

**PREUČEVANJE UČINKOVITOSTI ENTOMOPATOGENIH OGORČIC
(Rhabditida) ZA ZATIRANJE LIČINK IN ODRASLIH OSEBKOV
KOLORADSKEGA HROŠČA (*Leptinotarsa decemlineata* [Say], Coleoptera,
Chrysomelidae)**

Stanislav TRDAN¹, Nevenka VALIČ², Lea MILEVOJ³

^{1,2,3}Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za entomologijo in
fitopatologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

V laboratorijskih razmerah smo preučevali učinkovitost štirih vrst entomopatogenih ogorčic (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora* in *H. megidis*) za zatiranje ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata*). Delovanje biotičnih agensov smo ocenjevali pri treh različnih temperaturah (15, 20 in 25 °C) in treh različnih koncentracijah (200, 1000 in 2000 infektivnih ličink na osebek). Dva, štiri in šest dni po aplikaciji suspenzije ogorčic smo določali stopnjo smrtnosti mladih ličink, starejših ličink in odraslih osebkov. Pri 15°C so entomopatogene ogorčice pokazale najslabšo učinkovitost in najpočasnejše delovanje na vse tri razvojne stadije škodljivca. Za zatiranje prezimelih odraslih osebkov, z namenom preprečiti množični pojav koloradskega hrošča, priporočamo aplikacijo suspenzije *S. feltiae* pri višjih koncentracijah. Pri 20 in 25 °C nismo ugotovili večjih razlik v učinkovitosti ogorčic pri zatiranju različnih razvojnih stadijev žuželke, pač pa so pri višji temperaturi ogorčice hitreje povzročile smrt njihovih žrtev. Mlade ličinke so bile pri vseh temperaturah najbolj občuljive na napad entomopatogenih ogorčic in priporočamo njihovo zatiranje, če želimo uporabo v tej raziskavi preučevanih biotičnih agensov narediti čim bolj gospodarno.

Ključne besede: entomopatogene ogorčice, koloradski hrošč, učinkovitost, biotično varstvo rastlin, krompir

ABSTRACT

**TESTING THE EFFICACY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (Rhabditida)
AGAINST LARVAE AND ADULTS OF COLORADO POTATO BEETLE (*Leptinotarsa
decemlineata* Say, Coleoptera, Chrysomelidae)**

Four entomopathogenic nematode species (*Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, and *H. megidis*) were tested in a laboratory bioassay studying the efficacy of these parasites in controlling the larval and adult forms of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). The activity of these biological agents was assessed at three different temperatures (15, 20, and 25 °C) and three concentrations (200, 1000, and 2000 infective juveniles per individual). Mortality levels at three developmental stages (young larvae, old larvae, and adults) was determined 2, 4, and 7 days after treatment. At 15 °C entomopathogenic nematodes showed the lowest efficacy and the slowest activity on all three developmental stages of the pest. However, when controlling overwintered adults for the purpose of preventing the mass appearance of Colorado potato beetle, we recommend an application of *S. feltiae* suspension at higher

¹ doc., dr. agr. znan., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² univ. dipl. inž. agr., strokovna sodelavka, prav tam

³ red. prof., dr. agr. znan., prav tam

concentrations. No significant differences in efficacy of entomopathogenic nematodes in controlling different developmental stages of larvae were determined at 20 and 25 °C, yet all nematodes caused prompt death of their victims at these higher temperatures. At all temperatures young larvae were the most sensitive to the attack of entomopathogenic nematodes; therefore we recommend larval control by these biological agents, in cases where the application of these methods can be economically justified.

Key words: entomopathogenic nematodes, Colorado potato beetle, efficacy, biological control, potato

1 UVOD

Skoraj 85 let po vnosu v Evropo je koloradski hrošč (*Leptinotarsa decemlineata* Say, Coleoptera, Chrysomelidae) v večini držav na Stari celini še vedno najpomembnejši škodljivec krompirja (OEPP/EPPO, 1997). Ličinke in odrasli osebki objedajo liste in na ta način ovirajo normalen razvoj rastlin. Zlasti osebki prvega rodu žuželke so dokazano škodljivi (Igrc-Barčič *et al.*, 1999), zato je gospodarski prag škodljivosti zanje precej nižji kot za osebke drugega rodu (Zehnder *et al.*, 1995).

Intenzivna raba insekticidov za zatiranje koloradskega hrošča je v nekaterih državah vplivala na pojav rezistence škodljivca (Pap *et al.*, 1997; Stanković *et al.*, 2004). Z namenom zmanjšanja ali preprečevanja tega pojava so na nekaterih območjih razvili nove strategije pridelave krompirja, ki so se marsikje izkazale za uspešne (Pruszyński in Wegorek, 2004). Ker je žuželka sposobna pridobiti rezistenco ne le na kemične, ampak tudi na naravne insekticidne snovi (Loseva *et al.*, 2002), poleg tega pa lahko na primer transgeni-Bt kultivarji krompirja vplivajo na večjo smrtnost nekaterih naravnih sovražnikov (Ashouri, 2004), je zato nujen razvoj in optimizacija novih načinov okolju sprejemljivega zatiranja tega škodljivca.

Entomopatogene ogorčice so biotični agensi, katerih učinkovitost je bila doslej preučevana na številnih vrstah škodljivih žuželk, tako v laboratorijih (Shapiro in McCoy, 2000) kot na prostem (Abbas *et al.*, 2001). Sprva so bile omenjene ogorčice znane zlasti kot talni paraziti, rezultati novejših raziskav pa potrjujejo tudi njihovo delovanje na nadzemne škodljivce (Arthurs *et al.*, 2004).

