

# Patogenost *Steinernema feltiae* i endofitskih mikroorganizama za kukuruznog moljca

---

**Kelemen, Betina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:595441>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Betina Kelemen, univ.bacc.ing.agr.

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo smjer Zaštita bilja

**PATOGENOST *STEINERNEMA FELTIAE* I ENDOFITSKIH MIKROORGANIZAMA  
ZA KUKURUZNOG MOLJCA**

**Diplomski rad**

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI U OSIJEKU

Betina Kelemen, univ.bacc.ing.agr.

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo smjer Zaštita bilja

**PATOGENOST *STEINERNEMA FELTIAE* I ENDOFITSKIH MIKROORGANIZAMA  
ZA KUKURUZNOG MOLJCA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof.dr.sc. Jasenka Čosić, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Ivana Majić, mentor
3. prof.dr.sc. Emilija Raspudić, član

Osijek, 2019.

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. Kukuruzni moljac.....	2
2.1.1. Prirodni neprijatelji jaja kukuruznog moljca.....	6
2.1.2. Prirodni neprijatelji gusjenica kukuruznog moljca.....	8
2.1.3. Prirodni neprijatelji kukuljica kukuruznog moljca.....	10
2.1.4. Prirodni neprijatelji odraslog stadija (leptira) kukuruznog moljca.....	11
2.2. Entomopatogene nematode <i>Steinernema feltiae</i> .....	12
2.3. Gljive u asocijacijama s kukcima.....	14
3. MATERIJAL I METODE.....	19
4. REZULTATI.....	23
5. RASPRAVA.....	27
6. ZAKLJUČAK.....	28
7. POPIS LITERATURE.....	29
8. SAŽETAK.....	33
9. SUMMARY.....	34
PRILOZI.....	35
POPIS TABLICA.....	35
POPIS GRAFIKONA.....	35
POPIS SLIKA.....	36
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	
BASIC DOCUMENTATION CARD	

## **KRATICE**

Bt – *Bacillus thuringiensis*

AcMNPV - *Autographa californica* nucleopolyhedro virus

RoMNPV - *Rachiplusia ou* nuclear polyhedrosis virus

## 1. UVOD

Kukuruzni moljac (*Ostrinia nubilalis* Hübner) je vrlo opasan štetnik kako u kukuruзу tako i u povrćarskim, cvjećarskim i drugim kulturama. Ovaj štetnik je ekonomski značajan za poljoprivrednike jer je izraziti polifag s mnogo biljnih vrsta kao domaćini. Štete nanosi gotovo na svim dijelovima biljke domaćina. Štete prave gusjenice bušeći hodnike u stabljikama, plodovima i klipu kukuruza. S obzirom da se moljac nalazi unutar biljaka, on je zaštićen od nepovoljnih vremenskih uvjeta, pa i velikog broja prirodnih neprijatelja. Razna istraživanja dokazuju da ipak postoji mogućnost suzbijanja kukuruznog moljca prirodnim neprijateljima u svim stadijima razvoja. Kemijsko tretiranje se najčešće provodi u povrtlarskim kulturama i sjemenskom kukuruзу kada se utvrdi kritična brojnost jaja i ličinki prvog stadija razvoja (Raspudić i sur., 2013.). U Europi i svijetu se sve češće koriste genetski modificirani, odnosno Bt hibridi kukuruza jer su otporni na nekoliko značajnih štetnika kukuruza (Orr i Landis, 1997.). Bt hibridi kukuruza sadrže endofitsku patogenu bakteriju *Bacillus thuringiensis*. Ova vrsta bakterije prisutna je u polju i u prirodnim populacijama (Urechean i Bonea, 2018.).

Cilj istraživanja je utvrditi prirodni mortalitet gusjenica i prirodne populacije endofitskih mikroorganizama u gusjenicama kukuruznog moljca, te potencijal entomopatogenih nematoda u suzbijanju ovog štetnika.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Kukuruzni moljac (*Ostrinia nubilalis* Hbn.)

Kukuruzni moljac je leptir koji pripada porodici plamenaca (Crambidae). Životni ciklus ovog štetnika pripada u skupinu kukaca s holometabolnom preobrazbom. To znači da tijekom svog života prolazi kroz potpunu preobrazbu koje podrazumijeva jaje, gusjenicu, kukuljicu i imago. Raspudić i sur. (2013.) utvrdili su velike štete od kukuruznog moljca na kukuruzu, povrću i brojnim drugim kulturama. Ženka je u većini slučajeva krupnija tijela i zdepastijeg tijela od mužjaka. Raspon krila ženki iznosi 25 do 30 mm i svjetlije je boje, dok kod mužjaka 20 do 25 mm i tamnije boje. Leptiri su svijetložute do svijetlosmeđe boje (Slika 1.). Ženka polaže jaja u skupinama od 2 do 70 komada na naličje (Slika 2.) ili na rukavac listova.



Slika 1. Ženka i mužjak kukuruznog moljca

(Izvor: <http://pubs.ext.vt.edu>)



Slika 2. Jaja kukuruznog moljca

(Izvor: <http://pissrbija.com>)

Iz jaja nakon 3 do 14 dana, ovisno o vremenskim uvjetima, izlaze ljetne gusjenice koje mogu narasti do 25 mm. Najpovoljniji vremenski uvjeti za razvoj gusjenica pri temperaturi zraka od 27°C i relativnoj vlazi zraka između 75 i 80%. Ljetne gusjenice se hrane ubušujući se u stabljike biljaka. U stabljici se razvijaju, kukulje i iz kukuljica izljeću leptiri druge generacije. Maceljski (2002.) navodi kako leptiri druge generacije najčešće izljeću u kolovozu. Nakon kopulacije druge generacije leptira, leptiri polažu jaja na biljke iz kojih izlaze zimske gusjenice. Zbog niskih temperatura i kratkih dana gusjenice u stabljici petog stadija se ne kukulje već ulaze u dijapauzu. U dijapauzi se gusjenice ne hrane i aktivnost im je svedena na minimum. Sve do proljeća gusjenice petog stadija ostaju u dijapauzi, u ostacima biljaka od prošle vegetacije.





Slika 3. Gusjenice kukuruznog moljca

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

Gusjenice (Slika 3.) su svijetloroze, sive do smeđe boje. Na leđnoj strani svakog segmenta tijela sadržavaju po četiri točkice sa dlačicama. Gusjenice kukuruznog moljca imaju pet stadija razvoja. Razvojni stadiji se mogu determinirati po širini glave, veličini tijela i dužini pronotuma. Zadnji stadij gusjenice predstavlja ujedno i zimski stadij u kojem moljac i prezimljuje. Gusjenice prezimljavaju u kukuruzovini ili u nekim drugim biljkama domaćinima (paprika, rajčica, jabuka, krizanteme, konoplje i slično). Zakukuljene gusjenice vrlo dobro podnose niske temperature (Slika 4.).



Slika 4. Kukuljica kukuruznog moljca

(Izvor: <http://web.entomology.cornell.edu>)

Leptiri prvih generacija počinju let u lipnju i u prvim danima srpnja. Najčešće prvo izljeću mužjaci, a nakon njih ženke. Leptiri su fotofilni i lete prema svjetlosti uglavnom ujutro i uvečer (Showers i sur., 2001.). Njihov let traje oko dvadeset dana, ali može i više. Broj generacija štetnika se razlikuje ovisno o područjima. U sjevernim područjima ima jednu generaciju godišnje (univoltni) dok u južnim područjima tri do četiri generacije godišnje (multivoltni) (Maceljski, 2002.). Gusjenice univoltnih populacija ulaze u obligatnu dijapauzu koja je genetski uvjetovana, a gusjenice multivoltnih populacija ulaze u fakultativnu dijapauzu koja je uvjetovana nepovoljnim vremenskim uvjetima (Reardon, 2006.). U našim krajevima kukuruzni moljac ima dvije generacije godišnje. Druga generacija se smatra štetnijom.

