre zaradi ustavitve prenosa hranil, fizičnih ovir in glivnih toksinov, kakršen je na primer beauvericin (Boucias in sod., 1994).

Entomopatogene ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae so pomembni naravni sovražniki žuželk (Kaya, 1990). To so organizmi v tleh, ki živijo v simbiozi z bakterijami iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* (Burnell in Stock, 2000). Ob vstopu v žuželko se simbiotske bakterije sprostijo iz teles infektivnih ličink (tretje larvalne stopnje entomopatogene ogorčice) v hemocel gostitelja. Z izločanjem toksinov povzročijo bakterije njegovo smrt v 24 do 72 urah (Forst in Clarke, 2002).

Do nedavnega so bile entomopatogene ogorčice v Sloveniji znane kot tujerodne vrste in njihova uporaba je bila mogoča le v laboratorijskih poskusih (Trdan in sod., 2006, 2008). Od leta 2006 do leta 2010 so na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo aktivno preučevali njihovo zastopanost v slovenskih tleh in v tem obdobju so potrdili 5 vrst: *Steinernema feltiae* (Filipjev) (rase B30, B49, C76), *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (rase C67, C101, C110, C119), *Steinernema kraussei*

(Steiner) (rase C46, C49), *Steinernema affine* (Bovien) (rasa A12) in *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) (rasa D54) (Laznik in sod., 2008ab). Rasa, ki smo jo uporabili v našem poskusu, *S. feltiae* C76, je bila izolirana v osrednjem delu Slovenije (območje Logatca). Poleg te rase smo v laboratorijskem poskusu za zatiranje poljskega majskega hrošča vključili tudi komercialni pripravek Entonem (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, Nizozemska), katerega aktivna snov je tudi vrsta *S. feltiae*.

1.2 CILJ RAZISKAVE IN DELOVNE HIPOTEZE

Cilj naše raziskave je bil preučiti učinkovitost domorodne rase *S. feltiae* C76, v primerjavi s komercialnim pripravkom Entonem pri zatiranju tretje larvalne stopnje ličink poljskega majskega hrošča, kot tudi določiti vpliv temperature in koncentracije suspenzije na aktivnost preučevanih biotičnih agensov. S hkratnim preučevanjem večjega števila abiotičnih (neživih) in biotičnih (živih) dejavnikov, smo želeli pridobiti čim več podatkov o delovanju in učinkovitosti entomopatogenih ogorčic pri zatiranju ogrcev poljskega majskega hrošča.

Naša hipoteza je bila, da obstajajo med preučevanima rasama entomopatogene ogorčice *Steinernema feltiae* – med slovensko raso C76 in komercialnim pripravkom Entonem podjetja Koppert - razlike v delovanju na ogrce, razlike v smrtnosti ogrcev pa smo pričakovali tudi med različnimi koncentracijami entomopatogenih ogorčic in med različnimi temperaturami okolja.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ENTOMOPATOGENE OGORČICE

2.1.1 Zgodovina uporabe entomopatogenih ogorčic

Leta 1929 sta Glaser in Fox odkrila ogorčico, ki je napadla hrošča *Popillia japonica* (Smart, 1995). Istega leta je Steiner poimenoval to ogorčico z imenom *Steinernema glaseri*. Vsi trije znanstveniki se niso zavedali, da je bila glavni povzročitelj smrti omenjenega hrošča simbiotska bakterija, ki živi z entomopatogeno ogorčico v mutualističnem odnosu. 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 v New Jersy-ju izvedel prvi poljski poskus za zatiranje hrošča *Popillia japonica*.

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

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

2.1.2 Sistematika entomopatogenih ogorčic

Po uveljavljeni sistematiki entomopatogene ogorčice uvrščamo v naslednje sistematske kategorije :

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

družina: Heterorhabditidae (rod *Heterorhabditis*).

2.1.3 Deblo Nemata

Izraz »nematoda«, izhaja iz grških besed »nema« (nit) in »toid« (oblika). Ogorčice so talni organizmi, ki v dolžino merijo od 0,1 mm do več metrov (Kaya in Koppenhöfer, 1999). Gre za agense, ki za obstoj nujno potrebujejo večjo vlago. Ker so jih do sedaj našli na vseh celinah, razen na Antarktiki, jih uvrščamo med kozmopolite. Ti organizmi so sposobni živeti tudi v najbolj ekstremnih razmerah (Gaugler, 2002).

Ogorčice imajo prebavila, mišice, enostavni izločalni in živčni sistem, kot tudi razmnoževalne organe, nimajo pa čutil za vid in sluh ter dihalnega in cirkulacijskega sistema. Pri večini vrst sta spola ločena. Večina ogorčic je prostoživečih, nekatere vrste pa lahko živijo kot paraziti rastlin ali živali. Najdemo jih tako v sladki kot morski vodi (Gaugler, 2002).

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

2.1.4 Vrste entomopatogenih ogorčic iz rodu *Steinernema*

Po odkritju prve ogorčice iz rodu *Steinernema*, *Steinernema glaseri* (1929), se je intenzivnost iskanja novih vrst ogorčic začela naglo povečevati. Rod *Steinernema* uvrščamo v družino Steinernematidae, ki jo sestavljata dva rodova, in sicer rod *Steinernema* ter rod *Neosteinernema*. Iz rodu *Steinernema* je bilo doslej najdenih 49 vrst ogorčic. Samo v letu 2002 je bilo najdenih 26 vrst, kar daje slutiti, da se bo v prihodnih letih njihovo število najverjetneje še bistveno povečalo (Laznik in sod., 2009b).

V rod *Steinernema* tako uvrščamo naslednje vrste ogorčic: *Steinernema abbasi, S. aciari, S. affine, S. akhursti, S. anatoliense, S. anomali, S. apuliae, S. arenarium, S. asiaticum, S. beddingi, S. bibionis, S. bicornutum, S. carpocapsae, S. caudatum, S. ceratophorum, S. cubanum, S. diaprepesi, S. feltiae, S. glaseri, S. guangdongense, S. hermaphroditum, S. intermedium, S. jollieti, S. karii, S. kraussei, S. kushidai, S. litorale, S. loci, S. longicaudum, S. monticolum, S. neocurtillae, S. oregonense, S. pakistanense, S.puertoricense, S. rarum, S. riobravis, S. ritteri, S. robustispiculum, S. sangi, S. scapterisci, S. scarabaei, S. siamkayai, S. silvaticum, S. tami, S. thanhi, S. thermophylum, S. yirgalomense, S. websteri, S. weiseri.* V rod *Neosteinernema* štejemo le vrsto *Neosteinernema longicurvicauda* (Laznik in sod., 2009b).

2.1.4.1 *Steinernema feltiae* (Filipjev)

Omenjena vrsta najpogosteje parazitira ličinke dvokrilcev (Diptera) (Peters, 1996; Gaugler, 1999; Koppenhöfer, 2000). Svoje žrtve lahko unčikovito parazitira tudi pri nižji temperaturi, na primer pri 10 °C. Med vsemi vrstami iz rodu *Steinernema,* je ogorčica *S. feltiae* najmanj stabilna, saj je njena življenjska doba v pripravkih zelo kratka (Gaugler, 1999). Odrasel osebek je dolg 849 µm in širok 26 µm, infektivna ličinka pa meri v dolžino med 736 ter 950 µm in v širino 22-29 µm (Gaugler, 2002).

2.2 RAZVOJNI KROG ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

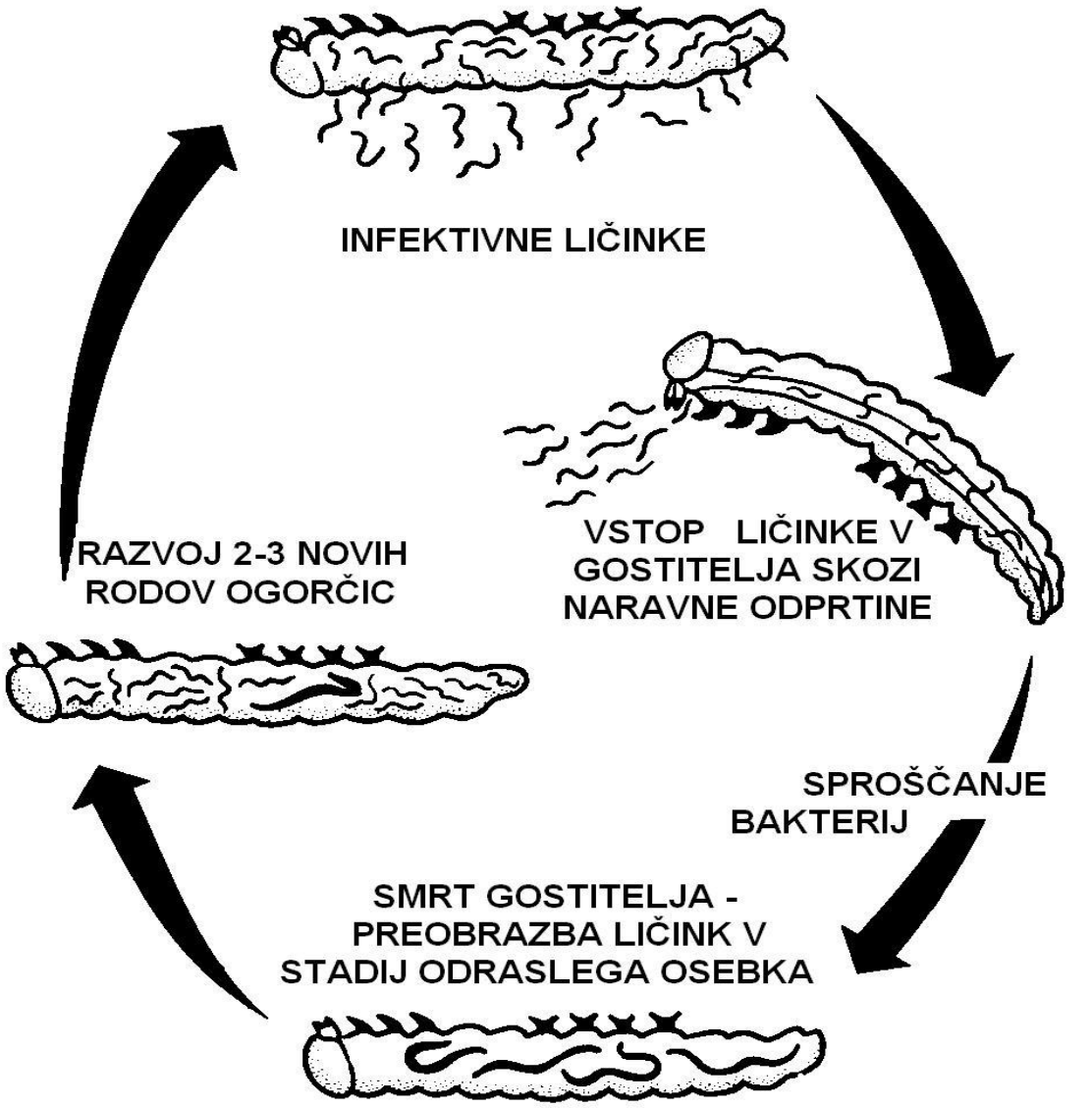
Razvojni krog entomopatogenih ogorčic vključuje naslednje razvojne stadije: jajčece, ličinko, ki se navadno štirikrat levi in odraslega osebka (imago). Med razvojnimi stadiji ogorčic, ki živijo v tleh, so le infektivne ličinke sposobne povzročiti okužbo. Gre za ličinke tretje larvalne stopnje (L3) prvega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