V Evropi je bilo doslej le malo raziskav delovanja entomopatogenih ogorčic na koloradskega hrošča. V eni od njih je bila dokazana tovrstna učinkovitost beloruskih sojev vrst *Steinernema feltiae* in *S. carpocapsae* (Prishchepa *et al.*, 2000), rezultati druge kažejo na večjo učinkovitost ogorčice *S. carpocapsae*, v primerjavi s sojem HP 88 iz rodu *Heterorhabditis* (Saringer *et al.*, 1996). K lažji odločitvi za pričujočo raziskavo so pripomogli tudi rezultati severnoameriške študije, v kateri je bilo dokazano, da ogorčica *S. carpocapsae* preživi v telesu koloradskega hrošča med preobrazbo iz ličinke v bube in iz bube v odrasli osebek (Stewart *et al.*, 1998). S tem ena od štirih vrst biotičnih agensov v naši raziskavi izkazuje lastnosti, ki ji omogočajo lažje preživetje ob foliarni aplikaciji, ob kateri so ogorčice še posebno izpostavljene neugodnim (zlasti abiotičnim) dejavnikom okolja. Relativna neučinkovitost vrste *S. carpocapsae* za zatiranje koloradskega hrošča v eni od prvih tovrstnih raziskav (Thurston *et al.*, 1994) nas je le še bolj vzpodbudila, da preučimo učinkovitost te vrste, v primerjavi z entomopatogenim delovanjem treh drugih vrst ogorčic.

V Sloveniji imajo entomopatogene ogorčice še vedno status tujerodnih organizmov, zato smo v pričujoči raziskavi preučevali učinkovitost teh agensov za zatiranje ličink in odraslih osebkov koloradskega hrošča v laboratorijskih razmerah. Naš cilj je bil ugotoviti kako vrsta entomopatogenih ogorčic, okoljska temperatura in koncentracija suspenzije vplivajo

na učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju različnih nadzemskih razvojnih stadijev škodljivca.

2 MATERIALI IN METODE

Laboratorijsko raziskavo smo izvajali v Entomološkem laboratoriju Katedre za entomologijo in fitopatologijo (Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo) v Ljubljani. V njej smo preizkušali delovanje štirih vrst entomopatogenih ogorčic; *Steinernema feltiae* (Filipjev) in *S. carpocapsae* (Weiser) (obe iz družine Steinernematidae) ter *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar in *H. megidis* Poinar (obe iz družine Heterorhabditidae), ki smo jih kot komercialne biopripravke uvozili iz Nizozemske (Koppert B. V., Berkel en Rodenrijs). Pripravke smo porabili v dveh mesecih po uvozu.

Mlajše ličinke (L1/L2), starejše ličinke (L3/L4) in odrasle osebkve koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* Say) za potrebe raziskave smo nabrali na listih krompirja sorte Kondor na Laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani. Za laboratorijske raziskave smo uporabili odrasle osebkve in ličinke iz obeh rodov. Mlade ličinke smo nabirali v prvi polovici junija in v prvi polovici avgusta, starejše ličinke v drugi polovici junija in drugi polovici avgusta ter odrasle osebkve v sredini julija in sredini septembra. Osebkve smo v plastične posode nabirali zgodaj popoldne, nato pa smo jih prenesli v laboratorij, kjer smo jih še isti dan izpostavili entomopatogenim ogorčicam.

Delovanje biotičnih agensov smo preizkušali v treh koncentracijah: 200, 1000 in 2000 infektivnih ličink (IL) na osebek ali 2000, 10 000 in 20 000 IL na 1 ml vode v petrijevki. V vsako od steklenih petrijevk s premerom 14 cm, katerih dno je bilo prekrito s filtrirnim papirjem, smo položili pet listov krompirja. V takšne petrijevke smo dali po 10 osebkov izbranih razvojnih stadijev škodljivca in zatem še 1 ml suspenzije ogorčic, ki smo jih predhodno pripravili v steklenih čašah. Zatem smo petrijevke prekrili s steklenim pokrovom. Suspenzijo ogorčic smo dodajali s pipetami, pri čemer smo za vsako obravnavanje uporabili nove pipete. Kontrolo je predstavljalo obravnavanje, kjer smo namesto suspenzije ogorčic v petrijevke dodali 1 ml destilirane vode.

Petrijevke smo zatem postavili v gojitveno komoro (RK-900 CH, Kambič laboratorijska oprema, Semič), in sicer vsako obravnavanje v desetih ponovitvah. Učinkovitost ogorčic smo ugotavljali v temi pri treh temperaturah (15, 20 in 25°C) in 95 % relativni zračni vlagi. Smrtnost osebkov smo določali 2, 4 in 7 dni po aplikaciji suspenzije ogorčic.

Statistične razlike v odstotku smrtnosti mlajših ličink, starejših ličink in odraslih osebkov, izpostavljenih petim različnim obravnavanjem (štiri vrste entomopatogenih ogorčic – vsaka v treh različnih koncentracijah - in kontola) pri treh različnih temperaturah, smo ugotavljali z multifaktorsko analizo variance. Odstotek smrtnosti hroščkov v različnih obravnavanjih smo pred tem korigirali z uporabo Abbottove formule (Abbott, 1925). Za določanje razlik med povprečnimi vrednostmi različnih obravnavanj smo uporabili Duncanov preizkus mnogoterih primerjav ($P \leq 0,05$). Iz dobljenih rezultatov smo izračunali tudi vrednosti LC_{50} in LC_{90} , ki pomenijo število infektivnih ličink na hroščka, ki povzročijo smrt 50% oz. 90% preizkušanih osebkov. Vse statistične analize smo naredili s programom Statgraphics Plus for Windows 4.0.

3 REZULTATI

Z generalno statistično analizo smo ugotovili, da so na odstotek smrtnosti koloradskega hrošča vplivali temperatura, vrsta entomopatogenih ogorčic, koncentracija suspenzije, zaporedni dan po tretiranju in razvojni stadij škodljivca. Z isto analizo smo največjo smrtnost škodljivca ugotovili pri 20 °C ($56,79 \pm 2,54$ %) in 25 °C ($61,29 \pm 2,33$ %), pri aplikaciji suspenzije ogorčic *S. feltiae* ($60,07 \pm 2,08$ %) in *S. carpocapsae* ($61,66 \pm 2,20$ %), pri koncentraciji suspenzije 2000 IL/osebek ($62,15 \pm 1,84$ %) in 7. dan po tretiranju ($70,66 \pm 2,23$ %). Signifikantno najmanjšo smrtnost škodljivca smo ugotovili pri 15 °C ($36,37 \pm 1,57$ %), pri aplikaciji suspenzije ogorčic *H. megidis* ($41,87 \pm 1,88$ %) in *H.*

bacteriophora ($42,35 \pm 1,96$ %), pri koncentraciji suspenzije 200 IL/osebki ($37,13 \pm 1,54$ %) in 2. dan po tretiranju ($30,91 \pm 1,71$ %). Mlajše ličinke so pokazale največjo občutljivost ($79,24 \pm 1,81$ %) na napad ogorčic, medtem ko so bili odrasli osebki najbolj tolerantni ($18,86 \pm 1,08$ %) nanje.