### 2.1.1. Prirodni neprijatelji jaja kukuruznog moljca

U Rumunjskoj su provodili istraživanja otpornosti Bt hibrida kukuruza prema štetnim vrstama kukaca. Utvrđeno je smanjenje broja kukuruznog moljca 2012. godine za čak 99,55% i 2013. godine za 100% (Urechean i Bonea, 2018.). Ženka kukuruznog moljca jaja odlaže na naličje listova. Ta jaja su izložena raznim prirodnim neprijateljima. U jugozapadnoj Slovačkoj od 1993. do 1996. godine su provedena istraživanja vazana uz proučavanje parazita jaja kukuruznog moljca. Godinama je brojnost parazitiranih jaja rasla. 1996. godine je u prosjeku bilo od 15 do 21% parazitiranih jaja. *Trichogramma evanescens* (Slika 5.) je parazitirala jaja u navedenom istraživanju (Cagan i sur., 1998.).



Slika 5. Osica *Trichogramma evanescens* tijekom parazitiranja jaja kukuruznog moljca

(Izvor: <http://www.endure-network.eu>)

Jajima kukuruznog moljca hrane se još ličinke zlatooke, *Coleomegilla maculata* (DeGeer) (Slika 7.), *Orius insidiosus* (Say) (Slika 6.) i *Harmonia axyridis* (Pallas). Ukoliko kukuruz sadrži veće količine peluda ili veći broj lisnih ušiju na listovima, predatori će se više hraniti njima nego jajima i u tom slučaju će biti smanjen učinak biološke kontrole (Musser i Shelton, 2003.).



Slika 6. *Orius insidiosus* (Say)

(Izvor: <https://extension.umd.edu>)



Slika 7. *Coleomegilla maculata* (DeGeer)

(Izvor: <https://bugguide.net> )

### 2.1.2. Prirodni neprijatelji gusjenica kukuruznog moljca

Godfrey i sur. (1991.) su provodili istraživanja 1987. i 1989. godine te su proučavali prirodne neprijatelje gusjenica kukuruznog moljca u Nebraskoj, U SAD-u. Istraživanjima su utvrdili vrste kukaca koje su doprinjeli smanjenju brojnosti gusjenica kukuruznog moljca. To su bile vrste *Eriborus terebrans* (Gravenhorst) (Slika 8.) i *Lixophaga* sp. (Slika 9.).



Slika 8. *Eriborus terebrans* (Gravenhorst)

(Izvor: <https://bugguide.net>)



Slika 9. *Lixophaga* sp.

(Izvor: <http://caterpillars.myspecies.info>)

Istraživanja su navedeni autori proveli u tretmanima s navodnjavanjem. Parazitirane gusjenice s ličinkama *E. terebrans* pronađene su u obje godine istraživanja. Zaraženost gusjenica ovim prirodnim neprijateljem je iznosila podjednako svake godine i to od 2 do 3% u prosjeku. Gusjenice parazitirane od *Lixophaga* sp. su utvrđene u manjoj brojnosti, te je u prosjeku nađeno oko 1,1% parazitiranih gusjenica. U drugom istraživanju prirodnih neprijatelja gusjenica kukuruznog moljca su se najdjelotvornije pokazala stjenice *Orius niger* Wolff i osica *Habrobracon hebetor* Say (Salmani i sur., 2014.). Coll i Bottrell (1992.) su utvrdili najveći mortalitet gusjenica u pazušcima listova, te u stabljikama kukuruza od *Orius insidiosus* (Say). Lewis i Johnson (1982.) su ispitivali patogenost virusa AcMNPV izoliranog iz *Autographa californica* (Speyer) i RoMNPV izoliranog iz *Rachiplusia ou* (Guenée). Oba virusa su značajno smanjili brojnost gusjenica kukuruznog

moljca u stabljikama kukuruza već četrnaest dana nakon primjene. Podaci ukazuju na veću patogenost virusa RoMNPV u kraćem vremenskom razdoblju od virusa AcMNPV. RoMNPV je smanjio brojnost gusjenica prve generacije za 65% i druge generacije za 32,9%. Kukuruzni moljac prezimljuje u stadiju gusjenice u ostacima kukuruzovine ili ostalim biljnim dijelovima na tlu. Ukoliko kukuruzovina nije zaorana u tlo divljač će se hraniti ostacima kukuruza i na taj način će doprinijeti smanjenju populacije kukuruznog moljca. Druge životinje, kao što su ptice također utječu na smanjenje brojnosti gusjenica i kukuljica kukuruznog moljca.



### 2.1.3. Prirodni neprijatelji kukuljica kukuruznog moljca

U prirodne neprijatelje kukuljica možemo ubrojiti trčke iz reda Coleoptera, porodice Carabidae. *Poecilus chalcites* (Say) i *Scarites quadriceps* (Chaudior) su se pokazali vrlo korisnim u biološkom suzbijanju kukuljica kukuruznog moljca (Prasifka i sur., 2006.).

Patogenost entomopatogenih nematoda u laboratorijskim uvjetima s kanadskim izolatima *Steinernema kraussei* (Slika 10.) i češkim izolatima *Steinernema feltiae* su provedena u uvjetima niskih temperatura (7°C), slično uvjetima u proljeće kada se kukuljice u prirodnim uvjetima javljaju. Istraživanja su provedena na gusjenicama i kukuljicama kukuruznog moljca. Entomopatogene nematode su u prosjeku prouzročile mortalitet od 48,3% do 88,3%. Utvrđena je značajna razlika između dvije vrste entomopatogenih nematode (Eculica i sur., 1997.).



Slika 10. *Steinernema kraussei*

(Izvor: <https://www.berlin.de>)

#### 2.1.4. Prirodni neprijatelji odraslog stadija (leptira) kukuruznog moljca

Odrasli moljci imaju značajno manji broj prirodnih neprijatelja od ostalih stadija iz razloga što su relativno brzi, odnosno dobri su letači. U slučaju prisustva nekog predatora imaju mogućnost brze migracije i bijega. Neprijatelji moljaca mogu biti ptice crnoglave strnadice koje moljce u letu uhvate.

Tretiranjem gusjenica kukuruznog moljca gljivom *Beauveria bassiana* (Bals.- Criv.) Vuill. (Slika 11.) i mikrosporidijem *Nosema pyrausta* došli su do rezultata kako prethodno navedeni prirodni neprijatelji smanjuju životni vijek odraslih oblika moljaca i značajno usporavaju produkciju jaja (Rahmann i sur., 2010.).



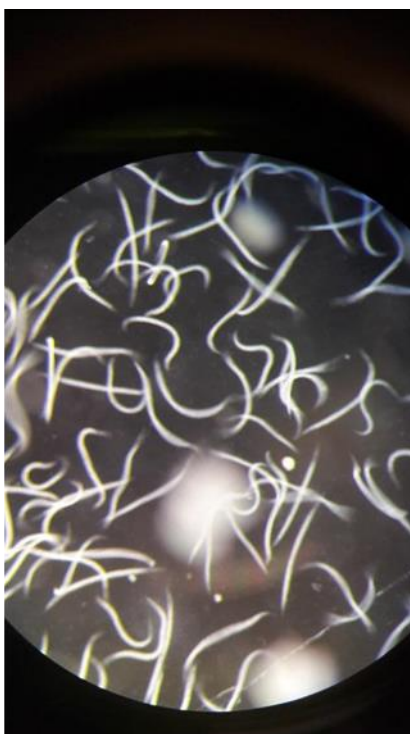
Slika 11. Parazitirana gusjenica kukuruznog moljca gljivom *Beauveria bassiana*

(Izvor: <https://www.forestryimages.org>)



## 2.2. Entomopatogene nematode *Steinernema feltiae* (Filipjev)

*Steinernema feltiae* (Slika 12.) je vrlo otporna i agresivna entomopatogena nematoda iz porodice Steinernematidae. Entomopatogene nematode iz porodice Steinernematidae i Heterorhabditidae se koriste kao biološki insekticidi (Gaugler, 2006.). Entomopatogene nematode su mikroskopski organizmi sposobni usmrtiti kukca. Oni su zapravo valjkasti crvi koji žive unutar tijela kukaca, a izlaze u trenutku kada su iscrpili sav izvor hrane u kukcu i u potrazi su za novim domaćinom.