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

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

Bakterije proizvajajo tudi takšne toksine, ki od razpadajočega trupla odganjajo ostale mikroorganizme, ki bi se želeli z njim prehranjevati. Gre za tipičen zgled simbiontsko-mutualističnega odnosa med ogorčicami in bakterijami. Ogorčica namreč omogoča bakteriji vstop v gostitelja, bakterija pa v zameno za »taxi službo« ogorčici ubije gostitelja in ga razgradi na takšne snovi, ki jih nato entomopatogena ogorčica lahko uporabi za hrano. Ko je razvojni krog zaključen, ogorčica zapusti nerazgrajeni del trupla in se vrne v tla. Zunaj gostitelja, v tleh, lahko ogorčica živi le nekaj mesecev, nato pogine (Gaugler, 2002).

Najugodnejše razmere za razmnoževanje ogorčic so v hemolimfi gostitelja. V ugodnih razmerah infektivne ličinke iz rodu *Steinernema* zapustijo gostitelja 6. do 11. dan po parazitiranju, tiste iz rodu *Heterorhabditis* 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 njene velikosti vedno le en rod (Kaya, 2000).



Slika 1: Razvojni krog entomopatogenih ogorčic (Laznik, 2006)

2.3 ODNOSI MED OGORČICAMI IN ŽUŽELKAMI

Odnose med ogorčicami in žuželkami lahko razvrstimo zelo različno; od tistih, kjer govorimo zgolj o naključnemu odnosu, do tistega, pri katerem je smotrno uporabiti izraz parazitski. Vse te odnose lahko ponazorimo z izrazom »entomofilne ogorčice«. O entomopatogenih ogorčicah govorimo šele takrat, ko imajo le-te z žuželkami fakultativen

ali obligaten parazitski odnos. Pojav parazitizma entomopatogenih ogorčic na ciljni organizem se odraža kot sterilnost, zmanjšana plodnost, slabše letalne sposobnosti, krajša življenjska doba, zaostanek v razvoju, kot tudi druga, vedenjska, morfološka in psihološka odstopanja od osebka, ki ni bil napaden (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

V večini zgledov pa kompleks entomopatogena ogorčica-gostitelj povzroči smrt slednjega. Parazitski odnos z žuželkami je znan za ogorčice iz 23 družin, med katerimi imajo ogorčice iz sedmih družin lastnosti, ki so potrebne za biotično zatiranje žuželk. Med slednje spadata tudi družini Heterorhabditidae in Steinernematidae. Obe družini odstopata od ostalih po visoki stopnji učinkovitosti in lažjemu načinu gojenja, in prav zato sta najpogosteje uporabljeni v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami.

Nekatere vrste ogorčic imajo obligaten parazitski odnos z žuželkami, kjer ni vidnih škodljivih vplivov na gostitelja. Spet druge vrste ogorčic imajo fakultativen oziroma obligaten parazitski odnos z vidnimi škodljivimi vplivi na gostitelja. Ko govorimo o fakultativnem parazitskem odnosu, je potrebno dodati, da imajo ogorčice od gostitelja popolnoma neodvisen razvojni krog, parazitski razvojni krog pa se pojavi šele tedaj, ko je gostitelj dostopen. V obligatnem parazitskem odnosu ogorčice ne morejo preživeti brez gostitelja (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

Trenutno je znanih 63 vrst entomopatogenih ogorčic iz treh rodov, vendar imajo samo vrste iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* (Rhabditida) pomembno vlogo v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami (Koppenhöfer in Kaya, 2002). Vsako leto strokovnjaki odkrijejo nekaj novih vrst entomopatogenih ogorčic (Kaya, 2000). Ker gre v večini primerov še vedno zgolj za laboratorijske poskuse, kjer je kontakt med ogorčicami in gostitelji zagotovljen in kjer so okoljske razmere najustreznejše, lahko večina vrst entomopatogenih ogorčic parazitira številne vrste žuželk (Kaya in Koppenhöfer, 1999).

2.3.1 Načini parazitiranja

V razvojnem krogu entomopatogenih ogorčic imajo sposobnost parazitiranja gostiteljev samo t.i. infektivne ličinke. Vstop tega parazitskega stadija v gostitelja je mogoč prek dihalnih odprtin, ustne in zadnjične odprtine. Po uspešnem vstopu v dihalni ali prebavni sistem gostitelja, morajo infektivne ličinke predreti še steno traheol in steno prebavnega trakta. Cilj lahko dosežejo z uporabo fizične moči, in sicer z udarjanjem telesa ali zoba, ki je na koncu ust, kar je značilno za infektivne ličinke ogorčic iz rodu *Heterorhabditis*. Ker so stene traheol zelo nežne, jih lahko infektivne ličinke predrejo le s pritiskom glave. Večjo oviro pa predstavlja prediranje sten prebavnega sistema, saj je membrana prebavila močnejša. Entomopatogena ogorčica *Steinernema glaseri* potrebuje kar 4 do 6 ur, da predre steno srednjega črevesa hrošča *Popillia japonica*. Simbiontske bakterije se sprostijo od pol ure do petih ur po tem, ko infektivne ličinke predrejo steno (Kaya, 2000). Prav zaradi tega je vstop skozi dihalno odprtino najpogostejši način vstopa entomopatogenih ogorčic v gostitelja. Kot zanimivost naj omenim, da so entomopatogene ogorčice sposobne parazitiranja ličinke vrst *Tipula paludosa* ter *Tipula oleracea* le neposredno prek povrhnjice in le redko prek ustne ter zadnjične odprtine (Peters in Ehlers, 1994).

2.4 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA PREŽIVETJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

2.4.1 Biotični in abiotični dejavniki

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

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

Infektivne ličinke imajo dvoplastno zunanjo povrhnjico. Povrhnjica se strukturno razlikuje med različnimi vrstami entomopatogenih ogorčic in ima pomembno vlogo pri zadrževanju vode v telesu, s čimer preprečuje izsušitev. Infektivne ličinke imajo med dormanco zaprto ustno in zadnjično odprtino in s tem preprečujejo vstop škodljivim mikroorganizmom in škodljivim kemikalijam. V tem obdobju se ne prehranjujejo in je njihovo preživetje odvisno od notranjih virov energije (zalog). 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).

Vpliv temperature na entomopatogene ogorčice je odvisen od vrste ogorčic. Na splošno postanejo infektivne ličinke počasnejše pri temperaturah nižjih od 15 °C in neaktivne pri temperaturah višjih od 30 °C. Večina infektivnih ličink najučinkoviteje parazitira žuželke med 20 in 30 °C. Vrsta *Steinernema feltiae* je najučinkovitejša v temperaturnem intervalu med 12 in 25 °C.

Višje temperature povzročijo višjo metabolno aktivnost in porabo energijskih rezerv ter zato vplivajo na krajšo življenjsko dobo ogorčic. Temperature, višje od 32 °C, imajo negativen vpliv na razmnoževanje, rast in preživetje različnih organizmov, tudi ogorčic (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Entomopatogene ogorčice so zelo občutljive na sončno svetlobo, predvsem na ultravijolične žarke. Pomembno je, da ogorčice nanašamo na rastline zgodaj zjutraj ali zvečer, ko je UV sevanje najšibkejše, saj lahko UV svetloba v minuti inaktivira ali ubije ogorčico. Čas nanosa ogorčic v tla ni tako pomemben, če jih z zadostno množino vode hitro speremo v tla (Koppenhofer, 2000).

Entomopatogene ogorčice so zelo občutljive tudi na pomanjkanje vlage, kar zelo omejuje njihovo uporabnost v biotičnem varstvu rastlin. Ogorčice potrebujejo vodni film okoli njihovega telesa. Sušne razmere zmanjšujejo možnost njihovega premikanja in preživetja. Nekatere ogorčice oblikujejo tanko plast povrhnjice, kadar so izpostavljene sušnim razmeram. S tem zmanjšajo izgubo vode zaradi manjše površine kutikule, ki je izpostavljena izsuševanju. Ugotovljeno je bilo, da so entomopatogene ogorčice iz rodov *Steinernema* in *Heterorhabditis* sposobne preživeti v suhih tleh od 2 do 3 tedne, medtem, ko na talnem površju preživijo le nekaj ur po nanosu, odvisno od vrste ogorčic, temperature in relativne zračne vlage (Gaugler, 2002).

Ogorčice iz družin Steinernematidae in Heterorhabditidae lahko preživijo tudi tedaj če so izpostavljene nekaterim fitofarmacevtskim sredstvom. Vendar pa so infektivne ličinke občutljive na več nematicidov, ki se uporabljajo v kmetijstvu. Nekatera fitofarmacevtska sredstva je priporočljivo uporabiti šele od enega do dveh tednov po aplikaciji ogorčic (Smith, 1999).