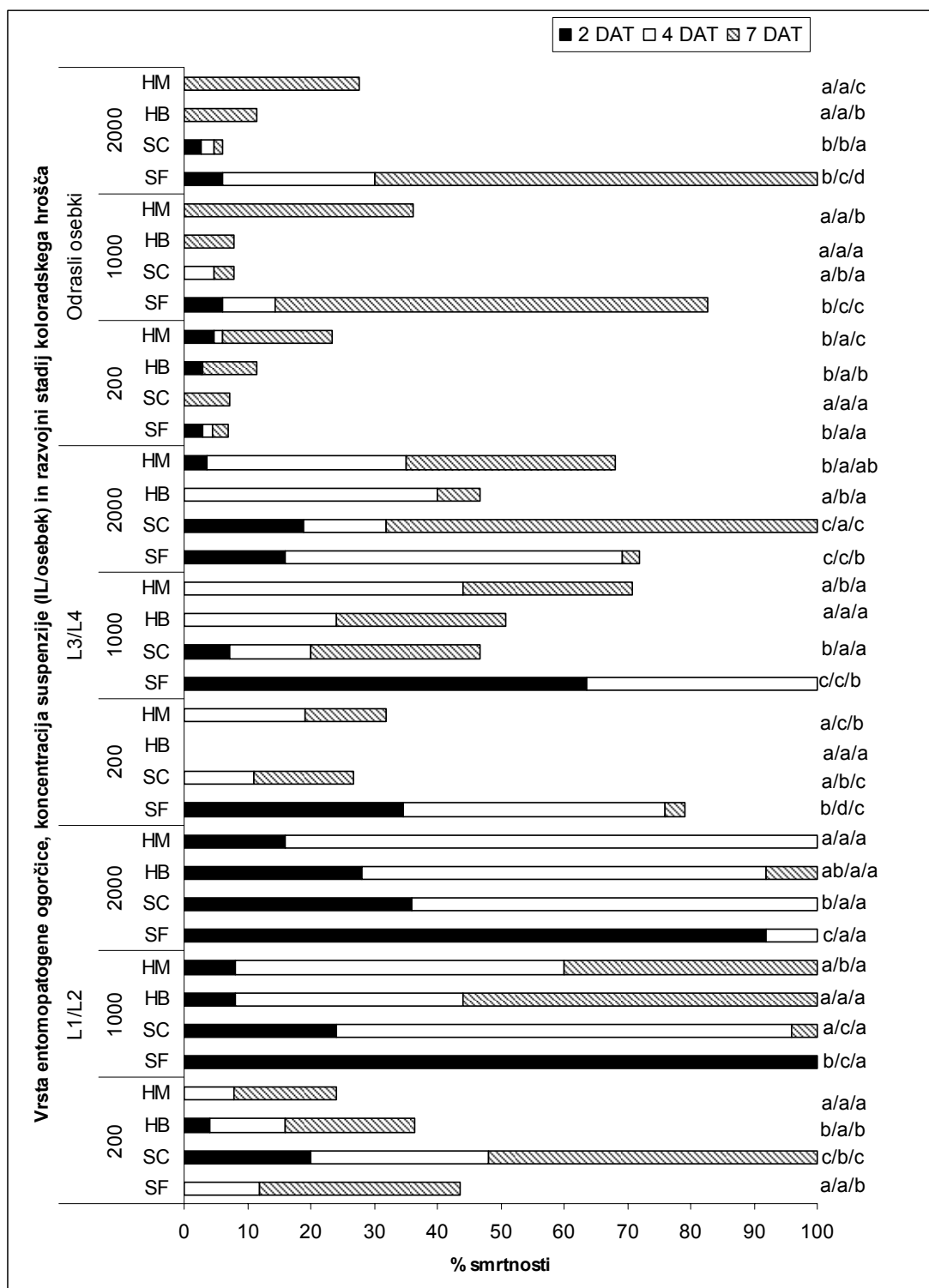
Pri 15 in 20 °C smo pri mlajših ličinkah 2, 4 in 7 dni po aplikaciji ogorčic ugotovili signifikanten vpliv vrste entomopatogenih ogorčic, koncentracije suspenzije in interakcije med vrsto ogorčic in koncentracijo suspenzije. Pri 25 °C smo signifikanten vpliv vrste ogorčic, koncentracije suspenzije in njune interakcije ugotovili le 2 in 4 dni po tretiranju.

Dva dni po aplikaciji ogorčic smo pri 15 °C potrdili signifikanten vpliv vrste ogorčic in interakcije med vrsto ogorčic in koncentracijo suspenzije na smrtnost starejših ličink. Pri isti temperaturi smo 4 in 7 dni po aplikaciji ugotovili signifikanten vpliv vrste ogorčic in koncentracije suspenzije na smrtnost starejših ličink. Pri 20 °C smo ugotovili le signifikanten vpliv vrste ogorčic, koncentracije suspenzije in njune interakcije na smrtnost starejših ličink 2 in 4 dni po tretiranju. Vrsta ogorčic, koncentracija suspenzije in njuna interakcija so imeli 2, 4 in 7 dni po aplikaciji ogorčic signifikanten vpliv na smrtnost starejših ličink pri 25 °C.

