

MOŽNOSTI ZATIRANJA OGRCEV POLJSKEGA MAJSKEGA HROŠČA
(*Melolontha melolontha* L., Coleoptera, Scarabaeidae)
Z ENTOMOPATOGENO GLIVO
***Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch**

TJAŠA GRIL
Seminarska naloga
Ljubljana, Oktober 2006

KAZALO VSEBINE

1	Uvod	1
2	Entomopatogene glive	1
2.1	Entomopatogene glive kot biotični agensi	2
2.2	Patogeneza pri entomopatogenih glivah	2
3	Entomopatogena gliva vrste <i>Beauveria brongniartii</i>	2
3.1	Opis glive v čisti kulturi	3
3.2	Micelij na naravnem substratu	3
3.3	Življenjski pogoji	3
3.4	Negativni učinki glive <i>Beauveria brongniartii</i> na neciljne organizme	4
3.5	Pripravki na osnovi <i>Beauveria brongniartii</i>	4
3.6	Delovanje entomopatogene glive vrste <i>Beauveria brongniartii</i>	5
4	Problematika prerezamnoževanja poljskega majskega hrošča in uporaba entomopatogene glive <i>Beauveria brongniartii</i>	5
4.1	Evropa	5
4.2	Slovenija	5
4.3	Preučevanje možnosti zatiranja ogrcev poljskega majskega hrošča z glivo <i>Beauveria brongniartii</i>	6
4.4	Kombinirane metode zatiranja	6
5	Literatura	7

1 Uvod

Biotično varstvo rastlin z uporabo entomopatogenih gliv je zanimivo in hitro razvijajoče raziskovalno področje, kjer sodelujejo strokovnjaki s področij rastlinske pridelave, zdravja ljudi in živali ter pridelave hrane. Vključuje množico pomembnih znanstvenih disciplin, kot so rastlinska patologija, ekologija, genetika, fiziologija, načini namnoževanja gliv, formulacije in načini aplikacije (Lacey in sod., 2001). Biotični agensi se uporabljajo na območjih, kjer so kemična sredstva za varstvo rastlin prepovedana (npr. vodovarstvena območja), so v opuščanju ali so postala neučinkovita zaradi razvoja odpornosti pri škodljivih organizmih.

2 Entomopatogene glive

Velika skupina gliv, tudi entomopatogenih, je izgubila sposobnost oblikovanja spolnih spor oz. jih oblikujejo redko. Takšne glive uvrščamo med višje glive, deblo Deuteromycota (Fungi imperfecti), razred Hyphomycetes (Lacey in sod., 2001). Glavna značilnost predstavnikov tega debela je tvorba micelija, ki na posebnih konidiogenih celicah nosi nespolne spore (konidije). Glive razreda Hyphomycetes oblikujejo konidije na miceliju. Poleg konidijev nekatere vrste oblikujejo tudi trajne spore, klamidospore. Najpogostejše vrste entomopatogenih rodov gliv iz razreda Hyphomycetes so *Aspergillus*, *Beauveria*, *Culcinomycetes*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium* in *Verticillium* (Inglis in sod., 2001).

2.1 Entomopatogene glive kot biotični agensi

Obstaja 700 vrst entomopatogenih gliv (Hajek in St. Leger, 1994). Leta 1998 je bilo na voljo približno 40 tržnih pripravkov za biotično varstvo, ki so narejeni na osnovi entomopatogenih gliv (Cook in sod., 1996; Whipps, 1997a, Fravel in sod., 1998). Dokazana je njihova učinkovitost proti velikemu številu različnih škodljivcev npr. rastlinjakov ščitkar (*Trialeurodes vaporariorum*), uši (Aphididae), tripsi (Thysanoptera), kobilice (Orthoptera), hrošči (Coleoptera) in drugi (Lacey in sod., 2001).

Na učinkovitost biotičnih pripravkov vpliva kompleksna množica biotskih in abiotskih dejavnikov: sončno obsevanje; mikrobní antagonisti; vedenje gostitelja, njegova fiziologija, starost in vigor; prisotnost fitofarmaceutskih sredstev; primerna temperatura, vlažnost in vstopna mesta za inokulum (Lacey in sod., 2001).