2.5 PROIZVODNJA ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Entomopatogene ogorčice lahko gojimo »*in vivo*« in »*in vitro*« (Ehlers, 2001). »*In vivo*« gojenje ogorčic poteka s pomočjo žuželk, njihovih gostiteljev. Gojenje na tak način je zelo zanesljivo in poceni. Navadno so gostitelji ličinke voščene vešče (*Galleria mellonella*). Voščena vešča je namreč znana kot vrsta, ki je zelo ustrezna za gojenje različnih vrst ogorčic. Pridelek na eno ličinko voščene vešče je od $3{,}5 \times 10^5$ do 4×10^5 infektivnih ličink ogorčic. Za tretiranje enega hektara z $2{,}5 \times 10^5$ infektivnimi ličinkami tako potrebujemo 25 ličink voščene vešče. »Pridelek« ogorčic na način »*in vivo*« je lahko manjši predvsem zaradi okužb z virusi (Grewal in sod., 1998).

»*In vitro*« gojenje ogorčic poteka na trdnem ali tekočem gojišču. Trdno gojišče je že leta 1931 odkril eden od pionirjev uporabe entomopatogenih ogorčic v biotičnem zatiranju škodljivih žuželk, Rudolf Glaser. Takrat še niso poznali simbiontskih bakterij. 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. S to metodo so ogorčice gojili na gojišču, sestavljenem iz zdrobljene poliuretanske gobe, prepojene z emulzijo goveje maščobe in prašičjih ledvic. Na en gram trdega gojišča so pridelali od 6×10^5 do 10×10^5 infektivnih ličink (Grewal in sod., 1998).

Leta 1990 je Friedman poročal o tekoči fermentacijski metodi za proizvajanje velikega števila infektivnih ličink. Za proizvodnjo entomopatogenih ogorčic vrste *Steinernema carpocapsae* je predlagal uporabo tekočega gojišča, sestavljenega iz sojine moke, kvasa, koruznega olja in rumenjaka. Pridelek je bil $1{,}1 \times 10^5$ infektivnih ličink na ml tekočega

gojišča. Danes večinoma proizvajajo entomopatogene ogorčice na tekočem gojišču, saj je takšna proizvodnja zelo poceni, pridelek pa je visok. Sestava tekočega gojišča je varovana skrivnost vsakega proizvajalca. Gojenje entomopatogenih ogorčic iz rodu *Heterorhabditis* je v tekočem gojišču nestabilno (Shapiro in Gaugler, 2002).

2.6 SIMBIONTSKE BAKTERIJE ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

2.6.1 Sistematika

Po uveljavljeni sistematiki bakterije iz rodov *Xenorhabdus* in *Photorhabdus* uvrščamo v družino Enterobacteriaceae.

Ko govorimo o entomopatogenih ogorčicah, ne moremo brez omembe bakterij, ki živijo z njimi v simbiontsko-mutualističnem odnosu. Z družinama ogorčic Steinernematidae in Heterorhabditidae sta povezana rodova bakterij *Photorhabdus* in *Xenorhabdus*. Bakterije se nahajajo v črevesju infektivnih ličink (Burnell in Stock, 2000).

2.6.2 Entomopatogene ogorčice in njihove simbiontske bakterije

Bakterije, ki so v simbiontskem odnosu z entomopatogenimi ogorčicami iz rodu *Steinernema*, pripadajo rodu *Xenorhabdus*, medtem ko bakterije, ki so v simbiontskem odnosu z entomopatogenimi ogorčicami iz rodu *Heterorhabditis*, pripadajo rodu *Photorhabdus*. Vsaka vrsta entomopatogenih ogorčic je v simbiontsko-mutualističnem odnosu samo z eno vrsto bakterije (preglednica 1). Ena vrsta bakterije pa je lahko v simbiontsko-mutualističnem odnosu z več vrstami entomopatogenih ogorčic. Odnos med entomopatogenimi ogorčicami iz rodov *Heterorhabditis* in *Steinernema* ter bakterijami iz rodov *Photorhabdus* in *Xenorhabdus* ni obvezen, saj lahko tako ogorčice kot tudi bakterije v laboratorijskih razmerah gojimo ločeno. V nasprotju z drugimi ogorčicami (Rhabditida), ki se lahko hranijo z različnimi bakterijami, so entomopatogene ogorčice razvile zelo tesen simbiontsko-mutualistični odnos s točno določenimi vrstami bakterij. Simbiontska bakterija preoblikuje nekatere proteine gostitelja v substrat, na katerem se ogorčice lahko razvijajo in razmnožujejo, ogorčica pa bakteriji omogoči vstop v gostitelja, kjer se tudi sama lahko hrani in razmnožuje (Burnell in Stock, 2000).

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

Vrsta entomopatogenih ogorčic	Vrsta simbiotskih bakterij
Steinernema carpocapsae	*Xenorhabdus nematophilus*
Steinernema feltiae	*Xenorhabdus bovienii*
Steinernema glaseri	*Xenorhabdus bovienii*
Steinernema kuchidae	*Xenorhabdus japonicus*
Steinernema riobrave	*Xenorhabdus* sp.
Stenernema scapterisci	*Xenorhabdus* sp.

2.7 UČINKOVITOST ENTOMOPATOGENIH OGORČIC

Učinkovitost entomopatogenih ogorčic v biotičnem varstvu rastlin pred škodljivimi žuželkami je bila preučevana na mnogih vrstah žuželk. Ugotovljeno je bilo, da je lahko njihova učinkovitost spremenljiva – lahko so brez vpliva na žuželke ali pa jih odlično parazitirajo. Na omenjene razlike lahko vplivajo mnogi dejavniki. Najpogosteje je vzrok razlik v slabem poznavanju bionomije entomopatogenih 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 bakterijskimi okužbami in temperaturne zahteve ogorčic ter njihovih gostiteljev (Gaugler, 2002).

Dejstvo, ki je ključnega pomena v poznavanju načina parazitiranja entomopatogenih ogorčic je, da lahko parazitirajo le enega gostitelja. V primeru, da parazitirajo neustreznega gostitelja, poti nazaj ni. Ogorčica mora zato prepoznati gostitelja. Pomembno je ali ogorčica išče gostitelja aktivno ali pasivno. Entomopatogena 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 s pomočjo CO_2, ki ga gostitelj oddaja. Drugi način iskanja gostitelja je značilen za ogorčici *Steinernema scapterisci* in *S. carpocapsae*, ki žrtve čakata na mestu. Gostitelja ne zaznata, tudi če je ta od njiju oddaljen le nekaj milimetrov. Za vrsti *S. riobravis* in *S. feltiae* sta značilna oba načina iskanja gostitelja. Ko ogorčica najde in prepozna svojo žrtev, mora premagati obrambne mehanizme gostitelja, preden vstopi vanj (Gaugler, 1999).

Bakterijska okužba gostitelja ni zagotovljena s parazitiranjem gostitelja. Uspeh okužbe je odvisen predvsem od odpornosti gostitelja na bakterije (Gaugler, 1999). Za voščeno veščo je bilo ugotovljeno, da se njena odpornost na bakterijsko okužbo po vstopu entomopatogene ogorčice hitro zmanjša (Brivio in sod., 2002).

Uporaba entomopatogenih ogorčic je najuspešnejša v okolju, ki jim omogoča varovanje pred ekstremnimi okoljskimi razmerami. Učinkovitost ogorčic za parazitiranje gostiteljev je odvisna od sposobnosti preživetja infektivnih ličink, ki pa je zelo omejeno. Že po nekaj urah po nanosu na talno površje jih pogine do 50 %, predvsem zaradi ultravijoličnega sevanja in pomanjkanja vlage. V naslednjih dneh jih vsak dan pogine 5-10 %, tako da jih po enem do šestih tednih preživi le še 1 %. Zaradi nizke stopnje sposobnosti preživetja se entomopatogene ogorčice uporabljajo za zatiranje škodljivih organizmov tedaj, ko so ti v tistem razvojnem stadiju, ki je najbolj dovzeten za ogorčice (Smith, 1999).

Nekatere ogorčice imajo zelo omejen obseg gostiteljev. Vrsta *S. scapterisci* je prilagojena tako le na nekatere gostitelje iz družine Gryllotalpidae (red Orthoptera), druge gostitelje pa skoraj ne napada. Za vrsto *S. kushidai* je značilno, da lahko parazitira le ličinke iz družine Scarabaeidae (Coleoptera) (Kaya, 2000) in se ne more razmnoževati v drugih gostiteljih (Koppenhöfer in Kaya, 2002).

Pri ugotavljanju učinkovitosti entomopatogenih ogorčic za zatiranje rilčkarjev (Curculionidae) je bilo ugotovljeno, da so učinkovite pri višji temperaturi in visoki

koncentraciji suspenzije. Ogorčice so bile v tleh učinkovite do pet tednov, vendar se njihova učinkovitost postopoma zmanjševala (Kaya, 2000).

Najbolj dovzetne za napad entomopatogenih ogorčic so žuželke, ki vsaj del svojega razvojnega kroga preživijo v tleh in tiste žuželke, ki živijo v rastlinjakih. 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 (Lewis, 2000).

Znano je, 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 navadno občutljivejše na sušo. Učinkovitost entomopatogenih ogorčic za parazitiranje žuželk v tleh se slabša z večanjem deleža gline (Kamionek in sod., 1997).

2.8. POLJSKI MAJSKI HROŠČ (*Melolontha melolontha* [L.])

2.8.1 Bionomija poljskega majskega hrošča

Kot že ime pove, je poljski majski hrošč predstavnik reda hroščev (Coleoptera), natančneje pa spada med pahljačnike (Scarabaeidae), v družino skarabejev (Scarabaeidae). V srednji Evropi se pojavljajo tri zelo podobne vrste majskih hroščev: *Melolontha melolontha*, *Melolontha hippocastani* in *Melolontha pectoralis* (Stanjek, 2007).

Značilna predstavnika pahljačnikov v Sloveniji sta še vrtni hrošč (*Phyllopertha horticola*), in junijski hrošč (*Amphimallon solstitialis*) (Poženel in sod., 2005).

2.8.2 Opis vrste

Odrasli hrošči so precej veliki (od 25 do 30 mm), s temno glavo, rdečerjavimi krili s štirimi vzdolžnimi progami. Po trebuhu so imagi črni, imajo podaljšan in sploščen zadek (Celar, 2008). Na glavi so pahljačaste, kijaste tipalke, ki so močneje razvite in daljše pri samcih. Tipalke so tudi znak za ločevanje spolov pri poljskem majskem hrošču, saj je pri samcih kij sestavljen iz sedmih večjih lističev, pri samicah pa iz šestih manjših lističev (Valič in Milevoj, 2004).