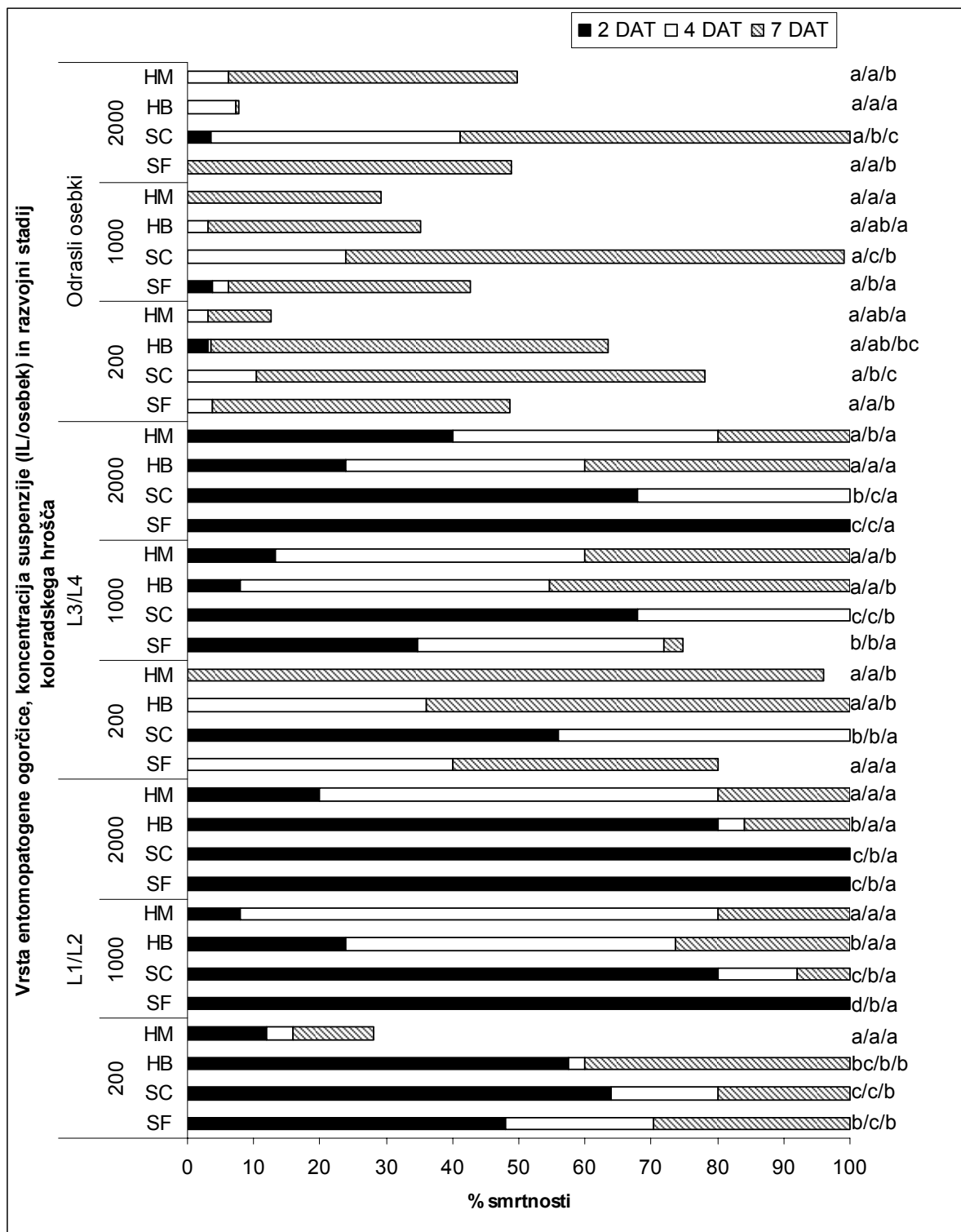
Pri 15 °C smo signifikanten vpliv vrste ogorčic, koncentracije suspenzije in njune interakcije na smrtnost odraslih osebkov potrdili le 7 dni po tretiranju. Pri 20 °C smo enak vpliv za vrsto ogorčic in koncentracijo suspenzije ugotovili le 4 dni po aplikaciji ogorčic. Pri najvišji temperaturi je vrsta ogorčic vplivala na smrtnost odraslih osebkov le 2 in 7 dni po tretiranju.

Pri 15 °C smo dva dni po tretiranju največjo smrtnost ugotovili pri mladih ličinkah (sl. 1). Pri obeh višjih koncentracijah je bila najbolj učinkovita vrsta *S. feltiae*, ki je pri 1000 IL/ličinko pokazala 100 % učinkovitost, pri 2000 IL/ličinko pa le malo manjšo. Dva dni po aplikaciji ogorčic smo le še pri delovanju ogorčice *S. feltiae* na starejše ličinke (1000 IL/ličinko) ugotovili nad 60 % učinkovitost. Štiri dni po aplikaciji največje koncentracije suspenzije smo pri treh vrstah ogorčic potrdili 100 % učinkovitost pri zatiranju mladih ličink. Pri pol nižji koncentraciji smo pri vseh štirih vrstah ogorčic ugotovili nad 44 % učinkovitost pri delovanju na mlade ličinke, signifikantno učinkovitejša od vrst iz rodu *Heterorhabditis* pa je bila vrsta *S. carpocapsae*. Štiri dni po aplikaciji na starejše ličinke smo le pri vrsti *S. feltiae* ugotovili 100 % učinkovitost. Sedem dni po izpostavitvi mladih ličink entomopatogenim ogorčicam, so pri obeh višjih koncentracijah potrdili 100 % učinkovitost vseh štirih vrst. Pri starejših ličinkah je takšno delovanje pokazala ogorčica *S. carpocapsae*, pri odraslih osebkih pa vrsta *S. feltiae*, obe v najvišjih koncentracijah.