Slika 12. *Steinernema feltiae*

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

Korištenjem entomopatogenih nematoda smanjuje se potreba za kemijskim pesticidima. Ove nematode mogu aktivno i pasivno tražiti štetne kukce u tlu, a da pri tome ne usmrćuju korisne. Aktivno traže domaćina kukca ukoliko se kreću prema njima, a pasivno ukoliko ih samo čekaju kako bi domaćini došli do njih. Najvažnije od svega je što nisu štetne za sisavce i okoliš. Campbell i sur. (1998.) dokazali su smanjenje štetnih kukaca po kvadratnom metru pri primjeni 250 000 individua entomopatogenih nematoda. *S. feltiae* živi u simbiozi s bakterijom *Xenorhabdus*

*nematophilus*. Infektivne ličinke ulaze u tijelo kukca kroz prirodne otvore gdje ispuštaju svoje simbiotske bakterije koje domaćina usmrte u roku od 48 sati. Simbiotski odnos nematoda i bakterija se uspješno održava jer nematode bakterijama pružaju utočište tijekom nepovoljnih vremenskih prilika dok bakterije zauzvrat nematodama pružaju hranu ubijajući domaćina. Životni ciklusi nematoda iz rodova *Steinernema* i *Heterorhabditis* se razlikuju u načinu razmnožavanja. Rod *Heterorhabditis* sadrži vrste u kojima su jedinke hermafroditne i dovoljna je samo jedna jedinka kako bi uspješno održala populaciju. Kod jedinki roda *Steinernema* se pojavljuju razlučeni spolovi što podrazumijeva obaveznu kopulaciju mužjaka i ženki za održavanje populacije. Životni ciklus nematode se sastoji od jaja, četiri stadija ličinke i odraslog oblika. Prvi stadij ličinke ima sposobnost zaraze štetnika. Ona je vrlo učinkovita u suzbijanju štetnika i pri nižim temperaturama od 10°C.

### 2.3. Gljive u asocijacijama s kukcima

Asocijacije gljiva i kukaca su istraživali Kubatova i Dvorak (2005.). Pretraživali su napuštena podzemna skloništa gdje su nailazili na uginule kukce. Sve kukce na kojima su uočili promjene uzrokovane gljivama su pokupili te detaljno pregledali. Među najčešće zaraženim kukcima identificirali su *Triphosa dubitata*, *Scoliopteryx libatrix* te neidentificirani komarcima. Na prikupljenim uginulim kukcima utvrđeno je 20 različitih gljiva od kojih je većina entomopatogena. Identifikacijom gljiva utvrdili su značajne entomopatogene *Cordyceps* sp. i *Paecilomyces farinosus* (Holmsk.) A. H. Br. i G. S. M. (Slika 13.). *Cordyceps* sp. je najčešće utvrđen na kukcima *Cicindela tuberculata* i *Cicindela riverae*, a utvrđen je i na neidentificiranim komarcima i s *Triphosa dubitata*.



Slika 13. Zaražena kukuljica gljivom *Paecilomyces farinosus*

(Izvor: <http://data.taieol.tw>)

Michailides i sur. (1992.) utvrdili su simbiozu sjajnika (*Carpophilus* sp.) i vinske mušice (*Drosophila melanogaster*) s gljivom *Mucor pirimiformis* A. Fisch. Autori su dokazali kako navedeni kukci prenose gljivu na zdrave plodove. Na zdravim plodovima su primjetili razvoj

zigospora. Na oštećenim plodovima su uočili jači razvoj zigospora što ukazuje da gljiva preferira već oštećene plodove voćaka.

*Fusarium* vrste u prirodi se pojavljuju kao korisni i štetni mikroorganizmi. *Fusarium* vrste nastanjuju žive i nežive biljke i životinje. Gljiva u interakciji sa štetnicima drva i brašnarima se pokazala nepatogena, čak poboljšava razvoj ličinki. Veliki broj *Fusarium* vrsta je entomopatogen. Patogenost *Fusarium* vrsta ovisi o domaćinu kukcu. Mikotoksini, kao što su trihoteceni i drugi sekundarni metaboliti, uzrokuju smrtnost termita, gusjenica, komaraca, nekih muha, dok zearalenon ima povoljan utjecaj na fekunditet božjih ovčica i štetan učinak na plodnost kod sisavaca (Teetor – Barsch i Roberts, 1983.).

Pojavu entomopatogenih gljiva ispitivali su Ali- Shtayeh i sur. (2003.) u navodnjavanim tlima voćnjaka i povrtnjaka u vremenskom razdoblju od travnja do prosinca 1999. godine. Utvrdili su pojavu entomopatogenih gljiva u 33,6% ispitivanih uzoraka tla. Pozitivni uzorci su ukazali na 70 gljivičnih izolata u koje pripadaju 20 vrsta iz 13 rodova. *Conidiobolus coronatus* (Costantin) Batko je utvrđena u najvećem broju uzoraka i to u 31,4% od ukupnog broja izolata. Vlaga tla, pH tla i zemljopisni položaj nisu imali utjecaj na izolaciju gljiva. Utvrđeno je da sadržaj organske tvari u tlu i vegetacija itekako utječu na pojavu entomopatogenih gljiva. U voćnjacima je pronađen veći broj izolata od povrtnjaka.

*Mucor* predstavlja rod plijesni od približno 50 vrsta koje se nalaze u tlu, na biljkama i raspadnutim biljnim dijelovima. Vrste su većinom saprofiti, ali mogu biti i fakultativni paraziti na biljkama, životinjama i čovjeku. *Mucor* vrste su lako prepoznatljive ukoliko se nalaze na namirnicama po karakterističnoj crnoj boji (Slika 14.).



Slika 14. *Mucor* na kruhu

(Izvor: <http://media.gettyimages.com>)

Gljiva ima mogućnost razmnožavanja vegetativno, spolno i nespolno. Vegetativnim načinom razmnožavanja se vegetativna stanica gljive fragmentira. Od svakog fragmenta u nepovoljnim uvjetima nastaje nova gljiva. Nespolno razmnožavanje se odvija kroz nespolne spore, kao što su: sporangiospore, hlamidospore i oidiospore. Spajanjem + i - talusa (vegetativnih tijela) gljiva nastaje zigota. Zigota je rezultat spolnog načina razmnožavanja. Povećavanjem zigote, zigota dobije debelu ovojnicu, te nastaju zigospore. Tijekom nepovoljnih vremenskih uvjeta zigospore miruju, a pojavom povoljnih vremenskih uvjeta iz zigospore nastaje promicelij koje predstavlja novo vegetativno tijelo gljive. Swer i sur. (2011.) istraživanjima su utvrdili prirodne populacije ovih gljiva u poljoprivrednim tlima. Brojnost utvrđenih gljiva se pokazala većima u tlima bogatim organskim gnojivima u usporedbi s negnojnim tlom.

Istraživanjem prirodne populacije *Zonocerus variegatus* utvrđena je visoka zaraženost odnosno sporulacija gljiva, i tood 76%. Izdvojeno je osam različitih gljiva. To su *Fusarium* sp. (8%), *Beauveria bassiana* (18%), *Metarhizium* sp. (20%), *Aspergillus flavus* L. (10%), *Penicillium* sp. (13%), *Aspergillus niger* van Tieghem (14%), *Mucor* sp. (13%) i neidentificirana gljiva (4%).

Ispitivanjem patogenosti entomopatogenih gljiva izoliranih iz tla, utvrđeno je da *B. bassiana* uzrokovala smrtnost kukaca 2 dana nakon primjene, dok je *Metarhizium* sp. uzrokovao smrtnost kukaca u roku od 5 dana. U istom istraživanju, *A. niger* nije dokazan kao patogen za skakavce. Istraživanje je provedeno u agroekosustavu na jugozapadu Nigerije (Balogun i Fagade, 2004.).

Lynch i Lewis (1978.) istraživanjima su dokazali prisutnost određenih gljiva na jajima kukuruznog moljca. Među prisutnim gljivama nalazile su se i gljive iz *Mucor* i *Fusarium* vrsta.

Rod *Fusarium* obuhvaća široku i raznoliku skupinu gljiva koja je značajna u poljoprivredi, prehrani, farmaciji i medicine. Rod gljiva se dijeli na saprofite, endofite i patogene ljudi, biljaka i životinja. Vrste ovoga roda su sposobne proizvoditi sekundarne metabolite gdje spadaju i mikotoksini. Leslie i Summerell (2008.) navode kako sekundarni metaboliti gljiva nisu neophodni za njihov razvoj. Mikotoksini koje proizvode *Fusarium* vrste su trihoteceni, zearalenoni i fumonizini koji mogu prouzrokovati probleme ukoliko uđu u probavni sustav ljudi i životinja.