Ličinke hroščev iz družine skarabejev, ki se prehranjujejo s podzemnimi deli rastlin, imenujemo ogrci (Laznik in Trdan, 2007). Ogrci poljskega majskega hrošča lahko dosežejo do 65 mm (Valič in Milevoj, 2004). Jeseni v prvem letu merijo 10-20 mm, naslednje leto jeseni že 30-35 mm, tretje leto spomladi pa dosežejo končno velikost 40-46 mm (HYPPZ, 1997; Celar, 2008). Mehko telo je bele do umazano bele barve s tremi pari oprsnih nog, z značilno upognjenostjo in z odebelitvijo na koncu telesa. Glava je čvrsta in rjava (Valič in Milevoj, 2004) z močnimi čeljustmi (Celar, 2008).

Slika 2: Odrasel osebek poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) (foto: A. Poženel)

2.8.3 Življenski krog

Odrasli osebki se pojavijo nekje v drugi polovici aprila ali v začetku maja in živijo le 5-7 tednov (Dictionary …, 2006). Ko se temperatura zraka dvigne nad 20 °C, se začne let odraslih osebkov na drevje, ta poteka zvečer in traja 2-3 tedne. Odrasli se namreč hranijo z nadzemskimi deli rastlin, predvsem z listi sadnega drevja, gozdnega drevja (robovi gozdov) in vinske trte. Najpogosteje objedajo liste hrasta (*Quercus* spp.), bukve (*Fagus* spp.), javorja (*Acer* spp.), gabra (*Carpinus* spp.), leske (*Corylus* spp.), divjega kostanja (*Aesculus* spp.), pa tudi orehov (*Juglans* spp.) in sliv (*Prunus* spp.) (Valič in Milevoj, 2004).

Po 14 dneh hranjenja samice spolno dozorijo in nastopi čas parjenja (Celar, 2008). Oplojene samice začno iskati njive in travnike za odlaganje jajčec. Ustrezajo jim rahla, globoka in humusna ali lahka in peščena tla. Glede na gostoto rastja preferirajo posevke z redkim sklopom, ne marajo pa golih ali gosto poraslih tal. V iskanju ugodnega mesta odletijo tudi do 2 km daleč, saj sta v času letanja in odlaganja jajčec pomembna dejavnika temperatura in vlaga. Za letanje hroščev je namreč ugodna temperatura do 12 °C in relativna zračna vlaga nad 70 %. Visoka vlaga je potrebna predvsem po odlaganju, da se jajčeca in ogrci ne izsušijo. Zato se pri odlaganju jajčec samice zarijejo 10-25 cm globoko v tla in odložijo po 10-30 jajčec v leglo (Valič in Milevoj, 2004).

Med odlaganjem jajčec večina samic pogine, tretjina pa se vrne na dopolnilno hranjenje na drevesa in nato ponovno odlagajo jajčeca (Celar, 2008). Celoten proces odlaganja jajčec nekatere samice ponovijo še tretjič (HYPPZ, 1997), tako da ena samica skupno odloži 50-80 jajčec (Valič in Milevoj, 2004). Po 4-6 tednih se zaključi embrionalni razvoj v jajčecu in tako se konec junija ali v začetku julija izleže ogrc, ki se takoj začne hraniti s koreninami zelnatih rastlin. V iskanju hrane se ogrci premaknejo horizontalno do 30 cm na dan. Polifagne ličinke objedajo korenine trav, žit, pese, krompirja, sadnih in gozdnih rastlin. Pred prvo levitvijo je objedanje korenin manj intenzivno in posledično je tudi škoda na travnikih manjša in dokaj neopazna. Konec avgusta ali v začetku septembra sledi prva levitev in s tem se zaključi 1. ali L1 stopnja. Začne se stopnja L2, v kateri ogrci preživijo zimo. Ob jesenskem padcu temperature, ki se navadno zgodi sredi oktobra, se ogrci zakopljejo v globlje plasti, kjer prezimijo. Tako se zaključi aktivnost ogrcev za prvo oz. »hroščevo« leto (Celar, 2008).

V drugem letu postanejo ogrci aktivni sredi aprila, ko se temperatura tal na globini 30 cm dvigne na 7 °C. Ogrci se začnejo dvigati proti površju in intenzivno prehranjevati. V stopnji L2 zelo hitro rastejo in zato potrebujejo veliko hrane. Posledično povzročijo zelo veliko škode. Junija poteka druga levitev in ličinke 3. ali L3 stopnje so večje in bolj škodljive. Hranjenje poteka do oktobra, ko nastopi čas prezimovanja (Valič in Milevoj, 2004; Celar, 2008).

Tretje leto postanejo ogrci sredi aprila spet aktivni in se dvignejo k površju. Hranjenje poteka do konca junija, začetka julija, ko se ogrci zabubijo 30-40 cm globoko v tleh. V drugi polovici avgusta ali septembra se izležejo hrošči, ki pa ostanejo v tleh do naslednje pomladi (Valič in Milevoj, 2004; Celar, 2008).

Tako razvojni krog poljskega majskega hrošča traja 36 mesecev, medtem ko »hroščevo« leto nastopi vsako 4. leto (Valič in Milevoj, 2004; Celar, 2008). Vendar pa ima poljski majski hrošč v Sloveniji različna zaporedja pojavljanja. Iz zaporedij »hroščevih« let v preteklosti je Janežič (1958, cit. po Poženel, 2005a) ugotovil, da se poljski majski hrošč v Sloveniji pojavlja v dveh časovnih obdobjih, III1 in III0, odvisno od lege kraja. Območje III1 ima »hroščeva« leta v letih, ko po delitvi letnice s 3 dobimo ostanek 1 (npr. 2002, 2005). Ta oblika se pojavlja v večjem delu države, predvsem na Gorenjskem, Dolenjskem, Notranjskem, na večjem delu Krasa ter na delu Štajerske, vse do Poljčan in Slovenske Bistrice (Valič in Milevoj, 2004; Laznik, 2007).

Ko pa pri delitvi letnice s 3 dobimo ostanek 0 (npr. 1959, …, 1998, 2001, 2004, 2007), uvrstimo lokacijo v območje III0. Območje III0 tako pri nas obsega SV del Slovenije (vzhodno od Poljčan in Slovenske Bistrice, v porečju Drave [Dravsko in Ptujsko polje, Dravska in Mežiška dolina, Slovenske Gorice] in v Prekmurju, ozek pas zahodno od Ljubljane med Logatcem in Železniki okrog Dobrove, vzhodno od Vrhnike, Logatca, mimo Kalc do porečja Idrijce, Soče in Bače (Valič in Milevoj, 2004; Poženel, 2005a; Laznik, 2007).

2.9. TRAVINJE

2.9.1 Pojem in pomen

Travinje je agronomski izraz za rastlinstvo, ki ga prevladujoče sestavljajo trave, obenem pa najdemo v ruši še metuljnice in zeli. Značilno vsem trem skupinam rastlin je, da so zelnate in med drugim namenjene prehrani rastlinojedih živali (Vidrih M, 2007).

Travinje je torej skupen izraz za kmetijska zemljišča porasla s travo, metuljnicami in zelmi h katerim prištevamo vse naše travnike, loge, košenice, laze, rovte, ravninske, dolinske, višinske in planinske pašnike, zelenice, muljave in murve, mlake in čreti, sploh vse, kar človek izkorišča za oskrbo živine s krmo - razen njivskih posevkov (Korošec, 1998).

Absolutno travinje je pri nas v skladu z lastnostmi rastišča in rabo zelo raznoliko. Travinje ni samo naravna, temveč tudi ekonomska vrednota. Zato ga je treba čim več ohraniti (zlasti pred zaraščanjem), čeprav v Sloveniji močno prevladuje med kmetijskimi rastlinami. Z različnimi stopnjami intenzivnosti rabe (pašno-kosna, večkosna) in ustreznim gnojenjem lahko travno rušo usmerjamo v želeno smer - tako po flori kot po kakovosti pridelka (Korošec in sod., 1994).

2.9.2 Nastanek in vrste travinja

Po izvoru razlikujemo dve vrsti travinja, in sicer antropogeno in klimatogeno travinje (Korošec, 1997)

Travinje na ozemlju Slovenije je pretežno antropogenega nastanka, saj podnebje in kakovost zemljišč omogočata uspevanje lesnatih vrst rastlin (Vidrih M., 2007). Na nastanek travinja je vplival človek, ki je krčil, sekal in požigal gozd. Travinje se lahko ponovno hitro spremeni v gozd, če ga vsako leto ne kosimo redno in se na njem ne pasejo domače živali (Korošec, 1997).

Klimatogeni travniki so naravno dani. Nastali so tam, kjer se ni mogel več razviti gozd zaradi zelo nizkih letnih temperatur (planinsko travinje nad gozdno mejo) ali zaradi visokih poletnih temperatur, pogosto povezanih z dolgotrajno sušo (savane) in nizkih zimskih temperatur (stepe in prerije).

Po nastanku travinje delimo na naravno in sejano. Naravno travinje je nastalo z zaledinjenjem-obraščanjem rastišč s floro samoniklih rastlin. Rastlinska odeja naravnega travinja ali travna ruša je sestavljena iz številnih različnih vrst rastlin, kar je odvisno od naravnih rastnih razmer in vplivov različnih načinov izrabe. Sejano ali umetno travinje je nastalo s setvijo semena izbranega sortimenta gojenih vrst trav in detelj oziroma iz njih sestavljenih različnih travno-deteljnih mešanic na obdelanem oziroma kako drugače za setev pripravljenem zemljišču (Korošec, 1997).

Glede na okoljske rastne razmere, kjer se travinje razprostira, pa to delimo na absolutno in relativno. Absolutno travinje se razprostira na zemljiščih, kjer dane rastne razmere onemogočajo drugačno rabo zemljišč. Relativno ali fakultativno travinje pa je tisto, kjer je

mogoče zatravljeno zemljišče brez večjih težav spremeniti v njive ali pa ga pripraviti za uspevanje drugih rastlinskih vrst (Korošec, 1997).

Po načinu in intenzivnosti rabe delimo travinje na pašnike, travnike in kombinirano pašno-košno travinje.