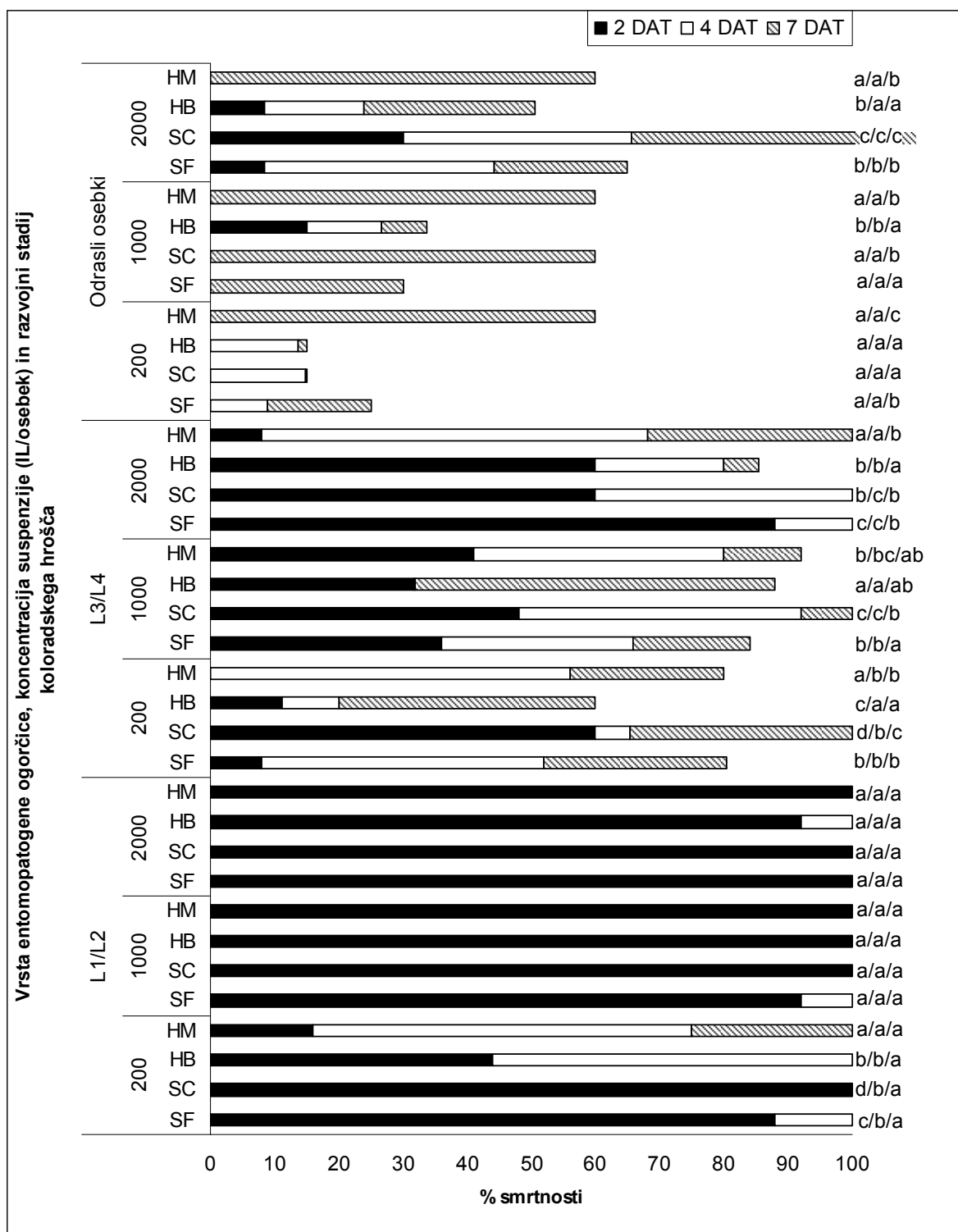
Pri 20 °C ugotavljamo hitrejše delovanje ogorčic na mlade in starejše ličinke in večjo smrtnost vseh razvojnih stadijev škodljivca (sl. 2). Obe vrsti iz rodu *Steinernema* sta pokazali večjo učinkovitost, v primerjavi z ogorčicama iz rodu *Heterorhabditis*. Ogorčica *S. feltiae* je že po dveh dneh vplivala na 100 % smrtnost mladih ličink pri obeh višjih koncentracijah suspenzij in starejših ličink pri najvišji koncentraciji suspenzije. Zadovoljivo delovanje v tem pogledu je pokazala tudi vrsta *S. carpocapsae*, saj je pri obeh stadijih ličink v obeh višjih koncentracijah vplivala na njihovo več kot 68 % smrtnost. Štiri dni po aplikaciji izstopa zlasti delovanje ogorčice *S. carpocapsae*, ki je pri starejših ličinkah pri vseh treh koncentracijah dosegla 100 % učinkovitost. V tem razvojnem stadiju sta štiri dni po nanosu tudi vrsti *H. megidis* in *H. bacteriophora* bistveno povečali učinkovitost. Po sedmih dneh smo pri obeh stadijih ličink pri večini preučevanih biotičnih agensov potrdili 100 % delovanje, medtem ko smo pri odraslih osebkih ravno tedaj ugotovili največje povečanje učinkovitosti, ki pa je bilo primerjalno z ličinkami še vedno najslabše. Pri odraslih osebkih je po učinkovitosti izstopala ogorčica *S. carpocapsae*, ki je pri najvišji koncentraciji vplivala na njihovo 100 % smrtnost.



Slika 1: Odstotek smrtnosti različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 2, 4 in 7 dni po aplikaciji štirih vrst entomopatogenih ogorčic v treh različnih koncentracijah pri 15 °C. Črke na desni strani prikazujejo significantne razlike ($P < 0,05$; Duncanov preizkus mnogoterih primerjav) v smrtnosti preučevanih vrst entomopatogenih ogorčic pri isti koncentraciji na isti dan po tretiranju. Prikazani podatki so korigirani z Abbottovo formulo. HB – *Heterorhabditis bacteriophora*, HM – *H. megidis*, SC – *Steinernema carpocapsae*, SF – *S. feltiae*, DAT – dan po tretiranju.