Za ustrezno učinkovitost sredstva moramo poiskati tudi primerno formulacijo pripravka, ga aplicirati na rastlino oz. na škodljivce v ustrezni količini in pravočasno. Odločitev o času nanašanja biotičnega pripravka je odvisna predvsem od zastopanosti dovzetnega gostitelja v ustreznem razvojnem stadiju, ugodnih okoljskih dejavnikov in mora biti v skladu z drugimi kmetijskimi opravili (namakanje, uporaba fungicidov) (Lacey in sod., 2001). Z uporabo semiokemikalij v vabah, ki privabljajo odrasle žuželke lahko ustrezno izboljšamo učinkovitost sredstev. Vabe inokuliramo s sporami gliv, ki okužijo odrasle žuželke, ko priletijo do njih ter se ob naslednjem stiku s tlemi prenesejo na ličinke škodljivca (Klein in sod., 1999), kot je to primer pri zatiranju ličink gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani*) z glivo *Beauveria brongniartii* (Koller in sod., 2005).

Uporabnost pripravkov na podlagi entomopatogenih gliv je v primerjavi s konvencionalnimi fitofarmaceutskimi pripravki povezana predvsem z njihovo učinkovitostjo in ceno. Prednosti biotičnih pripravkov vključujejo varnost ljudi in drugih neciljnih organizmov, zmanjševanje nevarnih ostankov v hrani, povečanje aktivnosti drugih naravnih sovražnikov, ohranjanje oz. povečanje biološke raznolikosti v okolju. Pomembna prednost je tudi, da je nanašanje mogoče s konvencionalno opremo in možnost dolgega shranjevanja pripravkov. Slabosti biotičnih pripravkov so povezane predvsem z odpornostjo ciljnih organizmov na tovrstne pripravke, hitrostjo delovanja, s specifičnim delovanjem (preširok ali preozek spekter ciljnih organizmov, na katere učinkujejo) in visokimi stroški (Lacey in sod., 2001).

2.2 Patogeneza pri entomopatogenih glivah

Konidiji večine entomopatogenih gliv razreda Hyphomycetes se trdno pritrdijo na kutikulo žuželk. Po vzpostavitvi stika med hifo, konidijem ali drugim organom glive, ki je sposoben okužbe, poteče kalitev in tvorba struktur, ki omogočajo prodiranje skozi kutikulo. Entomopatogene glive prodirajo v notranjost gostitelja na mehanski način oz. s pomočjo gostitelja. Gliva se širi s hifami in poskuša premagovati obrambne mehanizme gostitelja. Smrt gostitelja nastopi zaradi prekinitve dovoda hranil, fizičnih ovir in/ali nastankom oz. izločanjem toksinov npr. beauvericin, bassianolid in oosporein pri glivi *Beauveria bassiana*.

Po smrti gostitelja micelij glive v ugodnih razmerah izrašča iz kadavra, oblikuje konidiogene celice, sledi sporulacija na površini odmrlega organizma in sproščanje konidijev v okolico. Pri širjenju konidijev sodelujejo različni prenašalci, kot so dež, veter, žuželke (Boucias in sod., 1988, 1991).

3 Entomopatogena gliva vrste *Beauveria brongniartii*

Polno ime glive je *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, *Trans. Br. mycol. Soc.* 10(4): 249 (1926) in jo uvrščamo v ustrezne taksonomske enote: Fungi, Ascomycota, Ascomycetes, Leotiomyetidae, Helotiales, Sclerotiniaceae. Obstaja veliko sinonimov za glivo:

Beauveria melolonthae (Sacc.) Cif., *Estac. Agron. de Moca*, B 14: 169 (1929)

Beauveria tenella (Sacc.) D.M. Macleod, *Aphor.* 6(1): 35 (1937)

Botrytis bassiana subsp. *tenella* (Sacc.) Sacc., *Michelia* 2(no. 8): 544 (1882)

Botrytis brongniartii Sacc., *Syll. fung.* (Abellini) 10: 540 (1892)

Botrytis melolonthae Sacc., *Annls mycol.* 10(3): 320 (1912)

Botrytis tenella Sacc., *Fungi italica*: tab. 692 (1881) [1874]

Isaria kogane Haseg. & Koyama, *Teishitsu Rin'yakyoku Tokyo Tingyo Shikenjo ringyo shiken*

Hokoku 4(1): 29, 35 (1941)
Isaria tenella (Sacc.) Giard, (1891).