2.9.2.1 Pašniki

Pašniki so trajno s travno rušo porasla kmetijska zemljišča, ki jih izrabljamo s pašo in redno oskrbujemo. Zgodovinsko gledano je to najstarejša oblika rabe travinja (Korošec, 1998). Paša je povsem naraven način rabe travinja, v katerem rastlinojede živali poiščejo in odvzamejo (požanjejo) iz ruše tisto zelinje, ki je zraslo na travinju ali zemljiščih kot so njive. Iz zelinja dobivajo energijo, rudnine in vitamine. Žival uporabi pri pašni reji svoj pogonski žetveni sistem in izkoristi prebavljeno energijo ter hranila na mestu (Vidrih M, 2007).

Živali na paši vplivajo na travno rastje neposredno in posredno. Neposredno vplivajo z obtrgovanjem in gaženjem, posredno pa s spremembo mikroklime rastišča oziroma spremembo kemičnih in fizikalnih lastnosti tal tam, kjer pustijo blato ali seč (Korošec in sod., 1994).

Najbolj produktivni so ograjeni čredinski pašniki, ki jih redno gnojimo in dognojujemo. Na njih se živina pase po določenem sistemu vedno na mladi, 10- 15 cm visoki travni ruši in tako prepase površino tudi 5- do 6- krat na leto. Največja prednost pašne rabe travinja pa je (ob deteljiščih) najnižja proizvodna cena za 1 kg prebavljenih beljakovin oziroma najnižja cena za 1 kg škrobnega ekvivalenta. Tak način rabe travinja pa ima prednost tudi s stališča energijske bilance pri predelovanju krme. Poleg omenjenih prednosti pašna raba zelo ugodno deluje tudi na botanično sestavo, obraščanje in priraščanje travne ruše. S pašo pospešujemo rast nizkih vrst trav in plazeče detelje, kar zgosti travno rušo (Korošec, 1997).

2.9.2.2 Travniki

Travniki so bistveno mlajši kot pašniki, v primerjavi z njimi so to kmetijska zemljišča, ki jih prav tako porašča travinje. To redno oskrbujemo, izrabimo pa s košnjo (Korošec, 1997). Del pokošene krme kot svežo pokrmimo živali, večji del pa je namenjen sušenju za mrvo ali pa za siliranje (Kramberger, 1995).

Med travniki in pašniki je velika razlika v hitrosti obraščanja travne ruše. S košnjo namreč naenkrat odstranimo vso listno oziroma asimilacijsko površino, posledica tega je določena prekinitev oziroma zastoj rasti. Košna raba tudi drugače deluje na sestavo travne ruše. Košnja preprečuje predvsem razrast grmičevja in drevja, pospešuje rast večletnih rastlinskih vrst, ki nakopičijo v koreninah dosti rezervnih snovi za regeneracijo, zato se lahko obdržijo tudi brez osemenitve. Stalna košnja pospešuje rast visokih vrst trav in zeli, ovira pa rast detelje in nizkih vrst trav. Pri izključno košni rabi travnikov je tudi v ugodnih rastnih razmerah manjša proizvodnost čistih hranil kot pri intenzivni pašni rabi ali pri pridelovanju krme na njivah (Korošec, 1997).

2.9.2.3 Kombinirani pašno-košni travniki

Travniki s kombinirano rabo so zelo intenzivna pašno-košna zemljišča, ki jih ob rednem vsakoletnem izdatnem gnojenju v času rasti živina popase 3- do 4-krat in jo še 1- do 2-krat pokosijo za silažo ali mrvo. To je doslej najintenzivnejši način rabe travinja, pri katerem dosežemo ne le največji pridelek škrobnih ekvivalentov čistih hranil na površinsko enoto, ampak s tem hkrati travno rušo zavarujemo tudi pred negativnimi posledicami enostranske košne rabe oziroma zelo intenzivne trajne pašne rabe (Korošec, 1998). Paša in košnja sta enakovredna načina rabe ruše, zato mora biti zemljišče dovolj ravno, da je ves pašnik mogoče pokositi in rušo tudi drugače oskrbovati s stroji. Torej je ta sistem paše primeren za ravninska območja. Pri tem sistemu paše je zelo pomemben ustrezen začetek paše spomladi, da ustvarimo na pašniku stopničasto rušo in pozneje pravočasno ugotovimo (določimo), katere ograde bo treba pokositi, da bo ob koncu pomladi in poleti na razpolago dovolj paše. S kombinacijo paše in košnje uspešno popravljamo napake prvega ali drugega načina rabe, ter tako stalno vzdržujemo rušo v dobri pridelovalni zmogljivosti in zaželeni botanični sestavi (Vidrih T, 2005). Če rušo izkoriščamo z občasno pašo in košnjo, lahko na hektarju našega povprečnega travinja redimo tudi 2 GVŽ. Pri tem živalim s krmo iz tega travinja pokrijemo potrebe po vzdrževanju in proizvodnji. Na posestvih, kjer uporabljajo velike količine predvsem dušikovih gnojil in kjer čredinke vsakih nekaj let obnavljajo s setvijo specialnih mešanic, je prireja na hektarju površine še precej višja (Kramberger, 1995).

2.9.3 Tipi travinja

Glede na lastnosti rastišča, floristično sestavo fitocenoze in nadmorske višine v omejenih fitogeografskih območjih Slovenije, ločimo štiri tipe naravnega-antropogenega travinja (Korošec in sod., 1994) in sicer:

- močvirsko travinje, ki se razprostira v glavnem v nižjih legah, v rečnih in drugih dolinah in močvirjih, redkeje v hribovitih in planinskih območjih na mestih, kjer je zemljišče iz različnih vzrokov prevlaženo-zabarjeno. Osnovni rastlinski pokrov močvirnega travinja predstavljajo hidrofilne rastline slabe hranilne vrednosti. Živina jih nerada jé oziroma le v sili in se v glavnem uporablja za steljo.

- nižinsko-dolinsko travinje se razprostira po nižinskih legah, predvsem po obrečnih in drugih dolinah ter manj nagnjenih terenih do nadmorske višine cca. 300 m. Nekateri od teh imajo ugodno floristično sestavo s precejšnjim deležem dobrih trav in metuljnic in so v povprečju manj zapleveljeni. Koristijo se lahko za košnjo in pašo. Površine le-teh se iz leta v leto zmanjšujejo zaradi preoravanja relativnega travinja.

- hribovsko-višinsko travinje zavzema površine na nadmorski višini 300-1000 m. V primerjavi z nižinskim, se razprostira v slabših ekoloških razmerah. Hribovsko-višinsko travinje je v teh območjih osnovni, marsikje pa tudi edini vir krmne baze za govejo živino. Poleg pridelave krme ima to travinje tudi velik pomen za zaščito tal pred erozijo in za ohranjanje krajine.

- planinsko-alpsko travinje se razprostira na nadmorski višini od 1000 do gozdne meje

oziroma nad gozdno mejo. To travinje ima v ugodnih legah dobre rastne razmere in boljšo floristično sestavo. Poleg paše (planinski pašniki) del teh zemljišč tudi pokosijo za mrvo. V območjih nad 1500 m nadmorske višine se v glavnem rabi le za pašo (Korošec in sod., 1994).

2.9.4 Razširjenost travinja

Površina vsega travinja v Evropski uniji, ki vključuje trajno travinje, sejano travinje ter slabe pašnike in vresišča Velike Britanije s Severno Irsko, znaša 64 milijonov ha. To je četrtino več kot znaša površina vsega trajnega travinja in 3 % več pri skupni površini, tako, da znaša delež vsega travinja 16 %. Na splošno v Evropski uniji prevladuje trajno travinje, kjer njegov delež pri skupnem travinju znaša več kot 87 % (Čop, 2006).

Slovenija je dežela, ki leži na številnih stičiščih. To se zrcali ne samo v njeni zemljepisni legi, podnebju, reliefu, geološko-petrografski zgradbi, temveč tudi v njeni flori. Bogastvo in raznolikost flore je zato povsem samoumevno. V Sloveniji nimamo najboljših razmer za povečevanje zemljišč za pridelavo hrane, saj je 2/3 kmetijskih zemljišč opredeljenih kot travnati svet in še ta je večji del v območjih z omejenimi možnostmi za intenziviranje kmetijske pridelave (Korošec in sod., 1994).

Velik delež absolutnega travinja (travnikov in pašnikov) je ena od najbolj značilnih posledic specifičnih naravnih razmer za kmetijsko pridelavo v Sloveniji. Na razširjenost te vrste rabe kmetijskih zemljišč pri nas vplivajo predvsem naravne razmere. Poleg naravnih razmer pa na prevlado travinja pomembno vplivajo tudi strukturne značilnosti slovenskega kmetijstva. Zaradi neugodne velikostne strukture in razdrobljenosti posesti so slovenske kmetije večinoma usmerjene v delovno in dohodkovno intenzivnejšo živinorejo, kar se kaže tudi v rabi kmetijskih zemljišč (Cunder, 1998).

V strukturi vseh zemljišč zasedajo kmetijska zemljišča 25 % v Sloveniji. Delež trajnega travinja znotraj kmetijskih zemljišč je 60 % in ta se ohranja že zadnjih 50 let. Razlika je le v tem, da se je v tem času veliko njiv spremenilo v pašnike (Vidrih M., 2007) .

Na vsak hektar njiv pride okrog 2,3 ha trajnega travinja. Tolikšno razširjenost travnih površin pri nas, ki so pretežno absolutne travne površine, pogojujejo zlasti kakovost tal, razgiban relief oziroma konfiguracija terena in večje nadmorske višine.

Travinje seveda ni enakomerno razporejeno v slovenskem kmetijskem prostoru, sorazmerno malo ga je na severovzhodu naše dežele, le 20 do največ 40 % kmetijskih zemljišč, med tem ko zavzema v osrednjem in zahodnem delu, posebno v hribovitih predelih, kar 80 do 90 % ali celo več (Korošec 1998).

3 MATERIALI IN METODE

Poskus je potekal poleti 2008 v Laboratoriju za entomologijo, Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

3.1 POLJSKI MAJSKI HROŠČ IN ENTOMOPATOGENE OGORČICE

V poskusu smo preučevali učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju ogrcev tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*). Ogrce smo nabrali na območju Črnega vrha nad Idrijo (slika 3).