Slika 2: Odstotek smrtnosti različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 2, 4 in 7 dni po aplikaciji štirih vrst entomopatogenih ogorčic v treh različnih koncentracijah pri 20 °C. Črke na desni strani prikazujejo significantne razlike ($P < 0,05$; Duncanov preizkus mnogoterih primerjav) v smrtnosti preučevanih vrst entomopatogenih ogorčic pri isti koncentraciji na isti dan po tretiranju. Prikazani podatki so korigirani z Abbottovo formulo. HB – *Heterorhabditis bacteriophora*, HM – *H. megidis*, SC – *Steinernema carpocapsae*, SF – *S. feltiae*, DAT – dan po tretiranju.



Slika 3: Odstotek smrtnosti različnih razvojnih stadijev koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) 2, 4 in 7 dni po aplikaciji štirih vrst entomopatogenih ogorčic v treh različnih koncentracijah pri 25 °C. Črke na desni strani prikazujejo significantne razlike ($P < 0,05$; Duncanov preizkus mnogoterih primerjav) v smrtnosti preučevanih vrst entomopatogenih ogorčic pri isti koncentraciji na isti dan po tretiranju. Prikazani podatki so korigirani z Abbottovo formulo. HB – *Heterorhabditis bacteriophora*, HM – *H. megidis*, SC – *Steinernema carpocapsae*, SF – *S. feltiae*, DAT – dan po tretiranju.

Še hitrejšje delovanje ogorčic na koloradskega hrošča smo dokazali pri 25 °C (sl. 3). Pri obeh višjih koncentracijah smo dva dni po aplikaciji ugotovili 100 % delovanje vseh ogorčic (z izjemo vrste *H. bacteriophora* pri 2000 IL/ličinko, ki pa kljub temu ni kazala signifikantne razlike z drugimi vrstami) na mlade ličinke. Za razliko od ostalih dveh temperatur, sta pri najnižji koncentraciji obe vrsti iz rodu *Steinernema* pri 25 °C pokazali nad 88% učinkovitost. Delovanje ogorčic na starejše ličinke se pri najvišji temperaturi ni bistveno razlikovalo od delovanja pri 20 °C, ne v hitrosti ne v učinkovitosti. Pri največji koncentraciji je temperatura 25 °C vplivala na nekoliko hitrejšo smrtnost odraslih osebkov v primerjavi z nižjima temperaturama in na malenkostno večjo učinkovitost ogorčic. Delovanje ogorčice *H. megidis* je bilo pri tej temperaturi najmanj primerljivo z vrstama iz rodu *Steinernema* in je pri vseh treh koncentracijah suspenzij vplivalo na nad 60% smrtnost odraslih osebkov.

Preglednica 1: Vrednosti LC₅₀ in LC₉₀ za štiri vrste entomopatogenih ogorčic pri treh različnih temperaturah sedmi dan po tretiranju. Vrednosti so izračunane za mlajše ličinke (L1/L2), starejše ličinke (L3/L4) in odrasle osebkove koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]).

Vrsta entomopatogene ogorčice	Razvojni stadij	LC ₅₀ ^z (95 % CL ^y)			LC ₉₀ ^z (95 % CL ^y)		
		15 °C	20 °C	25 °C	15 °C	20 °C	25 °C
<i>S. feltiae</i>	L1/L2	484 (60-908)	-(⁴)	-(⁴)	1232 (927-1536)	889 (435-1344) ⁽⁵⁾	-(⁴)
<i>S. carpocapsae</i>		-	-(⁴)	-(⁴)	-	-(⁴)	-(⁴)
<i>H. megidis</i>		797 (527-1066)	312 (0-1090) ⁽⁴⁾	481 (0-974) ⁽⁴⁾	1357 (1084-1630)	1106 (736-1477) ⁽⁴⁾	1184 (854-1514) ⁽⁴⁾
<i>H. bacteriophora</i>		586 (200-973)	558 (116-999)	-(⁴)	1253 (945-1560)	1211 (884-1538)	-(⁴)
<i>S. feltiae</i>	L3/L4	1259 (537-1980)	865 (252-1477)	761 (99-1423)	1025 (574-1476)	1102 (670-1535)	1142 (707-1576)
<i>S. carpocapsae</i>		950 (672-1228)	-(⁴)	541 (0-1204)	1550 (1196-1905)	-(⁴)	1088 (706-1470)
<i>H. megidis</i>		1093 (644-1542)	-	894 (486-1302)	1218 (470-1967)	664 (0-1504)	1334 (882-1786)
<i>H. bacteriophora</i>		1256 (834-1678)	2570 (1453-3688) ⁽⁴⁾	1204 (999-1410)	1688 (964-2412)	3939 (1842-6036) ⁽⁴⁾	1964 (1623-2305)
<i>S. feltiae</i>	Adult	887 (672-1101)	1500 (600-2401)	1250 (865-1634)	1467 (1224-1710)	1992 (241-3743)	1872 (1130-2614)
<i>S. carpocapsae</i>		2111 (0-5538)	463 (0-1163)	1141 (641-1640)	3000 (0-9307)	1158 (772-1545)	1314 (381-2247)
<i>H. megidis</i>		1355 (685-2024)	1375 (759-1991)	1067 (549-1584)	1905 (328-3482)	1937 (575-300)	1067 (0-2251)
<i>H. bacteriophora</i>		1206 (0-4296)	570 (230-909)	1062 (0-2333)	1327 (0-7062)	-	1057 (0-3575)

⁽⁴⁾ 100% smrtnost 4 dni po aplikaciji

^z LC₅₀ in LC₉₀, izražena kot število infektivnih ličink na hroščka

^y Interval zaupanja, IZ, je napisan v oklepaju

Pri 15 °C smo najmanjše LC (letalna doza) vrednosti ugotovili pri vrsti *S. feltiae* (LC₅₀ = 484 IL/mlado ličinko in LC₉₀ = 1025 IL/starejšo ličinko) (Preglednica 1). Največje LC vrednosti smo pri isti temperature ugotovili pri ogorčici *S. carpocapsae* (LC₅₀ = 2111 IL/odraslega osebkov in LC₉₀ = 3000 IL/odraslega osebkov). Pri 20 °C smo najmanjše LC₅₀ vrednosti potrdili pri vrstah *S. carpocapsae* (LC₅₀ = 463 IL/odraslega osebkov) in *H. megidis* (LC₉₀ = 664 IL/starejše ličinke), medtem ko smo največje vrednosti ugotovili pri

ogorčicah *H. megidis* ($LC_{50} = 1375$ IL/odraslega osebka) in *S. feltiae* ($LC_{90} = 1992$ IL/starejšo ličinko). Pri najvišji temperaturi sta ogorčici *S. carpocapsae* ($LC_{50} = 541$ IL/starejšo ličinko) in *H. bacteriophora* ($LC_{90} = 1057$ IL/odraslega osebka) dokazali največjo učinkovitost pri zatiranju preučevanega škodljivca, medtem ko sta bili vrsti *S. feltiae* ($LC_{50} = 1250$ IL/odraslega osebka) in *H. bacteriophora* ($LC_{90} = 1964$ IL/starejšo ličinko) najmanj učinkoviti.