Gliva je razširjena v Evropi, Aziji, Afriki, in Južni Ameriki. Obstajajo pisni podatki o zastopanosti glive v Belgiji, na Danskem, Franciji, Italiji, Švici, Avstriji in Nemčiji (CAB ABSTRACTS 1970-2004). V Sloveniji je bila gliva prvič najdena in potrjena z eno izmed molekularnih metod na Kmetijskem inštitutu Slovenije leta 2005, v vzorcih tal iz Črnovrške planote.



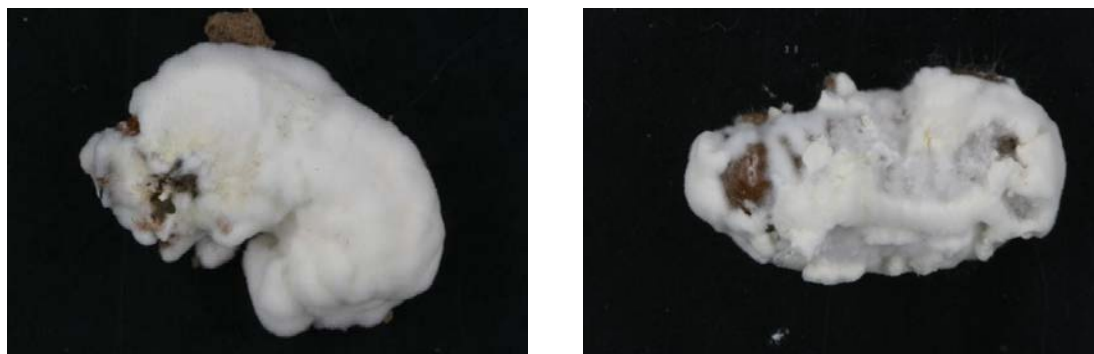
Kadaver ogrca poljskega majskega hrošča v tleh Črnovrške planote (foto:N.Valič).

3.1 Opis glive v čisti kulturi

Je haploidna filamentozna hifomicetna gliva. Kolonije glive *in vitro* dosežejo v osmih dneh premer 10-16 mm, imajo volnat, kosmat, žameten do praškast, včasih vlaknat videz. V višino merijo do 5 mm. Sprva so bele barve, pozneje se pogosto obarvajo rumenkasto do rožnato, redkeje rdečkasto do škrlatno. S spodnje strani je kolonija neobarvana ali rumenkasta do oranžna, redkeje rdeča ali škrlatna. Izcedek in vonj nista prisotna. Hife so brezbarvne z gladkimi stenami, široke 1,5 – 3 μm . Tudi hife zračnega micelija so hialine z gladkimi stenami, 1 – 4 μm široke, plazeče ali zavite navzgor, nosijo majhne skupinice ortotropnih ali rahlo plagiotropnih stranskih celic, iz katerih lahko ob nadaljnjem razvejanju nastanejo okroglaste konidiogene celice. Konidiogene celice so navadno razporejene v majhne skupinice ali posamično vzdolž hif. Konidiji so hialini, gladki, eliptični, redko okroglasti, najširši na sredini. Lahko imajo tudi koničasto bazo. Povprečna velikost 2,5 x 3 μm . Klamidospor niso našli.

3.2 Micelij na naravnem substratu

Na naravnem substratu je micelij volnat do praškast, redko vlaknat, rumenkast, včasih rdečkast. Hife zračnega micelija nosijo konidije, ki so pogosto bolj grozdličasti kakor v čisti kulturi.



Micelij glive *Beauveria brongniartii* na kadavru ogrca poljskega majskega hrošča (foto: F.Celar)

3.3 Življenjski pogoji

Optimalne temperature za razvoj glive so med 20 in 25°C. Poskusi kažejo, da ima vnos glive *Beauveria brongniartii* v tla v obdobju od maja do avgusta za posledico povečanje gostote glive v tleh, medtem ko vnos glive v jeseni, od oktobra do novembra, ne vpliva na povečanje gostote glive (Kessler

in sod., 2003). Najugodnejši odstotek v tleh je 57%, za preživetje 29%. Različna vsebnost vlage ne vpliva na virulentnost preučevane glive (Piatti in sod., 1995).