Slika 3: Nabiranje ogrcev poljskega majskega hrošča na travniku na območju Črnega vrha nad Idrijo (foto: Ž. Laznik)

Preučevali smo učinkovitost domorodne rase *Steinernema feltiae,* C76, ki je bila najdena v tleh v bližini Logatca (Laznik in sod., 2008a). Rasa *S. feltiae* C76 je bila namnožena v ličinkah voščene vešče (*Galleria mellonella*). Uporabili smo samo infektivne ličinke, mlajše od dveh tednov. Poskus je imel pet ponovitev. Pripravek Entonem, katerega aktivna snov je entomopatogena ogorčica *Steinernema feltiae* (Koppert B. V. Berkel en Rodenrijs, Nizozemska), je dobavilo podjetje Zeleni hit d.o.o. iz Ljubljane.

3.2 LABORATORIJSKI POSKUS

Učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča smo preučevali tako, da smo jih izpostavili koncentracijam 0 - kontrola, 250.000 infektivnih ličink (IL)/m², 500.000 IL/m² ali 1.000.000 IL/m². Število infektivnih ličink v predhodno pripravljeni neznani koncentraciji suspenzije ogorčic smo določili s štetjem le-teh v kapljicah (5 µl x 5) in z razredčenjem (dodana raztopina M9) ali pa s koncentriranjem (zmanjšanje do ustreznega volumna s pomočjo centrifugiranja). Na ta način smo dobili izbrane koncentracije suspenzij ogorčic (0, 750, 1.500 in 3.000 IL/ml).

Predhodno (dva tedna pred vstavljanjem ogrcev) smo v poskusno posodo (10 x 15 x 10 cm) dali 300 g tal iz Laboratorijskega polja Biotehniške fakultete v Ljubljani in 50 zrn ozimne pšenice. S tem smo hoteli zagotoviti dovolj korenin, ki bodo ogrcem med poskusom služile kot dodatna hrana. Potem smo v vsako plastično posodo dodali 5 ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča. Odmerili smo 5 ml izbrane suspenzije ogorčic in z njo prelili tla. Nato smo dodatno vlažili prst z vodo (uporaba pršilnika). Vsak postopek smo petkrat ponovili. Poskusne posode smo dali v gojitveno komoro s prostornino 0,868 m³. Učinkovitost preučevanih ras ogorčice smo testirali pri dveh različnih temperaturah (20 in 25 °C) in pri relativni zračni vlažnosti 80 %. Število mrtvih ogrcev smo ugotavljali 10. dan po nanosu ogorčic. Prst smo vlažili vsak dan in ogrcem dodajali hrano (korenje). Mrtve ogrce smo secirali, da bi v njih ugotovili zastopanost ogorčic. Na ta način smo hoteli dokazati, da so žuželke poginile zaradi aktivnosti entomopatogenih ogorčic.

Slika 4: Ogrci poljskega majskega hrošča v poskusni posodi (foto: Ž. Laznik).

Slika 5: Priprava poskusnih posod, v katere smo posejali ozimno pšenico (foto: Ž. Laznik)

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Razlike med smrtnostjo (%) ogrcev poljskega majskega hrošča v 16 različnih obravnavanjih (dve rasi entomopatogene ogorčice *S. feltiae* – vsaka pri štirih različnih koncentracijah in dveh različnih temperaturah) smo določili s primerjavo povprečij. Pred tovrstno analizo smo smrtnost ogrcev korigirali z uporabo Abbottove formule (Abbott, 1925). Podatki so predstavljeni kot povprečna smrtnost ogrcev v različnih obravnavanjih, graf pa je bil izdelan v programu MS Excel 2003.

Abbottova formula:

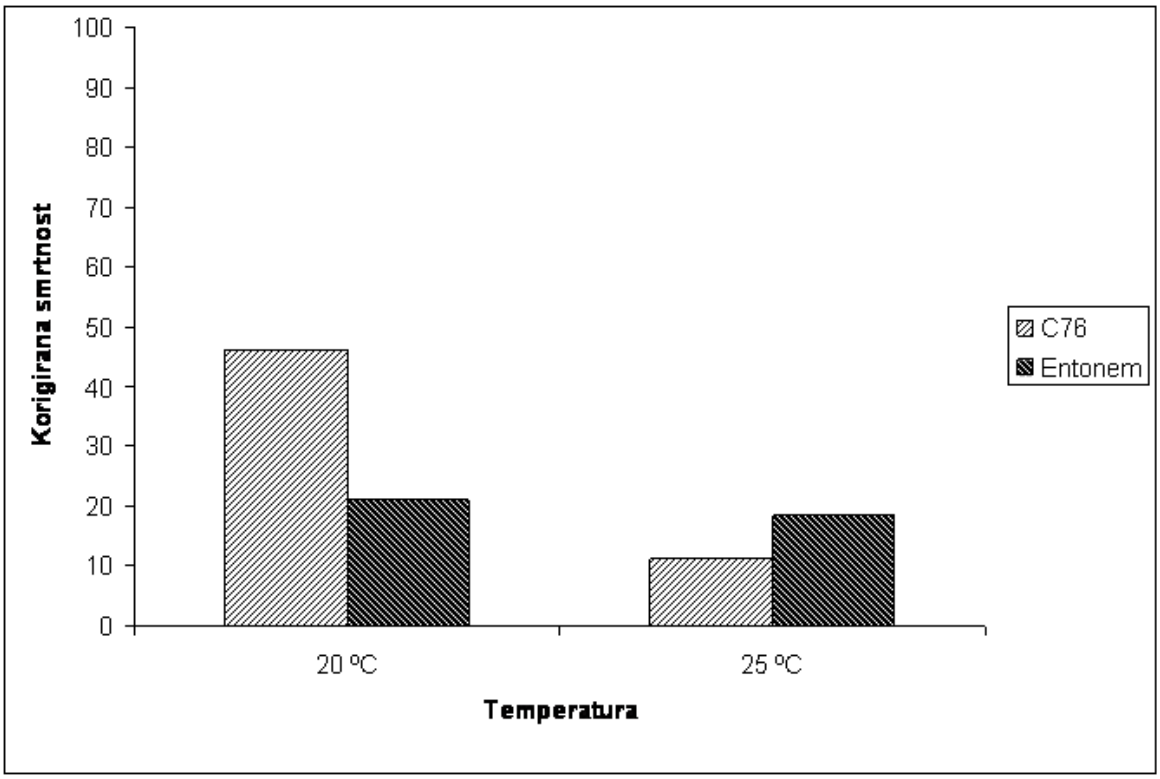
Korigirana smrtnost % = 100* (1- število osebkov po tretiranju/ število osebkov po tretiranju v kontroli)

4 REZULTATI

4.1 GENERALNA ANALIZA SMRTNOSTI OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA

Učinkovitost obeh preučevanih ras je bila manjša pri 25 °C kot pri 20 °C (Slika 6). Pri temperaturi 20 °C je bila učinkovitost domorodne rase C76 več kot dvakrat večja (47 %) kot pri pripravku Entonem (21 %).

Komercialni pripravek Entonem je pri obeh temperaturah pokazal približno enako delovanje na ogrce (20 °C = 21 %; 25 °C = 18 %).



Slika 6: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča (*Mellolontha mellolontha*) tretje larvalne stopnje v odvisnosti od temperature in neodvisno od koncentracije suspenzije pri tretiranju z dvema rasama entomopatogene ogorčice *Steinernema feltiae*. Prikazani podatki so korigirani za kontrolno smrtnost.

4.2 ANALIZA SMRTNOSTI OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA DESETI DAN PO APLIKACJI

Pri 20 °C je deseti dan po aplikaciji rasa C76 v srednjih in visokih koncentracijah suspenzije ogorčic izkazala večjo učinkovitost od pripravka Entonem (preglednica 2). Pri najmanjši koncentraciji suspenzije ogorčic (750 IL/ml) pri zatiranju ogrcev nismo ugotovili

večje razlike med obema rasama. Njihova smrtnost je bila pri tretiranju z raso C76 34,7 %, smrtnost ogrcev, tretiranih s komercialnim pripravkom Entonem, pa je znašala 27,8 %.
Pri koncentraciji suspenzije ogorčic 1500 IL/ml je bila smrtnost ogrcev, izpostavljenih rasi C76, 47,8 %, znatno manjša smrtnost (34,7 %) pa je bila ugotovljena, ko so bili ogrci tretirani s komercialnim pripravkom. Pripravek Entonem je bil najmanj učinkovit (9,5 %) pri največji koncentraciji suspenzije ogorčic (3000 IL/ml), medtem ko je bila rasa C76 pri tej koncentraciji najbolj učinkovita (52,1 %).

Največji vpliv na aktivnost obeh preučevanih ras je imela temperatura, saj je bilo delovanje obeh preučevanih ras znatno slabše pri 25 °C. Komercialni pripravek je bil najbolj učinkovit pri največji in najmanjši koncentraciji suspenzije ogorčic (22,8 %; 23,7 %), medtem ko je bila aktivnost domorodne rase C76 pri teh koncentracijah in temperaturi znatno slabša (od 0,0 % pri 750 IL/ml do 15,2% pri 3000 IL/ml).

Preglednica 2: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) tretje larvalne stopnje, izpostavljenih trem različnim koncentracijam rase C76 pri 20°C deseti dan po tretiranju. Podatki so korigirani na kontrolno smrtnost.

Temperatura (°C)	Rasa	Koncentracija (IL/ml)	Ponovitev	Št. živih ogrcev	Korigirana smrtnost (%)	Povprečje (%)	Kontrola št. živih	Kontrola (% smrtnosti)
20	C76	750	1	3	34,7	34,7	5	8
	C76		2	3	34,7		4	
	C76		3	2	56,5		4	
	C76		4	4	13		5	
	C76		5	3	34,7		5	
20	C76	1500	1	2	56,5	47,8		
	C76		2	2	56,5			
	C76		3	2	56,5			
	C76		4	4	13			
	C76		5	2	56,5			
20	C76	3000	1	3	11,7	52,1		
	C76		2	4	0			
	C76		3	2	41,1			
	C76		4	3	11,7			
	C76		5	3	11,7			

Preglednica 3: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) tretje larvalne stopnje, izpostavljenih trem različnim koncentracijam rase C76 pri 25°C deseti dan po tretiranju. Podatki so korigirani na kontrolno smrtnost.