4 RAZPRAVA IN SKLEPI

Rezultati pričujoče raziskave kažejo, da imata tako okoljska temperatura kot razvojni stadij koloradskega hrošča – ta dva parametra smo želeli v pričujoči raziskavi še posebej podrobno preučiti – pomemben vpliv na učinkovitost entomopatogenih ogorčic pri zatiranju škodljivca. Najnižja temperatura se je v tej zvezi izkazala za najmanj ustrezno, pri temperaturi 20 in 25 °C pa je bila učinkovitost entomopatogenih ogorčic večja, kar se ujema z rezultati naših predhodnih raziskav (Trdan *et al.*, 2006) kot tudi rezultati raziskav drugih avtorjev (Kaya *et al.*, 1993; Doucet *et al.*, 1996; Choo *et al.*, 2002; Belair *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2003). Če bi želeli s foliarno aplikacijo preučevanih biotičnih agensov – ta je v zadnjem obdobju vse bolj razširjena pri zatiranju škodljivih žuželk (Broadbent in Olthof, 1995) - zatirati prve (prezimele) odrasle osebke koloradskega hrošča, priporočamo aplikacijo suspenzije *S. feltiae* pri višjih koncentracijah. Ta vrsta je namreč v naši raziskavi pri 15 °C pokazala najboljšo učinkovitost pri zatiranju odraslih osebkov. Ob pojavu prvih odraslih osebkov (druga polovica maja) pa so noči v območju, kjer je potekala ta raziskava, še sorazmerno sveže. Nujnost hitre aplikacije entomopatogenih ogorčic, to pomeni še preden se škodljivec pretirano razmnoži, povezujemo z znanim dejstvom, da iztrebki koloradskega hrošča odvrčajo te biotične agense (Thurston *et al.*, 1994). S hitro aplikacijo ogorčic v tej zvezi ne vplivamo le na to, da pri znani koncentraciji suspenzije večje število ogorčic vstopi v izpostavljeni osebek, ampak tudi v večji meri omejimo repelentno delovanje škodljivčevih iztrebkov na ogorčice.

Pri višjih okoljskih temperaturah (20 in 25 °C) je odrasle osebke najbolj učinkovito zatrla vrsta *S. carpocapsae* in jo zato priporočamo v uporabo pri potencialnem zatiranju prvega rodu odraslih osebkov (potomci prezimelih hroščev). Zatiranje odraslih osebkov lepenjcev z entomopatogenimi ogorčicami se doslej sicer ni pokazalo za posebno uspešno. To lahko trdimo na podlagi rezultatov delovanja preučevanih biotičnih agensov na odrasle osebke koruznega hrošča (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) (Toepfer *et al.*, 2005) in vrste *Colaphellus bowringi* Baly (Wei *et al.*, 2000), temu pa lahko delno pritrdimo tudi ob upoštevanju rezultatov naše raziskave, saj so bili odrasli osebki na infestacijo ogorčic bistveno bolj tolerantni kot ličinke.

Mlade ličinke so bile pri najnižji temperaturi najbolj občutljive na infekcijo ogorčic, na njih pa so ogorčice pri vseh temperaturah pokazale najhitrejše delovanje. Starejše ličinke so bile v tem pogledu nekoliko manj občutljive, a še vseeno bolj kot odrasli osebki, saj je znano, da entomopatogene ogorčice bolj učinkovito zatrejo ličinke kot odrasle osebke, saj lažje vstopijo v prve (LeBeck *et al.*, 1993). Najbolj učinkovito delovanje entomopatogenih ogorčic zato lahko pričakujemo pri njihovi poletni nočni aplikaciji na mlade ličinke. V toplih (nad 20 °C) in vlažnih nočeh bi tako lahko že dva dni po aplikaciji preučevanih biotičnih agensov pričakovali visok odstotek smrtnosti mladih ličink.

Rezultate pričujoče laboratorijske raziskave želimo čimprej preizkusiti tudi na prostem, za kar pa moramo entomopatogene ogorčice dokazati v tleh in jih s tem »odvzeti« status eksotičnih agensov, ki ga trenutno imajo v Sloveniji. Rezultati laboratorijskih preizkušanj namreč niso vedno primerljivi s poljskim preizkušanjem (Cantelo in Nickle, 1992), saj delovanje entomopatogenih ogorčic na prostem determinira bistveno večje število

dejavnikov. V eni od takšnih raziskav se je 100 % učinkovitost *S. carpocapsae* na odrasle osebkke, bube in ličinke koloradskega hrošča v laboratoriju, na prostem odrazila le v 31% zmanjšanju populacije škodljivca, pa še tam jim je bil v pomoč insekticid fenvalerate (Stewart *et al.*, 1998). Nekateri rezultati delovanja entomopatogenih ogorčic na sorodne (Yang *et al.*, 2003) in druge vrste hroščev (Łabanowska *et al.*, 2004) pa kažejo, da so lahko ti agensi učinkovita alternativa insekticidom. Upamo, da bomo s foliarno aplikacijo ogorčic za zatiranje koloradskega hrošča na prostem tudi mi v bližnji prihodnosti pritrdili rezultatom slednjih raziskav.

5 ZAHVALA

Raziskava, katere del rezultatov predstavljamo v tem prispevku, sta v okviru aplikativnega projekta L4-6477-0481-04 sofinancirala Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo RS in Ministrstvo za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano RS.