Na rast in razvoj glive vplivata tudi tekstura in struktura tal. Vsebnost ilovice v tleh, ne glede na sestavo tal, ugodno vpliva na zastopanost glive. Tla z visoko vsebnostjo organskih snovi in posledično s povečano mikrobiološko aktivnostjo tal (katalazna aktivnost), negativno vplivajo na zastopanost glive v tleh (Kessler in sod., 2003).

Bistvenega pomena za preživetje glive na nekem območju je prisotnost ličink gostitelja (ogrcov) poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*). Raziskave kažejo, da veliko število gostitelja bistveno poveča gostoto glive v tleh, medtem, ko se zmanjša hkrati z upadanjem populacije ličink hrošča. V tleh, v katerih so zastopane ličinke majskega hrošča, gliva lahko okuži 75% populacije. Po prvem vnosu glive *Beauveria brongniartii* v tla se je po dveh rastnih dobah njena gostota v odsotnosti ciljnih organizmov znižala za 89%, za razliko od tal, kjer so bili gostitelji še zastopani (41% znižanje gostote). Gostota glive *Beauveria brongniartii* se postopno začne zniževati, ko se populacija ličink poljskega majskega hrošča zmanjša za 46 %.

Drastično znižanje zastopanosti glive *Beauveria brongniartii* zaradi upada števila ličink gostitelja priča o visoki specifičnosti delovanja glive na ličinke poljskega majskega hrošča (*Melolontha melolontha*) (Kessler in sod., 2004).

3.4 Negativni učinki glive *Beauveria brongniartii* na neciljne organizme

Entomopatogena gliva *Beauveria brongniartii* bi lahko imela negativne stranske učinke na neciljne organizme, ki živijo v tleh. Najbolj so ogroženi naravni sovražniki poljskega majskega hrošča, predvsem hrošči iz družine Carabide (brzci), ki se prehranjujejo z ogrci majskega hrošča. Weisateiner in sod. (v tisku) so hranili ličinke treh vrst brzcev (*Poecilus versicolor*, *Poecilus cupreus* in *Clivina fessor*) z entomopatogeno glivo *Beauveria brongniartii* okuženimi ogrci majskega hrošča. Podobno raziskavo je izvedel tudi Traugott s sodelavci (2005) na brzcu vrste *Poecilus versicolor*. Rezultati obeh raziskav kažejo, da gliva ni pomembno vplivala na preučevane hrošče.

Gliva ne vpliva na ličinke gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani*), ki je v Sloveniji zaščitena vrsta (Rhode in sod., 1994; Rhode, 1996). Ugotovljeno je tudi, da gliva negativno ne vpliva na deževnike vrste *Lumbricus terrestris*. V poskusu niso odkrili niti enega primerka, okuženega z glivo (Hozzank in sod., 2003).

Strasser in sodelavci (2000) so ugotovili da gliva in njeni metaboliti niso fitotoksični, rastline ne absorbirajo nobenega od metabolitov oz. se zelo hitro detoksificirajo. Drugi raziskovalci so nanašali metabolite entomopatogenih gliv na rastline in ugotovili, da z eno izjemo, ne povzročajo kloroz in nekroz (Amiri in sod., 2000; Bandani in sod., 1999, 2000).

Sredstva na osnovi glive *Beauveria brongniartii* so registrirana po EU direktivi 91/414/EEC, s čimer je zagotovljena tudi neškodljivost za ljudi (Neale in sod., 1999).

3.5 Pripravki na osnovi *Beauveria brongniartii*

Pripravke na osnovi glive *Beauveria brongniartii* proizvajajo nekatere evropske družbe in imajo različna komercialna imena (Butt in sod., 1999):

- Engerlingspilz®
- *Beauveria* Schweizer®
- Betel®
- Melocont® - Pilzerste

Priporoča se uporaba 20 – 30 kg Melocont – ječmena (ječmen, preraščen z micelijem glive *Beauveria brongniartii*) / ha dvakrat letno za optimalno varstvo rastlin (Strasser, 1999).