Temperatura (°C)	Rasa	Koncentracija (IL/ml)	Ponovitv	Št. živih ogrcev	Korigirana smrtnost (%)	Povprečje (%)	Kontrola št. živih	Kontrola (% smrtnosti)
25	C76	750	1	4	0	0	3	32
	C76		2	5	0		3	
	C76		3	5	0		2	
	C76		4	5	0		4	
	C76		5	4	0		5	
25	C76	1500	1	3	11,7	21,1		
	C76		2	2	41,1			
	C76		3	3	11,7			
	C76		4	5	0			
	C76		5	2	41,1			
25	C76	3000	1	3	11,7	15,2		
	C76		2	4	0			
	C76		3	2	41,1			
	C76		4	3	11,7			
	C76		5	3	11,7			

Preglednica 4: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) tretje larvalne stopnje, izpostavljenih trem različnim koncentracijam komercialnega pripravka Entonem pri 20 °C deseti dan po tretiranju. Podatki so korigirani na kontrolno smrtnost.

Temperatura (°C)	Rasa	Koncentracija (IL/ml)	Ponovitv	Št. živih ogrcev	Korigirana smrtnost (%)	Povprečje (%)	Kontrola št. živih	Kontrola (% smrtnosti)
20	Entonem	750	1	2	56,5	27,8	5	8
	Entonem		2	4	13		4	
	Entonem		3	4	13		5	
	Entonem		4	5	0		4	
	Entonem		5	2	56,5		5	
20	Entonem	1500	1	4	13	34,7		
	Entonem		2	4	13			
	Entonem		3	3	34,7			
	Entonem		4	3	34,7			
	Entonem		5	1	78,2			
20	Entonem	3000	1	5	0	9,5		
	Entonem		2	5	0			
	Entonem		3	4	13			
	Entonem		4	5	0			
	Entonem		5	3	34,7			

Preglednica 5: Smrtnost ličink poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) tretje larvalne stopnje, izpostavljenih trem različnim koncentracijam komercialnega pripravka Entonem pri 25 °C deseti dan po tretiranju. Podatki so korigirani na kontrolno smrtnost.

Temperatura (°C)	Rasa	Koncentracija (IL/ml)	Ponovitv	Št. živih ogrcev	Korigirana smrtnost (%)	Povprečje (%)	Kontrola št. živih	Kontrola (% smrtnosti)
25	Entonem	750	1	2	52,3	22,8	3	16
	Entonem		2	5	0		4	
	Entonem		3	3	28,5		5	
	Entonem		4	4	4,7		4	
	Entonem		5	3	28,5		5	
25	Entonem	1500	1	5	0	6,6		
	Entonem		2	5	0			
	Entonem		3	3	28,5			
	Entonem		4	4	4,7			
	Entonem		5	5	0			
25	Entonem	3000	1	3	28,5	23,7		
	Entonem		2	2	52,3			
	Entonem		3	4	4,7			
	Entonem		4	4	4,7			
	Entonem		5	3	28,5			

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je domorodna rasa *S. feltiae* C76 v povprečju, ob upoštevanju obeh temperatur, povzročila višjo stopnjo smrtnosti (28 %) ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča kot komercialni pripravek Entonem (21 %). V podobni študiji sta Berner in Schnetter leta 2001 poročala o 3 % smrtnosti ličink, ko je bila uporabljena rasa *S. feltiae*, v njunem poskusu se je kot najbolj učinkovita izkazala ogorčica *S. glaseri* rasa RS92 (60 %). Razlog za slabšo aktivnost vrste *S. feltiae* lahko pripišemo dejstvu, da gre za vrsto, ki ni bila odkrita v naravno okuženih ogrcih kot je to dokumentirano za vrste *S. anomali* (Kozodoi), *S. glaseri* (Steiner), *S. kushidai* (Mamiya), *S. scarabaei* (Stock) in *Heterorhabditis megidis* (Poinar) (Poinar, 1975).

Georgis in Gaugler sta leta 1991 utemeljevala neučinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju hroščev iz družine Scarabaeidae v večini primerov z neustrezno izbiro ras, temperature in življenskim krogom žuželke. Več študij je pokazalo, da so najučinkovitejše rase za zatiranje ogrcev *H. bacteriophora* GPS11 (83-96 %), *H. zealandica* X1 (96-98 %) in *S. scarabei* (100 %) (Koppenhofer in Fuzy, 2003; Grewal in sod., 2004).

V našem poskusu lahko ugotovimo razliko med rasama zaradi dejstva, da je rasa C76 veliko bolje prilagojena ličinkam poljskega majskega hrošča, saj so potrdili njeno zastopanost na območju (Laznik in sod., 2009a), kjer je v preteklosti poljski majski hrošč že povzročil veliko škodo na travnikih (Urek in Milevoj, 1993). Grewal in sod. so leta 2004 prišli do podobnih zaključkov, in sicer da lahko različne rase iste vrste ogorčic drugače delujejo na različne škodljive žuželke. Večkrat je bilo ugotovljeno, da so domorodne rase bolj virulentne kot tujerodne, kljub dejstvu, da Grewal in sod. niso mogli potrditi tega v njihovi raziskavi, ko so preučevali delovanje ogorčic na žuželki *Popillia japonica* Newman in *Cyclocephala borealis* Arrow.

Razvojni stadij žuželk vpliva na aktivnost entomopatogenih ogorčic. Pri zatiranju najmlajših ličink (L1) poljskega majskega hrošča z ogorčico *H. downesi* rase 267, sta Lakatos in Toth (2006) ugotovila 90 % učinkovitost pri 20 °C. Pri zatiranju vrste *Anomala orientalis* (Waterh.) sta ob primerjavi stopenj L3 in L2 dosegla večjo smrtnost pri drugi. V podobni študiji sta bili pri zatiranju poljskega majskega hrošča z ogorčicami *S. glaseri* in *Heterorhabditis* sp. najobčutljivejši larvalni stopnji L1 in L2 (Deseö in sod., 1990).

V našem poskusu koncentracija suspenzije ogorčic ni imela bistvenega vpliva na smrtnost ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča. Do podobnih rezultatov, namreč da koncentracija suspenzije ogorčic nima pomembnega vpliva na smrtnost izpostavljenih žuželk (vrst *P. japonica, A. orientalis in Rhizotrogus majalis* [Razoumowsky]) so prišli tudi Grewal in sod. (2004), ki so dosegli podobno stopnjo smrtnosti pri 2,5 in 5,0 x 10^9 IL/ha. Aplikacija suspenzije ogorčic v koncentracijah nad 2,5 x 10^9 IL/ha ni gospodarsko upravičena (Grewal in Georgis, 1998). S tega vidika je najboljša rešitev izbira ustrezne vrste, t.j. vrste ogorčice, ki je v prejšnjih poskusih (npr. *S. scarabaei)* izkazala največjo učinkovitost pri zatiranju ličink poljskega majskega hrošča.

Temperatura se je v našem poskusu izkazala za najbolj omejujoč dejavnik, ki vpliva na aktivnost entomopatogenih ogorčic. Pri 20 °C smo dosegli 34% smrtnost L3 larvalne

stopnje, medtem ko je bila pri 25 °C ugotovljena le 15 % smrtnost. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi pri nekaterih sorodnih raziskavah (Trdan in sod., 2006, 2008; Laznik in sod., 2009a), kjer so prišli do zaključka, da na smrtnost preučevanih žuželk najbolj vpliva temperatura. Grewal in sod. (2004) poročajo, da imajo različne vrste entomopatogenih ogorčic različne optimalne temperature za zatiranje škodljivih žuželk škodljivcev. Simoes in sod. (1993) so poročali o ogorčicah *S. glaseri* in *H. bacteriophora,* ki sta pri 23 °C povzročili 100 % smrtnost ličink hrošča *P. japonica;* v enakih razmerah je vrsta *S. carpocapsae* povzročila samo 56 % smrtnost, pri temperaturi nižji od 15 °C pa je samo ogorčica *S. glaseri* ohranila zadovoljivo stopnjo učinkovitosti.

V našem poskusu je najbolj obetavno delovanje pokazala rasa C76 pri 20 °C in pri največji koncentraciji suspenzije ogorčice (52 %), medtem ko je bil največji učinek biopripravka Entonem dosežen pri 20 °C in pri srednji koncentraciji suspenzije ogorčice (35 %). Pri ustrezni aplikaciji lahko vrsta *S. feltiae* zelo zadovoljivo zatira mlajše larvalne stopnje poljskega majskega hrošča, vendar je v primerjavi z entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* (Poženel, 2007), učinkovitost ogorčic nižja. Rezultati nekaterih raziskav kažejo pozitivno interakcijo pri hkratni aplikaciji entomopatogenih ogorčic in entomopatogenih gliv (Shapiro-Ilan in sodel., 2004), vendar so bolj podrobni mehanizmi njihovega skupnega delovanja za zdaj slabo raziskani. Znano je, da nekatere vrste entomopatogenih ogorčic (*S. carpocapsae* in *H. indica*) v odnosu do entomopatogenih gliv delujejo antagonistično, medtem ko vrsta *H. bacteriophora* deluje aditivno (Shapiro-Ilan in sod., 2004). V bodočih raziskavah bi bilo za zatiranje poljskega majskega hrošča priporočljivo preučiti potencialni sinergizem pri uporabi ogorčice *S. feltiae* rasa C76 in domorodne rase entomopatogene glive *B. brongniartii.*

6 POVZETEK

Zatiranje ličink (ogrcev) poljskega majskega hrošča predstavlja težko rešljiv problem, saj gre za zelo trdoživega škodljivca. Pri nas povzročajo ogrci veliko škode na Idrijskem, predvsem v vaseh Zadlog in Črni vrh. Njihovo zatiranje je zelo težavno, pa naj gre za kemičen, mehanski ali biotični način ali za kombinacijo teh načinov (Poženel, 2005). V zadnjem času vse bolj prihajajo v ospredje naravi prijaznejše metode zatiranja škodljivih organizmov. Med njimi je tudi biotično zatiranje škodljivih žuželk z entomopatogenimi ogorčicami.

V laboratoriju za entomologijo na Katedri za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo smo preučevali učinkovitost dveh ras entomopatogenih ogorčic, *Steinernema feltiae* C76 in komercialnega pripravka Entonem, za zatiranje ogrcev tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča. Njihovo učinkovitost smo preučevali pri štirih koncentracijah (0- kontrola, 750, 1500 in 3000 IL/ml destilirane vode) in pri dveh različnih temperaturah (20 in 25 °C).