Slika 15. Parazitizam kukca gljivom iz roda *Fusarium*

(Izvor: <http://www.canna-uk.com>)

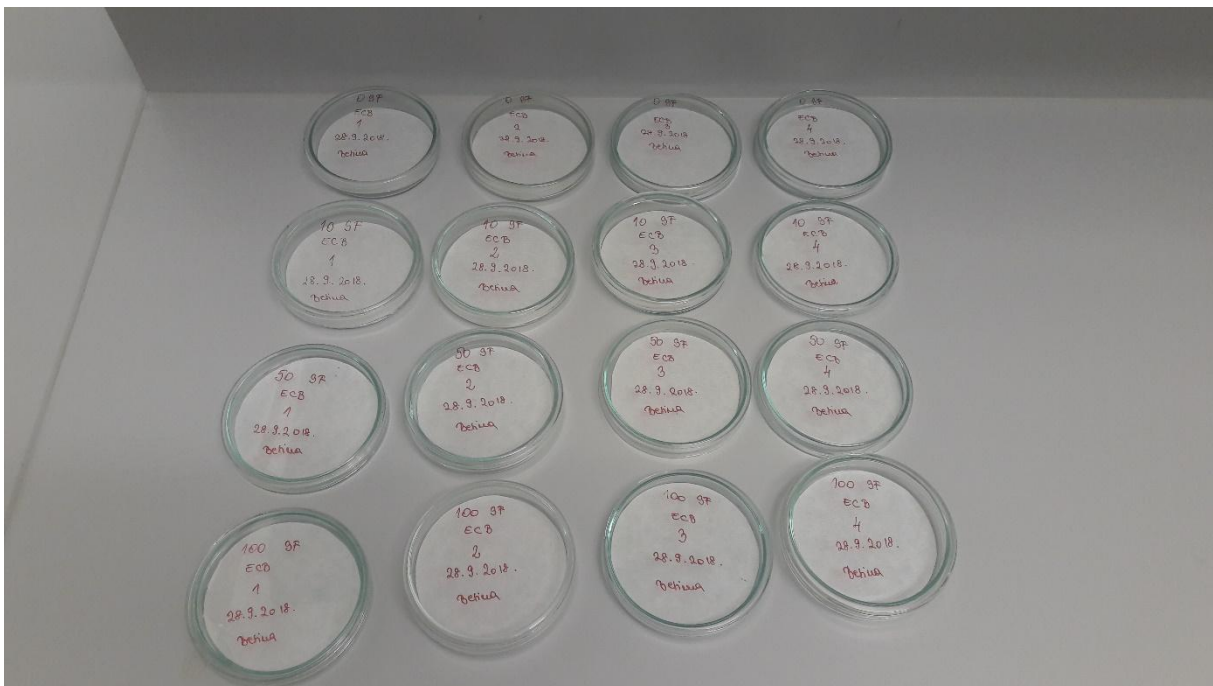
U rodu *Fusarium* prevladavaju pravi saprofiti dok manji broj predstavlja fakultativne parazite (Slika 15.). Antibiotici i mikotoksini su jedan drugom vrlo bliski, a to dokazuje patulin. Patulin sintetiziraju određene parazitske gljive iz roda *Fusarium*. Patulin kojega su smatrali antibiotikom, četrdesetak godina nakon toga se ispostavilo da se radi o opasnom mikotoksinu (Kišpatić, 1992.).

Od 2002. do 2004. godine su provedena istraživanja o utjecaju gljiva na različite hibride kukuruza ovisno o štetama na klipovima izazvanim gusjenicama kukuruznog moljca. Bt hibridi pokazali su se otpornijima na gljive poput *Fusarium* vrsta i kukuruznog moljca (Remesova i sur., 2007.). *Fusarium verticillioides* (Saccardo) je najčešća gljiva koja se pojavljuje na zaraženim kukuruznim zrnima i vegetativnom tkivu. Skakavci često se javljaju u brojnim populacijama te nanose ekonomsku značajnu štetu na usjevima. *Tropidacris collaris* (Stoll) je velik i proždrljiv skakavac koja posljednjih godina postaje sve učestaliji i rašireniji štetnik u sve većim područjima Argentine, a kemijski insekticidi su jedino dotpuno sredstvo za suzbijanje ovih štetnika. Tijekom veljače i ožujka 2008. godine ličinke i odrasli *T. collaris* sakupljani su mrežama u gustom šumskom raslinju i držali su ih u zatvorenim kavezima. *F. verticillioides* izoliran je s kukaca koji su uginuli u roku od 10 dana. Provedena su ispitivanja patogenosti i zabilježeni su pozitivni rezultati. Korištenjem tradicionalnih i molekularno-bioloških metoda, izolat *F. verticillioides* dobiven je iz *T. collaris*, a njegova patogenost u laboratoriju testirana je protiv drugog šetnog skakavca. Smrtnost uzrokovana *F. verticillioides* na *Ronderosia bergi* dostigla je  $58 \pm 6,53\%$  u roku od 10 dana nakon primjene. Ovo je prvi zapis prirodne infekcije uzrokovane *F. verticillioides* kod skakavaca (Pelizza i sur., 2011.).



### 3. MATERIJAL I METODE

U rujnu 2018. godine obavljeno je prikupljanje gusjenica posljednjeg stadija kukuruznog moljca. Prikupljanje se provodilo na selekcijskom polju Poljoprivrednog instituta Osijek. Prikupljeno je više od 200 gusjenica u sterilne plastične posudice. U svakoj pojedinoj plastičnoj posudici se nalazila po jedna gusjenica radi izbjegavanja mogućeg kanibalizma gusjenica. Kako bi se utvrdila patogenost entomopatogenih nematoda *Steinernema feltiae*, ali i prirodni mortalitet gusjenica kukuruznog moljca, u laboratorijskim uvjetima je postavljen pokus. Prirodni mortalitet gusjenica praćen je tijekom sedam dana, a gusjenice su čuvane u staklenim Petrijevim zdjelicama, na sobnoj temperaturi u mraku bez hrane i vode. Entomopatogene nematode *Steinernema feltiae* ISO16 (hrvatski soj) testirane su u koncentracijama 0, 10, 50 i 100 infektivnih ličinki nematoda po gusjenici. U staklene Petrijeve zdjelice postavljeno je dva okrugla filter papira (Whatman 1), te su navlaženi s 1 mL vode (Slika 16.).



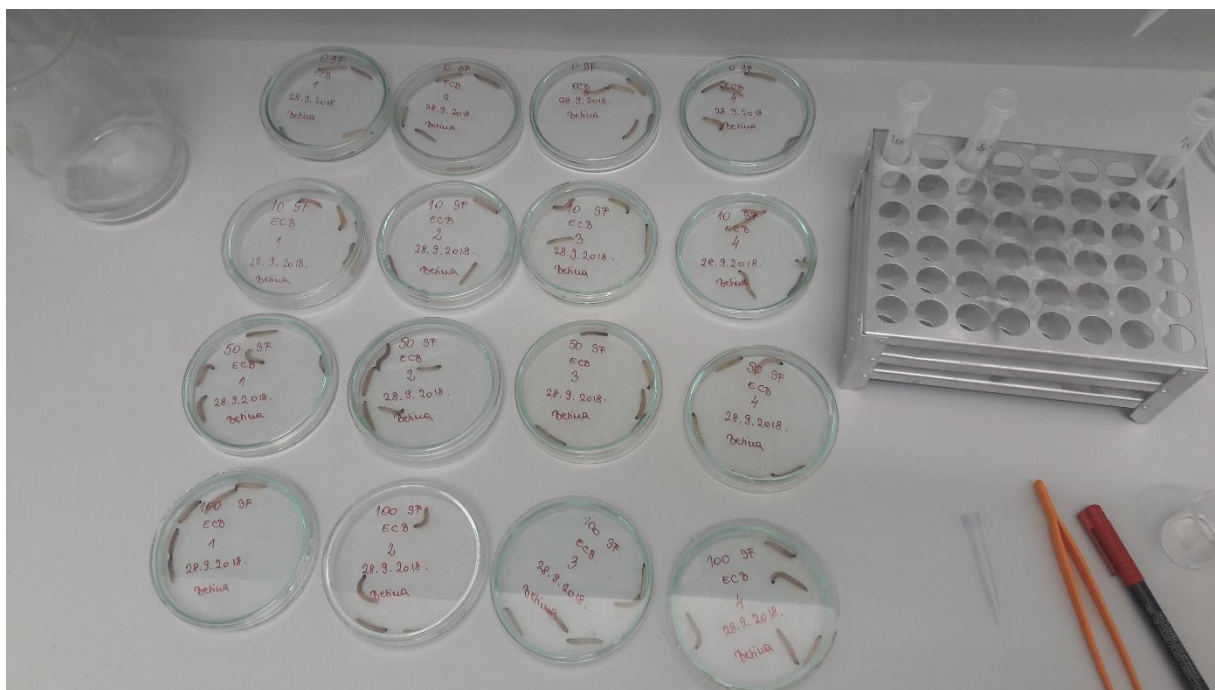
Slika 16. Navlaženi filter papiri s 1 mL vode

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

Kultura entomopatogenih nematoda se uzgaja i skladišti u Laboratoriju za nematologiju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek prema Majić i sur. (2019.). Infektivne ličinke nematoda su



koncentrirane u 1,5 mL vode te dodane na navlaženi filter papir. Nakon sat vremena dodano je po 5 gusjenica kukuruznog moljca u svaku pojedinu Petrijevu zdjelicu (Slika 17.).