Proizvajalci sredstva Engerlingspilz® priporočajo vnos 30-50kg/ha med rastno dobo, ista količina je priporočena tudi pri pripravku *Beauveria* Schweizer® (<http://www.blw.admin.ch>). Podatkov za priporočeno količino pripravka Betel nismo našli.

3.6 Delovanje entomopatogene glive vrste *Beauveria brongniartii*

Entomopatogene glive izločajo množico sekundarnih metabolitov z relativno nizko molekulsko maso. Nekateri učinkujejo antibiotično, drugi vplivajo na patogenezo gliv (Amiri in sod., 1999; Bandani in sod., 2000). Malo je znano o njihovih lastnostih in nastajanju (Amiri in sod., 2000). Sekundarni metaboliti glive *Beauveria brongniartii* vsebujejo basianin, beauvericin, oosporein in tenelin (Roberts, 1981; Khachatourians, 1991).

Beauvericin ima antibakterijski učinek (Ovchinnikov in sod., 1971) in zmerne insekticidne lastnosti (Suzuki in sod., 1977). Basianin in tenelin sta rumena pigmenta, ki zavirata ATPaze eritrocitnih membran (Jeffs in sod., 1997). Rdeči dibenzokinon oosporein oksidira proteine in aminokisline s spreminjanjem SH - skupin, kar povzroča encimske motnje (Wilson, 1971). Je učinkovit antibiotik proti gram-pozitivnim bakterijam, v manjši meri učinkuje tudi proti gram-negativnim bakterijam (Taniguchi in sod., 1984). Ne učinkuje na rastline in glive (Brewer in sod., 1977).

Iz komercialnih izolatov glive *Beauveria brongniartii* so izolirali le oosporein, drugih omenjenih metabolitov z uporabo visoko občutljivih tehnik (HPLC in MS) niso ugotovili (Strasser in sod., 2000).

4 Problematika prerazmnoževanja poljskega majskega hrošča in uporaba entomopatogene glive *Beauveria brongniartii*

4.1 Evropa

V zadnjih letih iz vse več držav, ki imajo alpsko (Avstrija, Švica, Italija–južna Tirolska, Slovenija) ali druga hladnejša podnebja (Danska) poročajo o škodi, ki jo povzroča poljski majski hrošč.

Razlog za razmnožitev bi lahko iskali v otoplitvah podnebja v zadnjem desetletju, ko blage zime ne doprinesejo k naravnemu propadanju talnih škodljivcev.

V Sloveniji so problem izpostavili zlasti na Idrijskem, kjer je bil škodljivec omenjen že v tridesetih in petdesetih letih prejšnjega stoletja. V zadnjem času so ugotovili močnejše pojave odraslih hroščev v letih 1989, 1992, 1995, 1998, 2001 in 2004. Naslednje hroščevo leto bo 2007.

4.2 Slovenija

Od leta 2002 dalje iz območja Črnovrške planote (zaselki Zadlog in Idrijski Log) ter iz Črnega vrha poročajo o škodi na kmetijskih površinah. Planota se nahaja na nadmorski višini 650–750m in je sestavljena iz kraških polj z značilnimi vrtačami in brezni. Celotno območje je vodovarstveno območje. Prevladujejo pašniki in travniki, njivskih površin je malo. Na tem območju se ukvarjajo predvsem z govedorejo oz. pridelavo voluminozne krme.

Leta 2002 so ogrci tretjega larvalnega stadija popolnoma uničili travno rušo na 370ha (60–120 ogrcev/m²). Po množičnem letu hroščev v maju 2004 je bila ponovno ugotovljena visoka gostota ogrcev v tleh (48–170/m²), v letu 2005 je bilo najbolj prizadetih okrog 561ha travnikov, od tega 60% intenzivnih in 40% ekstenzivnih.



Prenamnožitev poljskega majskega hrošča, uničeni pašniki na Črnem Vrhu (foto: F.Celar).

4.3 Preučevanje možnosti zatiranja ogrcev poljskega majskega hrošča z glivo *Beauveria brongniartii*

Glede na ranljivost celotnega kraškega ekosistema je na ogroženem območju edini primeren način zatiranja ličink poljskega majskega hrošča uporaba entomopatogene glive *Beauveria brongniartii*.