Ogrce poljskega majskega hrošča smo nabrali na območju Črnega vrha nad Idrijo. Raso *Steinernema feltiae* C76 smo za namen naše raziskave namnožili v Laboratoriju za entomologijo, komercialni pripravek Entonem pa smo naročili pri podjetju Koppert Bioligical System iz Nizozemske.

Rezultati naše raziskave so pokazali, da je domorodna rasa *S. fetiae* C76 povzročila višjo stopnjo smrtnosti (28 %) ličink tretje larvalne stopnje poljskega majskega hrošča kot komercialni pripravek Entonem (21 %). Najbolj obetavno aktivnost je izkazala rasa C76 pri 20 °C in pri največji koncentraciji suspenzije ogorčice (52 %), medtem ko je bil največji učinek pripravka Entonem dosežen pri 20 °C in pri srednji koncentraciji suspenzije ogorčice (35 %). Pri ustrezni aplikaciji lahko ogorčica *S. feltiae* zelo zadovoljivo zatira mlajše larvalne stopnje poljskega majskega hrošča.

Največji vpliv na aktivnost obeh preučevanih ras je imela temperatura, saj je bilo delovanje obeh preučevanih ras znatno slabše pri 25 °C. Komercialni pripravek je bil najbolj učinkovit pri največji in najmanjši koncentraciji suspenzije ogorčic (23,7; 22,8 %), medtem ko je bila aktivnost domorodne rase C76 pri tej temperaturi znatno slabša (od 0,0 % pri 750 IL/ml do 15,2 % pri 3000 IL/ml).

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

7 VIRI

Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an isecticide. Journal of Economic Entomology 18:265-267

Boucias D.G., Hung S.Y., Mazet I., Azbell J. 1994. Effect of the fungal pathogen *Beauveria bassiana*, on the lysozyme activity in *Spodoptera exigua* larvae. Experientia, 50: 142-147

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 pathogenes of insect. Nematology, 2, 1: 31-42

Celar F. 2008. Poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* L.) (20. februar 2008) http://www.furs.si/svn/zvr/POSNadzori/Majski_hrosc/Opis.pdf (28. marec 2008)

Cunder T. 1998. Razširjenost travinja v Sloveniji. Sodobno kmetijstvo, 31, 4: 173-175

Čop J. 2006. Kmetijska zemljišča in travinje v Evropski uniji. Naše travinje, 1: 4-7

Deseö K.V., Bartocci R., Tartaglia A., Rovesti L. 1990. Entomopathogeneous nematodes for control of scarab larvae. IOBC/wprs Bulletin, 14: 57-58

Ehlers R.U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Applied Microbiology and Biotechnology, 56: 5-6, 623-633

Forst S., Clarke D. 2002. Bacteria-nematode symbiosis. V: Entomopathogenic nematology. Gaugler R, (ur.). Wallingford, CABI Publ: 57-77

Gaugler R. 1999. Matching nematodes and insect to achieve optimal field performance. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Paravarapu S. (ur.). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 9-14

Gaugler R. 2002. Entomopathogenic nematology. New Jersey, CABI Publishing: 373 str.

Georgis R., Gaugler R. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. Journal of Economic Entomology, 84: 713-720

Grewal P.S., Georgis, R. 1998. Entomopathogenic nematodes. V: Biopesticides: use and delivery. Hall F.R., Menn J.J. (ur.). New Jersey, Humana Press: 271-299

Grewal P.S., Power K.T., Grewal S.K., Suggars A., Haupricht S. 2004. Enhanced consistency in biological control of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) with new strains of entomopathogenic nematodes. Biological Control, 30: 73-82

HYPPZ on line. (6. februar 1997). http://www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/6melmel.htm (7. junij 2011)

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. 1990. Soil ecology. V: Entomopathogenic nematodes in biological control. Gaugler R, Kaya HK (ur.). Florida, CRC Press: 93-115

Kaya H.K. 2000. Entomopathogenic nematodes and their prospects for biological control in California. V: California conference on biological control. Hoddle M.S. (ur.). Riverside, California: 38-46

Kaya K.H., Koppenhöfer A.M. 1999. Biology and ecology of insectidal nematodes. V: Optimal use of insectidal nematodes in pest management. Poravarapu S. (ur.). New Jersey, Bluberry Cranberry Research and Extension Center: 1-8

Keller S., Zimmermann G. 2005. Scrabs and other soil pests in Europe: situation, perspectives and control strategies. IOBC/wprs Bulletin, 28: 9-12

Koppenhöfer A.M. 2000. Nematodes. V: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Kaya H.K. (ur.). The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 283-301

Koppenhöfer A.M., Kaya, H.K. 1998. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: A novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. Journal Econmic Entomology, 91: 618-623

Koppenhöfer A.M., Kaya H.K. 2002. Entomopathogenic nematodes and insect pest management. Microbial-biopesticides, 15: 277-305

Koppenhöfer A.M., Fuzy E.M. 2003. *Steinernema scarabaei* for the control of the European chafer. Biological Control, 28: 379-386

Korošec J. 1997. Travinje in trate. Ljubljana, Kmečki glas: 11-25

Korošec J. 1998. Pridelovanje krme na travinju in njivah. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 279 str.

Korošec J., Leskošek M., Vidrih T. 1994. Raznolikost travinja na Slovenskem – prispevek k ohranjanju sonaravnega kmetijstva v Sloveniji. V: Novi izzivi v poljedelstvu 1994, Zbornik simpozija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 202-207

Kramberger, B. 1995. Pridelovanje krme, izbrana poglavja. Maribor, Visoka kmetijska šola: 2-81

Lakatos T., Tóth, T. 2006. Biological control of European cockchafer larvae (*Melolontha melolontha* L.) – preliminary results. Journal Fruit Ornamental Plant Research 14: 73-78

Laznik Ž. 2006. Laboratorijsko preučevanje učinkovitosti štirih vrst entomopatogenih ogorčic (Rhabditida) za zatiranje kapusovih bolhačev (*Phyllotreta* spp., Coleoptera, Chrysomelidae), Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 1-16

Laznik Ž. 2007. Problematika poljskega majskega hrošča v Sloveniji. Moj mali svet, 39, 4: 24-25

Laznik Ž., Trdan S. 2007. Entomopatogene ogorčice – biotični agensi za zatiranje žuželk iz reda Coleoptera. Acta agriculturae Slovenica, 89, 1: 173-187

Laznik Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008a. Entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae) recorded for the first time in Slovenia. Acta agriculturae Slovenica 91: 37-45

Laznik Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2008b. Entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae), a new member of Slovenian fauna. Acta agriculturae Slovenica 91: 351-359

Laznik Ž., Tóth, T., Lakatos, T., Trdan, S. 2009a: Prvi poljski poskus uporabe entomopatogenih ogorčic v Sloveniji. V: Zbornik predavanj in referatov 9. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. MAČEK, Jože (ur.). Nova Gorica, 4.-5. marec 2009. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 209-214

Laznik Ž., Tóth T., Lakatos T., Vidrih M., Trdan S. 2009b. First record of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernemaidae) in Slovenia. Helminthologia (Bratisl.), 46, 2: 135-138

Lewis E.E. 2000. Biology, selection, handling and application of entomopathogenic nematodes. V: Proceedings of beneficial nematode workshop. Gothro P. (ur.). Oregon: 7-10

Peters A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. Biocontrol Science and Technology, 6: 389-402

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

Poinar G.O. Jr. 1975. Entomogenous Nematodes. Leiden, The Netherlands, E.J. Brill: 317 str.

Poženel A. 2005a. Prerazmnožitev poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem. V: Zbornik predavanj in referatov 7. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Zreče, Maček J. (ur.). Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije,: 476-478

Poženel A. 2005b. Poljski majski hrošč in možnost zatiranja. Kmečki glas, 62, 22: 5

Poženel A. 2007. Izkušnje pri zatiranju poljskega majskega hroča (*Melolontha melolontha* L.) na Idrijskem. V: Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Maček Jože (ur.). Radenci, 6.-7. marec 2007. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 72-77

Poženel A., Knapič V., Perme S. 2005. Zatiranje poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha* L.) v občini Idrija. Sanacijski program. Ljubljana: 32 str.

Shapiro I.,Gaugler R. 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 28: 137-146

Shapiro-Ilan D.I., Jackson, M., Reilly, C.C., Hotchkiss, M.W. 2004. Effects of combining an entomopathogenic nematodes on mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control, 30: 119-126

Simões N., Laumond, C., Bonifassi, E. 1993. Effectiveness of *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* in the Azores. Journal of Nematology, 25: 480-485

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 insecticidal nematodes in pest managment. Poravarapu S. (ur.). New Jersey, Cranberry Research and Extension Center: 37-46

Stanjek G. H. 2007. Der Maikäfer. (29. april 2007). http://www.hydro-kosmos.de/jahresz/fruehj/xmaikf (27. marec 2008)

Trdan S., Vidrih M., Valič N. 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. Journal of Plant Diseases Protection, 113: 168-173

Trdan S., Vidrih M., Valič N., Laznik Ž. 2008. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. Acta Agriculturae Scandinavica, B Soil Plant. Science, 58: 169-175

Urek G., Milevoj L. 1993. Ogrčja nadloga: poljedelstvo: varstvo. Kmetovalec, 61: 7-8

Valič N., Milevoj L. 2004. Poljski majski hrošč (*Melolontha melolontha* L.). Kmetovalec, 2, 10: 6-9

Vidrih M. 2007. Razširjenost in prihodnost travinja v Sloveniji. Sejalec, 3: 4-8

Vidrih T. 2005. Pašnik, najboljše za živali, zemljo in ljudi. Slovenj Gradec, Kmetijska založba: 148-159

Vrabl S. 1992. Škodljivci poljščin. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 147 str.

ZAHVALA

Zahvaljujem se prof. dr. Stanetu Trdanu in asist. dr. Žigu Lazniku za pomoč in potrpljenje, kmetijski svetovalki Anki Poženel pa za navdih, motivacijo in veliko posredovanega znanja.

Staršem se zahvaljujem za finančno in moralno podporo med študijem, prav tako gre zahvala prijateljem, ki so kakorkoli pripomogli, da sem zaključila študij.