Slika 17. Postavljen pokus s entomopatogenim nematodama *Steinernema feltiae* i gusjenicama kukuruznog moljca

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

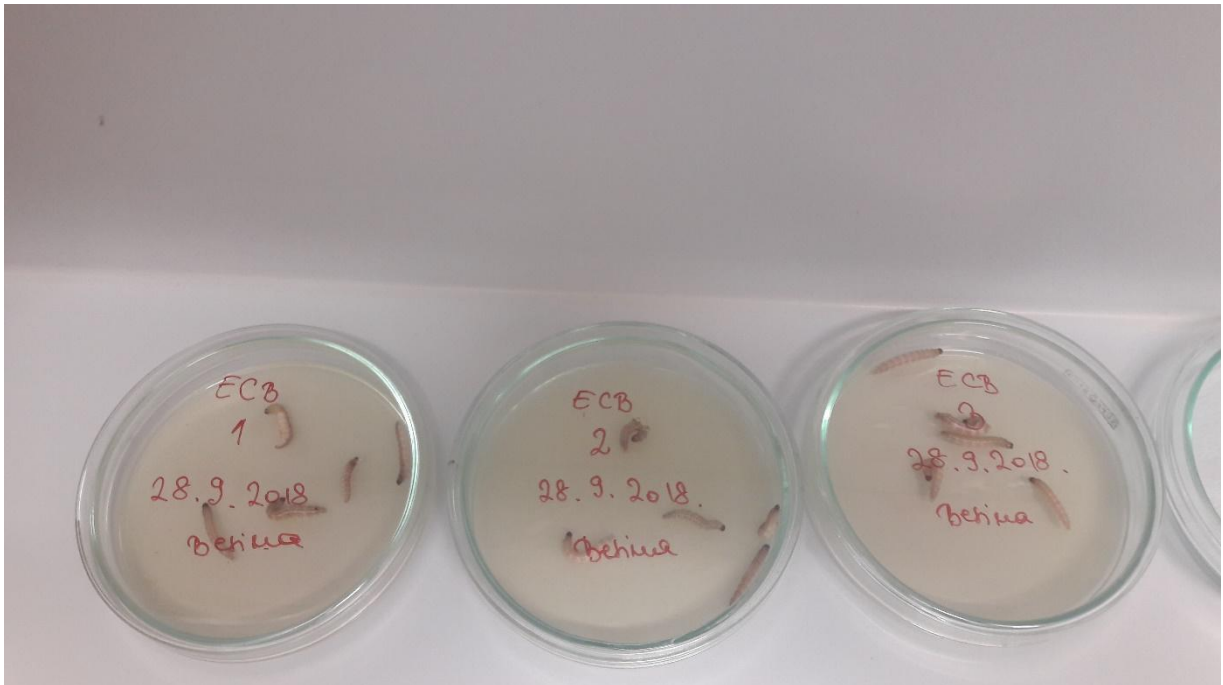
Pokus je proveden na sobnoj temperaturi, a mortalitet gusjenica je praćen 3., 5. i 7. dan nakon postavljanja pokusa. Uginule gusjenice postavljene su na *White*-ovu zamku (Slika 18.) kako bi se izdvojile nove generacije infektivnih ličinki entomopatogenih nematoda (Majić i sur., 2018.).



Slika 18. Uginule gusjenice na White-ovoj zamci

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

Osim pokusa s entomopatogenim nematodama postavljen je pokus radi izdvajanje populacije endofitskih mikroorganizama u gusjenicama (Slika 19.). Hranjive podloge (PDA) razlivene su u staklene Petrijeve zdjelice ( $\phi$  9 cm) prema standarnim metodama te su čuvane u hladnjaku na 4 °C do upotrebe. Na uginulim gusjenicama je obavljena disekcija te je sa steriliziranom iglom uzet bris koji je prenesen na hranjivu podlogu. Hranjive podloge s endofitskim organizmima uzgajane su na sobnoj temperaturi (oko 23 °C). Grupe endofitskih mikroorganizama iz gusjenica kukuruznog moljca identificirane su prema morfološkim karakteristikama.



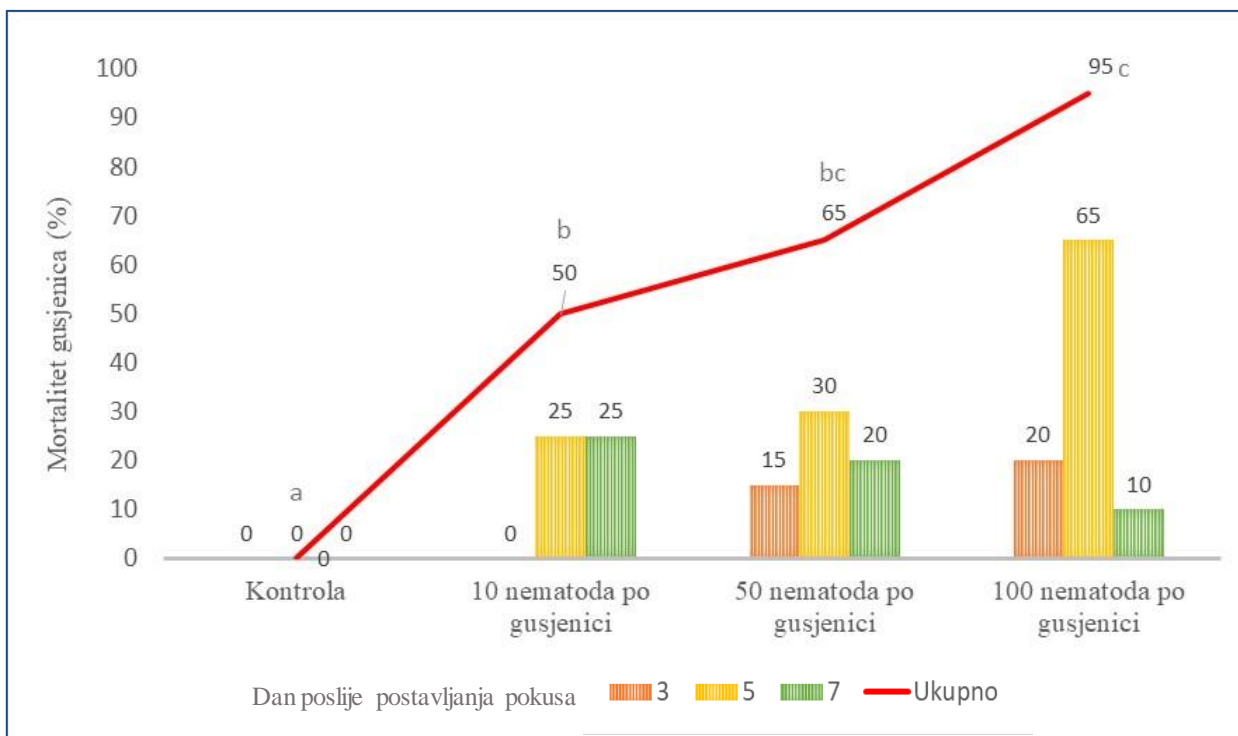
Slika 19. Postavljen pokus na PDA podlogama u cilju izdvajanja endofitskih mikroorganizama

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

Za statističku obradu podataka koristio se SAS/STAT (SAS Institute Inc., 2000.). Kolmogorov – Smirnov test nije ukazao na potrebu za transformiranjem brojnosti uginulih gusjenica. Nakon analize varijance za sve ispitivane parametre kod svih tretmana, razlike između srednjih vrijednosti su testirane Tukey testom ( $P < 0,05$ ).