Prva uporaba te glive je znana iz Švice, ko so v letih med 1985 in 1988 na 4000ha naselili micelij glive za zatiranje ličink. Na Tirolskem v Avstriji ličinke majskega hrošča uspešno zatirajo z glivo *Beauveria brongniartii* že od leta 1993. Glivo iste vrste za obvladovanje populacij majskega hrošča uporabljajo še v Italiji, Nemčiji, Franciji, Nizozemski in Danski.

V občini Idrija so na napadenih površinah v tla vnašali glivo *Beauveria brongniartii*, ki jo proizvajajo kot formulacijo MELOCONT® - Pilzgerste. Specifičen sev glive je neposredno namnožen v laboratoriju na steriliziranih zrnih ječmena, ki jih s posebno sejalnico sejemo v travno rušo, setvena razdalja je 10 x 10cm. Gliva živi na zrnih ječmena, dokler ne najde ciljnih organizmov, ogrcev v tleh, jih okuži, na njih se razvija in se ohranja v tleh. V času odlaganja jajčec se samice okužijo in posledično ležejo manjše število in manj vitalna jajčeca.

Vnos in uporaba glive *Beauveria brongniartii* sta dovoljena za zatiranje ogrcev majskega hrošča na znosno raven, ki je 10 ogrcev/m². Glivo se kot komercialni pripravek vnaša v količini 30 – 50kg/ha. Priporočeno je vnašanje v »split aplikaciji«, kar pomeni v dveh zaporednih rastnih dobah po 35kg/ha. Dokazano je namreč, da zastopanost 2x 10⁴ CFU/g tal zadosti za uspešno zmanjševanje populacije ogrcev (Keller in sod., 2003).

Ob zastopanosti ogrcev poljskega majskega hrošča lahko gliva preživi v tleh celo 13 let (Keller, 2000).

Čeprav je dokazano, da gliva nima negativnih učinkov na okolje, bi se v primeru negativnih vplivov na naravno ravnovesje in biotsko raznovrstnost vnos glive prekinil. Sanacijo bi izvajali s kemijskim zatiranjem ogrcev, s čimer bi odstranili ciljnega gostitelja glive ter zmanjšali njeno gostoto in preživetje (Keller, 2000). Menimo, da kemijsko zatiranje ogrcev na področju Črnega vrha zaradi specifičnosti območja (vodovarstveno območje) ni primerno.

4.4 Kombinirane metode zatiranja

Ruther in sodelavci so poskušali razviti primerno vabo za privabljanje roječih samcev poljskega majskega hrošča. Uporabili so kombinacijo sintetičnih rastlinskih hlapnih snovi, kakršne oddajajo listi ob mehanskih poškodbah in spolnega feromona 1,4- benzokinona. V tridesetih minutah se je v vabe ujelo več kot 300 samcev (Ruther in sod., 2002).

Preizkušali so tudi različne tipe pasti, najučinkovitejša sta tipa FU (Free University of Berlin) in BBA (Institute for Biological Control). Pri ugotavljanju učinkovitosti vab je potrebno dobro poznati načine hroščevega gibanja in skrivanja. Pomembna je tudi višina nastavljanja pasti, saj število ulovljenih samcev narašča z višino (Koller in sod., 2005).

Glavni problem pri uporabi glive *Beauveria brongniartii* predstavlja njeno vnašanje v tla, kjer se nahajajo ciljni organizmi. Keller s sodelavci (1997) je s helikopterji nanašal suspenzijo blastospor na obronke listnatih gozdov, napadenih s poljskim majskim hroščem. Samice, ki so odlagale jajčeca so bile vektor vnosa glive v tla. Zaradi velike količine suspenzije blastospor, ki je potrebna pri takšnem načinu zatiranja takšen način vnašanja antagonista v tla ni primeren (Keller in sod., 1997).