6 LITERATURA

- Abbas, M. S. T., Saleh, M. M. E., Akil, A. M. 2001. Laboratory and field evaluation of the pathogenicity of entomopathogenic nematodes to the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Col.: Curculionidae). Anz. Schädldk. 74: 167-168.
- Arthurs, S., Heinz, K. M., Prasifka, J.R. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above-ground pests. Bull. Entomol. Res. 94: 297-306.
- Ashouri, A. 2004. Transgenic-Bt potato plant resistance to the Colorado potato beetle affect the aphid parasitoid *Aphidius nigripes*. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences. Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Ghent, 69: 185-189.
- Belair, G., Fournier, Y., Dauphinais, N. 2003. Efficacy of steinernematid nematodes against three insect pests of crucifers in Quebec. J. Nematol. 35: 259-265.
- Broadbent, A. B., Olthof, T. H. A. 1995. Foliar application of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) to control *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) larvae in chrysanthemums. Environmental Entomology, 24: 431-435.
- Cantelo, W. W., Nickle, W. R. 1992. Susceptibility of prepupae of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). Journal of Entomological Science, 27: 37-43.
- Choo, H. Y., Lee, D. W., Yoon, H. S., Lee, S. M., Hang, D. T. 2002. Effects of temperature and nematode concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematoda: Steinernematidae). Korean J. Appl. Entomol. 41: 269-277.
- Doucet, M. M. A., de Miranda, M. B., Bertolotti, M. A., Caro, K. A. 1996. Efficacy of *Heterorhabditis bacteriophora* (strain OLI) in relation to temperature, concentration and origin of the infective juvenile. Nematrop. 26: 129-133.
- Igrc-Barčić, J., Dobrinčić, R., Maceljki, M. 1999. Effect of insecticides on the Colorado potato beetles resistant to OP, OC and P insecticides. Anzeiger für Schädlingkunde, 72: 76-80.
- Kaya H. K., Burlando, T. M., Thurston, G. S. 1993. Two entomopathogenic nematode species with different search strategies for insect suppression. Environ. Entomol. 22: 859-864.
- Łabanowska, B. H., Olszak, R., Tkaczuk, C., Augustyniuk-Kram, A. 2004. Efficacy of chemical and biological control of the strawberry root weevil (*Otiorhynchus ovatus* L.) and the vine weevil (*Otiorhynchus sulcatus* F.) in strawberry plantations in Poland. Bull. OILB/SROP, 27, 4: 153-159.
- LeBeck L. M., Gaugler, R., Kaya, H. K., Hara, A. H., Johnson, M. W. 1993. Host stage suitability of the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). J. Invertebr. Pathol. 62: 58-63.
- Loseva, O., Ibrahim, M., Candas, M., Koller, C. N., Bauer, L. S., Bulla, L. A. Jr. 2002. Changes in protease activity and Cry3Aa toxin binding in the Colorado potato beetle: implications for insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 32: 567-577.
- OEPP/EPPO. 1997. *Leptinotarsa decemlineata*, 352-357. In Smith et al. (eds.), Quarantine pests for Europe. Second Edition. Data sheets on quarantine pests for the European Union and for

- the European and Mediterranean Plant Protection Organization, CABI and EPPO, Wallingford, New York.
- Pap, L., Toth, A., Karikas, S. 1997. A survey of the insecticide resistance status of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in Hungary between 1987 and 1991. *Pesticide Science*, 49: 389-392.
- Prishchepa, L., Mikulskaya, N., Bezruchionok, N. 2000. Study of biological diversity of entomopathogenic nematodes in Belarus. *Vestsi Akademii Agrarnykh Navuk Respubliki Belarus'*, 2: 59-62 [in Russian].
- Pruszyński, S., Wegorek, P. 2004. Strategy for managing Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance in Poland. *Progress in Plant Protection*, 44: 292-299 [in Polish].
- Saringer G., Fodor A., Nadasy M., Lucskai A., Georgis R. 1996. Possibilities of biological control using entomopathogenic nematodes against *Leptinotarsa decemlineata* L. and *Athalia rosae* L. larvae. *Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent*. 61(3b): 961-966
- Shapiro, D. I., McCoy, C.W. 2000. Virulence of entomopathogenic nematodes to *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *J. Econ. Entomol.* 93: 1090-1095.
- Stanković, S., Zabel, A., Kostić, M., Manojlović, B., Rajković, S. 2004. Colorado potato beetle [*Leptinotarsa decemlineata* (Say)] resistance to organophosphates and carbamates in Serbia. *Journal of Pest Science*, 77: 11-16.
- Stewart, J. G., Boiteau, G., Kimpinski, J. 1998. Management of late-season adults of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with entomopathogenic nematodes. *Canadian Entomologist*, 130: 509-514.
- Thurston, G. S., Yule, W. N., Dunphy, G. B. 1994. Explanations for the low susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* to *Steinernema carpocapsae*. *Biological Control*, 4: 53-58.
- Toepfer, S., Gueldenzoph, C., Ehlers, R. U., Kuhlmann, U. 2005. Screening of entomopathogenic nematodes for virulence against the invasive western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, 95: 473-482.
- Trdan, S., Vidrih, M., Valič, N. 2006. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113 (in press).
- Wei, H. Y., Li, F., Wan, L., Ling K. J., Wu, D. L., Zhao, F. X. 2000. Sensitivity of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* to vegetable beetle, *Colaphellus bowringi* Baly. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 22: 243-245 [in Chinese]
- Yang, X., Jian, H., Liu, Z., Yang, H., Yuan, J., Quanli, Z., Shuangyue, L. 2003. Evaluation of entomopathogenic nematodes for control of the beetle, *Luperomorpha suturalis* Chen (Col., Chrysomelidae). *Journal of Applied Entomology*, 127: 377-382.
- Zehnder, G., Vencill, A. M., Speese, J. III. 1995. Action thresholds based on plant defoliation for management of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in potato. *Journal of Economic Entomology*, 88: 155-161.