#### 4. REZULTATI

U grafikonu 1. su prikazani rezultati patogenosti entomopatogenih nematoda *S. feltiae* za gusjenice kukuruznog moljca. Prvi pregled gusjenica je obavljen treći dan nakon postavljanja pokusa. Prvim pregledom nije utvrđen mortalitet gusjenica u kontroli i u tretmanima s koncentracijom od 10 nematoda po gusjenici, dok je u tretmanima s višim koncentracijama nematoda utvrđen mortalitet gusjenica od 15 do 20%.



Grafikon 1. Srednje vrijednosti mortaliteta gusjenica kukuruznog moljca u tretmanima s entomopatogenim nematodama *Steinernema feltiae* ISO16

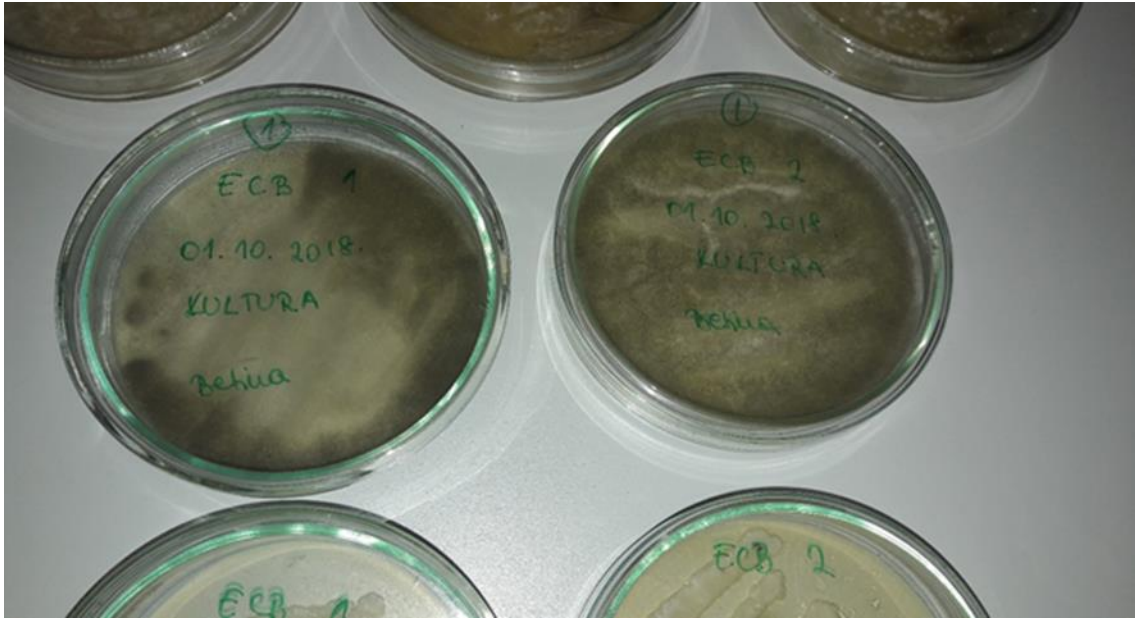
Peti dan nakon postavljanja pokusa u kontroli nije utvrđen mortalitet gusjenica, ali je u tretmanima s nematodama utvrđen mortalitet od 25 do 85%. Utvrđena je statistički značajna razlika u mortalitetu gusjenica između tretmana. Sedam dana nakon postavljanja pokusa u kontroli su sve gusjenice ostale žive, u tretmanu s 10 nematoda mortalitet gusjenica iznosio je 50%, u tretmanu s 50 nematoda je utvrđen mortalitet od 65%, a u tretmanu s 100 nematoda je utvrđen mortalitet od 95%. Statistički značajne razlike su utvrđene između kontrolnog tretmana i tretmana s entomopatogenim nematodama. Pri čemu je tretman od 100 nematoda po gusjenici imao statistički

značajno najveći mortalitet gusjenica te se razlikovao od kontrolnog tretmana kao i tretmana s 10 nematoda po gusjenici.

U tablici 1. su prikazani rezultati praćenja prirodnog mortaliteta gusjenica na hranjivim podlogama. Cilj ovog dijela pokusa je izdvajanje i identifikacija endofitskih mikroorganizama. Tablica 1. ukazuje na vrlo nizak prirodni mortalitet gusjenica. Na gusjenicama nisu uočeni simptomi napada patogena, niti su utvrđene prirodne populacije patogenih endofitskih mikroorganizama. Na hranjivim podlogama uzgojene su i identificirane gljive iz rodova *Fusarium* i *Mucor* (Slika 20. i 21.), te brojne populacije endofitskih bakterija (Slika 22.).

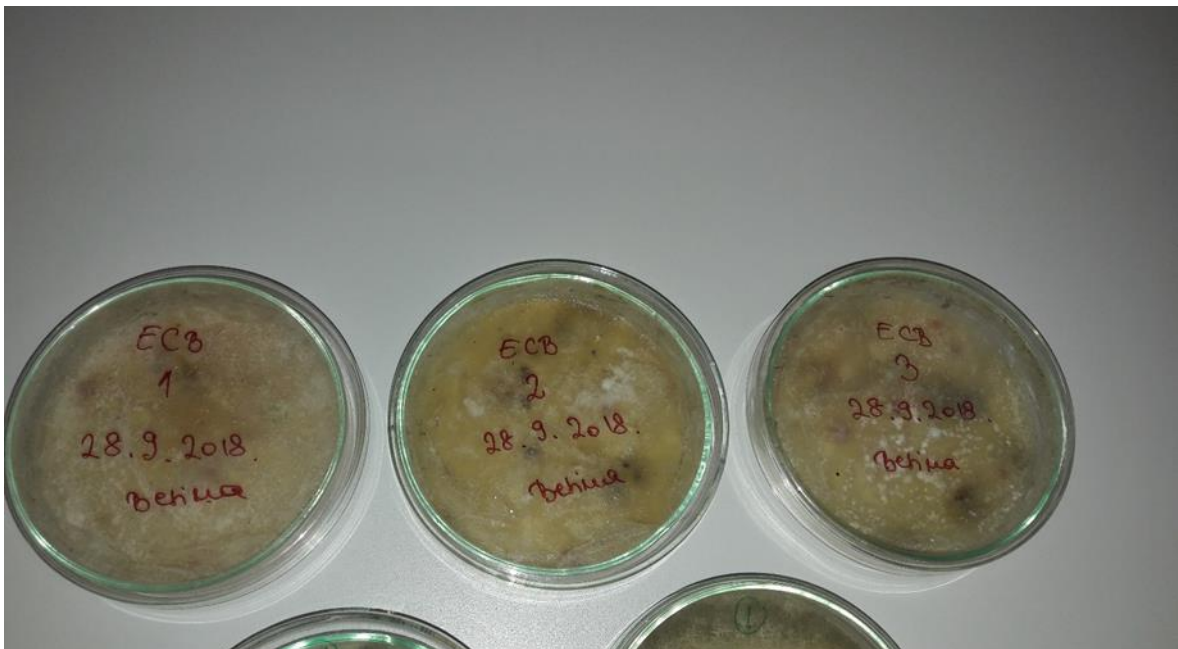
Tablica 1. Prirodni mortalitet gusjenica kukuruznog moljca na hranjivim podlogama 3., 5. i 7. dan nakon postavljanja pokusa

	<b>Mortalitet gusjenica (%)</b>			
	3. dan (1.10.2018.)	5. dan (3.10.2018.)	7. dan 5.10.2018.	Ukupni mortalitet
<b>Ponavljanje 1</b>	0	25	0	8,33
<b>Ponavljanje 2</b>	0	0	0	0
<b>Ponavljanje 3</b>	0	0	0	0
<b>Prosjek</b>	0	8,33	0	2,78



Slika 20. Izolirane gljive iz roda *Mucor* tijekom istraživanja

(Foto: B. Kelemen, 2018.)