V nekaterih nemških deželah so se v zadnjem letu prenamnožile ličinke gozdnega majskega hrošča (*Melolontha hippocastani*). Za rešitev problema je Koller s sodelavci (2005) uporabili kombinirano metodo, imenovano »Catch and Infect«. Samci se okužijo v feromonski vabi, kjer je micelij entomopatogene glive *Beauveria brongniartii* s sporami. Zanimale so jih možnosti prenosa spor s samcev na samice med parjenjem ter z okuženih samic med odlaganjem jajčec v tla oz. na ciljne organizme. Rezultati so pokazali, da je bila okužba samcev v vabi uspešna, prav tako prenos spor s samcev na samice. Po izolaciji iz vzorcev tal micelija glive niso potrdili. Za neuspešen prenos spor glive v tla avtor kot možne vzroke navaja ekstremno vroče in suho poletje in umetno ustvarjene

razmere (mrežniki), ki so negativno vplivale na obnašanje hroščev. Zaradi aktualnosti problema potekajo nadaljnje raziskave (Koller in sod., 2005).

5 Literatura

- Amiri, B., Ibrahim, L., Butt, T.M. 1999. Antifeedant properties of destruxins and their use with entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for improved control of crucifer pests. *Biocontrol Science and Technology*. 487-498.
- Butt, T.M., Harris, J., Powell, K. 1999. Microbial biopesticides- The European Scene. *Biopesticides: use and delivery* (Menn, J., editor). 23-44.
- Hozzank, A., Keller, S., Daniel, O., Schweizer, C. 2003. Impact of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) on *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *OILB/SROP Bulletin*, Dijon, France. 26: 1, 31-34.
- http://www.blw.admin.ch/pflanzenschutzverz/pb_p4591_d.html
- Keller, S. 2000. Experiences in white grub control with the fungus *Beauveria brongniartii*. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie*. 12:1-6, 111-114
- Keller, S. 2000. Use of *Beauveria brongniartii* in Switzerland and its acceptance by farmers. *OILB/SROP Bulletin*, Dijon, France. 23:8. 67-71.
- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E., Brenner, H. 1997. Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol. Sci. Technol.* 7: 105-116.
- Kessler, P., Enkerli, J., Schweizer, C., Keller, S. 2004. Survival of *Beauveria brongniartii* in the soil after application as a biocontrol agent against the European cockchafer MM. *BioControl*. 49:5,563-581.
- Kessler, P., Keller, S. 2003. Influence of soil environmental on growth and persistence of *Beauveria brongniartii*. *OILB/SROP Bulletin*, Dijon, France. 26:1, 99-102.
- Koller, R., Jung, K., Scheu, S., Zimmermann, G., Ruther, J. 2005. Experiments on the applicability of the »Catch and Infect«-Technique using a combination of attractant traps with the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. *IOBC/WPRS Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes: Melolontha*. 28(2). 37-44.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K., Vail, P. 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? *Biological Control* 21: 230-248.
- Neale, M., Newton, P. 1999. Registration/ regulatory requirements in Europe. *Biopesticides: use and delivery* (Menn, J., editor). 23-44.
- Rhode, M. 1996. Experiments to reduce *Melolontha hippocastani* F. damages in the Hessian Rhein-Main-Plain. *OILB/SROP Bulletin*. 19:2, 89-94
- Rhode, M., Bressemer, U., Bornholdt, G., Brenner, U. 1996. Studies on the control of the forest chafer in southern Hessen in 1994. *Forschungsberichte – Hessische Landesanstalt für Forsteinrichtung, Waldforschung und Waldökologie*. 22, 122.
- Ruther, J., Reniecke, A., Hilker, M. 2002. Chemical orientation in *Melolontha* cockchafers. *IOBC/WPRS Bulletin. Integrated Control of Soil Pests »Melolontha«*. 25 (7). 15-20.
- Strasser, H. 1999. Evaluation of the efficacy of the biological agent *MelocontReg*. in fungal infected barley to control cockchafers. *Forderungsdienst*. 47:5, 158-159, 162-164.
- Strasser, H., Abendstein, D. 2000. Oosporein, a fungal secondary metabolite with antimicrobial properties. *OILB/SROP Bulletin*, Dijon, France. 23:8, 113-115.
- Traugott M., Weissteiner, S., Strasser H. 2005. Effects of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii* on the non-target predator *Poecilus versicolor* (Coleoptera: Carabidae). *Biological Control*. 33, 107-112.
- Weissteiner S., Strasser H., Traugott M. Risk assessment of *Beauveria brongniartii* for three carabid beetles. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes*. Papierok B (ed.). *IOBC/WPRS Bulletin*. In press.