Slika 21. Izolirane gljive iz roda *Fusarium* tijekom istraživanja

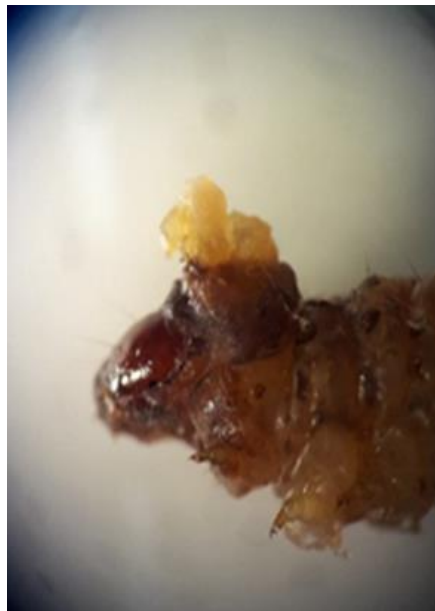
(Foto: B. Kelemen, 2018.)





Slika 22. Uzgojene populacije endofitskih bakterija iz gusjenica kukuruznog moljca

(Foto: B. Kelemen, 2018.)



Slika 23. Endofitska gljiva porasla iz glave gusjenice kukuruznog moljca

(Foto: B. Kelemen, 2018.)

## 5. RASPRAVA

Utvrđena je visoka patogenost hrvatskog soja *S. feltiae* ISO16 za gusjenice kukuruznog moljca. Ben-Yakir i sur. (1998.) su utvrdili slično, statistički značajan utjecaj entomopatogenih nematoda na mortalitet ovog štetnika kako u laboratoriju, tako i u pokusima u staklenicima izravno aplicirajući nematode na stabljike i listove kukuruza. Mortalitet gusjenica se također kretao iznad 50% te su zaključili da su ekonomski značajno zaštitili kukuruz koristeći entomopatogene nematode. Riga i sur. (2001.) su utvrdili da *S. feltiae* može statistički značajno smanjiti štete od kukuruznog moljca na kukuruzu u poljskim pokusima, te da se populacija nematoda prirodno održala u tlu do iduće vegetacije.

Fisher i sur. (1992.) su potvrdili da su zdrave biljke kukuruza bogate brojnim vrstama endofitskih bakterija i gljiva. Isti autori navode da su vrste iz rodova *Fusarium* česti nalaz u stabljici kukuruza, što ukazuje na razlog pronalaska ove gljive u probavi gusjenica kukuruznog moljca (Slika 23.). Gljive iz roda *Fusarium* su značajne zbog ostataka njihovih metabolita (mikotoksina) u kukuruzu, a neke vrste su značajni biljni patogeni, no mogu biti i entomopatogeni. Sobek i Munkvold (1999.) su utvrdili da su gusjenice kukuruznog moljca vektori ovih gljiva jer ih unose s površine u unutrašnjost stabljike kukuruza.

U ovom radu nisu iscrpljene sve metode izolacije patogenih organizama kao što su npr. virusi, pa se to preporuča za iduća istraživanja. Entomopatogene nematode *S. feltiae* pokazale su veliki potencijal kao biološki agenti u suzbijanju kukuruznog moljca, ali trebaju se testirati i na drugim stadijima ovog štetnika, te pokuse treba provesti u realnim uvjetima, u polju ili zaštićenom prostoru.



## 6. ZAKLJUČAK

Kukuruzni moljac se smatra opasnim štetnikom ne samo kukuruza već i ostalih povrtnih i cvjećarskih kultura. Primjena insekticida protiv kukuruznog moljca neće biti uspješna ukoliko se ne primijeni na vrijeme i zbog toga moramo štiti prirodne neprijatelje koji pomažu u borbi protiv ovog štetnika. Ovim pokusom je utvrđeno da su gusjenice kukuruznog moljca u vrlo dobrom zdravstvenom stanju u polju i otporne na utvrđene populacije *Fusarium* i *Mucor* gljiva, a entomopatogene nematode pokazale su 95% učinka u suzbijanju u laboratorijskim uvjetima. S obzirom da nisu utvrđeni endofitski patogeni diskecijom ovog štetnika, potrebno je analizirati i druge stadije kukuruznog moljca, kao i prirodne neprijatelje u polju koji su u interakciji s ovim štetnikom.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Ali-Shtayeh, M. S., Marai, A. B. B., Jamous, R. M. (2003.): Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. *Mycopathologia*, 156(3): 235-244.
2. Balogun, S. A., Fagade, O. E. (2004.): Entomopathogenic fungi in population of *Zonocerus variegatus* (l) in Ibadan, south west, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 3(8): 382-386.
3. Ben-Yakir, D., Efron, D., Chen, M., Glazer, I. (1998.): Evaluation of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on sweet corn in Israel. *Phytoparasitica*, 26(2): 101-108.
4. Cagan, L., Tancik, J., Hassan, S. (1998.): Natural parasitism of the European corn borer eggs *Ostrinia nubilalis* Hbn.(Lep., Pyralidae) by *Trichogramma* in Slovakia—need for field releases of the natural enemy. *Journal of Applied Entomology*, 122(1-5): 315-318.
5. Campbell, J. F., Orza, G., Yoder, F., Lewis, E., Gaugler, R. (1998.): Spatial and temporal distribution of endemic and released entomopathogenic nematode populations in turfgrass. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86(1): 1-11.
6. Coll, M., Bottrell, D. G. (1992.): Mortality of European corn borer larvae by natural enemies in different corn microhabitats. *Biological Control*, 2(2): 95-103.
7. Eculica, J. F., Bečvář, S., Mráček, Z., Kindlmann, P. (1997.): Laboratory evaluation of control of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hb.)(Lep., Pyralidae) by nematodes of the genus *Steinernema* (Nematoda, Steinernematidae) at low temperature. *Journal of Applied Entomology*, 121(1-5): 407-409.
8. Fisher, P. J., Petrini, O., Scott, H. L. (1992.): The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist*, 122(2): 299-305.
9. Gaugler, R., Adams, B., Bilgrami, A., Shapiro-Ilan, D. (2006.): Source of trait deterioration in entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* during in vivo culture. *Nematology*, 8(3): 397-409.

10. Godfrey, L. D., Godfrey, K. E., Hunt, T. E., Spomer, S. M. (1991.): Natural enemies of European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) larvae in irrigated and drought-stressed corn. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 64(3): 279-286.
11. Kišpatić, J. (1992.): Mikotoksini. U: Kišpatić, J. (ur.) *Opća fitopatologija*. Agronomski fakultet, Zagreb, 281-286.
12. Kubátová, A., Dvůrák, L. (2005.): Entomopathogenic fungi associated with insect hibernating in underground shelters. *Czech Mycology*, 57(3/4): 221.
13. Leslie, J.F., Summerell, B.A. (2008.): *The Fusarium laboratory manual*. John Wiley and Sons, Manhattan.
14. Lewis, L. C., Johnson, T. B. (1982.): Efficacy of two nuclear polyhedrosis viruses against *Ostrinia nubilalis* [Lep.: Pyralidae] in the laboratory and field. *Entomophaga*, 27(1): 33-38.
15. Lynch, R. E., Lewis, L. C. (1978.): Fungi associated with eggs and first-instar larvae of the European corn borer. *Journal of Invertebrate Pathology*, 32(1): 6-11.
16. Maceljški, M. (2002.): *Poljoprivredna entomologija*. Zrinski d.d., Čakovec
17. Majić, I., Sarajlić, A., Lakatos, T., Tóth, T., Raspudić, E., Zebec, V., Kanižai Šarić, G., Kovačić, M., Laznik, Ž. (2018.): First report of entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) from Croatia. *Helminthologia*, 55(3): 256-260.
18. Majić, I., Sarajlić, A., Lakatos, T., Tóth, T., Raspudić, E., Puškadija, Z., Kanižai Šarić, G., Laznik, Ž. (2019.): Virulence of new strain of *Heterorhabditis bacteriophora* from Croatia against *Lasioptera rubi*. *Plant Protection Science*, 55(2): 134-141.
19. Michailides, T. J., Morgan, D. P., Spotts, R. A., Beglinger, C., Odiét, P. A. (1992.): Role of nitidulid beetles and vinegar flies in the sexual cycle of *Mucor piriformis* in tree fruit orchards. *Mycologia*, 84(4): 488-496.
20. Musser, F. R., Shelton, A. M. (2003.): Predation of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs in sweet corn by generalist predators and the impact of alternative foods. *Environmental Entomology*, 32(5): 1131-1138.

21. Orr, D. B., Landis, D. A. (1997.): Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *Journal of Economic Entomology*, 90(4): 905-909.
22. Pelizza, S. A., Stenglein, S. A., Cabello, M. N., Dinolfo, M. I., Lange, C. E. (2011.): First record of *Fusarium verticillioides* as an entomopathogenic fungus of grasshoppers. *Journal of Insect Science*, 11(1): 70.
23. Prasifka, J. R., Schmidt, N. P., Kohler, K. A., O'neal, M. E., Hellmich, R. L., Singer, J. W. (2006.): Effects of living mulches on predator abundance and sentinel prey in a corn–soybean–forage rotation. *Environmental Entomology*, 35(5): 1423-1431.
24. Rahman, K. A., Barta, M., Cagaň, Ľ. (2010.): Effects of combining *Beauveria bassiana* and *Nosema pyrausta* on the mortality of *Ostrinia nubilalis*. *Open Life Sciences*, 5(4): 472-480.
25. Raspudić, E., Sarajlić, A., Ivezić, M., Majić, I., Brmež, M., Gumze, A. (2013.): Učinkovitost kemijskoga suzbijanja kukuruznoga moljca u sjemenskome kukuruzu. *Poljoprivreda*, 19(1): 11-15.
26. Reardon, B. J. (2006.): Ecological studies of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae): nosema dose-response, pheromone trapping and adult dispersal. *Retrospective Theses and Dissertations*. Paper, 1293.
27. Remesova, J., Kolarik, M., Prasil, K. (2007.): Microfungi on the kernels of transgenic and non-transgenic maize damaged by the European corn borer. *Czech Mycology*, 59(2): 205.
28. Riga, E., Whistlecraft, J., Potter, J. (2001.): Potential of controlling insect pests of corn using entomopathogenic nematodes. *Canadian Journal of Plant Science*, 81(4): 783-787.
29. Salmani, M. J., Fathi, S. A. A., Nuri, G. G., Razmjou, J., Taghizadeh, M., Rostami, A. A., Shaban, M. (2014.): Natural enemies of *Ostrinia nubilalis* (Hubner) and population density of pest and its dominant natural enemy on four corn hybrids in Moghan region. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2014: 216-222.
30. Sas Institute. (2000.): *JMP: Statistics and Graphics Guide*. Sas Inst.

31. Showers, W. B., Hellmich, R. L., Derrick-Robinson, M. E., Hendrix W. H. (2001.): Aggregation and dispersal behavior of marked and released European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) adults. *Environmental Entomology* 30(4): 700-710.
32. Sobek, E. A., Munkvold, G. P. (1999.): European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larvae as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. *Journal of economic entomology*, 92(3): 503-509.
33. Strong, D. R., Kaya, H. K., Whipple, A. V., Child, A. L., Kraig, S., Bondonno, M., Maron, J. L. (1996.): Entomopathogenic nematodes: natural enemies of root-feeding caterpillars on bush lupine. *Oecologia*, 108(1): 167-173.
34. Swer, H., Dkhar, M. S., Kayang, H. (2011.): Fungal population and diversity in organically amended agricultural soils of Meghalaya, India. *Journal of Organic Systems*, 6(2), 3-12.
35. Teotor-Barsch, G. H., Roberts, D. W. (1983.): Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia*, 84(1): 3-16.
36. Urechean, V., Bonea, D. (2018.): The comparative study of Bt corn and conventional corn regarding the *Ostrinia nubilalis* attack and the *Fusarium* spp. infestation in the central part. Oltenia. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(4): 13728-13735.

Jedinica s Interneta:

Mucor. <https://biologyreader.com/mucor.html>. Datum pristupa: 10. srpnja 2019.

## 8. SAŽETAK

Cilj istraživanja je utvrditi prirodni mortalitet gusjenica kukuruznog moljca (*Ostrinia nubilalis* Hbn.), prirodne populacije endofitskih mikroorganizama u gusjenicama te potencijal entomopatogenih nematoda *Steinernema feltiae* u suzbijanju ovog štetnika. Disekcija stabljika kukuruza je obavljena u rujnu 2018. godine, te su prikupljene gusjenice kukuruznog moljca. U laboratorijskim uvjetima, praćen je prirodni mortalitet gusjenica tijekom sedam dana, a diskecijom gusjenica uzeti su brisevi i uzgojene populacije endofitskih organizama. Patogenost entomopatogenih nematoda *S. feltiae* ISO16 testirana je tijekom 7 dana na filter papiru u koncentracijama od 10, 50 i 100 nematoda po gusjenici kukuruznog moljca. Rezultati istraživanja su pokazali učinkovitost nematoda od 95% u suzbijanju gusjenica kukuruznog moljca sedam dana nakon primjene 100 entomopatogenih nematoda po 1 gusjenici. Na PDA podlogama su se razvili endofitski mikroorganizmi tj. gljive iz rodova *Fusarium*, *Mucor* i razne populacije endofitskih bakterija. Ovim pokusom je utvrđeno da su gusjenice kukuruznog moljca u vrlo dobrom zdravstvenom stanju u polju i otporne na utvrđene populacije *Fusarium* i *Mucor* gljiva. Radi identifikacije prisutnosti prirodnih neprijatelja u polju, potrebno je analizirati i druge stadije kukuruznog moljca, kao i prirodne neprijatelje u polju koji su u interakciji s ovim štetnikom.

**Ključne riječi:** Entomopatogene nematode, *Steinernema feltiae*, *Fusarium* sp., *Mucor* sp., mortalitet gusjenica

## 9. SUMMARY

The aims of this study were to evaluate natural European Corn Borer (ECB; *Ostrinia nubilalis* Hbn.), mortality, natural populations of endophytic microorganisms from ECB larval gut, and pathogenicity of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* against this pest. ECB larvae were collected upon dissection of maize stalks in September 2018. Natural larval mortality was monitored during 7 days under laboratory conditions. Endophytic microorganisms were isolated from larval gut after dissection and reared on PDA. Natural larval mortality was low, only 2%. Pathogenicity of *S. feltiae* ISO16 against ECB larvae was tested for seven days on filter paper treated with different concentrations of nematodes (10, 50 and 100 nematodes per insect). Nematodes *S. feltiae* in concentration of 100 nematodes per insect caused 95% of larval mortality. Fungi belonging to the genera *Mucor* and *Fusarium*, as well as many bacterial colonies were identified on PDA. The conclusion is that natural population of ECB larvae are in good health conditions, and resistant to identified *Fusarium* and *Mucor* fungi. The entomopathogenic nematodes proved its high efficiency against this important pest.

**Keywords:** Entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae*, *Fusarium* sp., *Mucor* sp., larval mortality

## **PRILOZI**

### **POPIS TABLICA**

Tablica 1. Prirodni mortalitet gusjenica kukuruznog moljca na hranjivim podlogama 3., 5. i 7. dan nakon postavljanja pokusa.....	24
--	----

### **POPIS GRAFIKONA**

Grafikon 1. Srednje vrijednosti mortaliteta gusjenica kukuruznog moljca u tretmanima s entomopatogenim nematodama <i>Steinernema feltiae</i> ISO16.....	23
---	----



## POPIS SLIKA

Slika 1.: Ženka i mužjak kukuruznog moljca.....	2
Slika 2.: Jaja kukuruznog moljca.....	3
Slika 3.: Gusjenice kukuruznog moljca.....	4
Slika 4.: Kukuljica kukuruznog moljca.....	5
Slika 5.: Osica <i>Trichogramma evanescens</i> tijekom parazitiranja jaja kukuruznog moljca.....	6
Slika 6.: <i>Orius insidiosus</i> .....	7
Slika 7.: <i>Coleomigella maculata</i> .....	7
Slika 8.: <i>Eriborus terebrans</i> .....	8
Slika 9.: <i>Lixophaga</i> sp. ....	8
Slika 10.: <i>Steinernema kraussei</i> .....	10
Slika 11.: Parazitirana gusjenica kukuruznog moljca gljivom <i>Beauveria bassiana</i> .....	11
Slika 12.: <i>Steinernema feltiae</i> .....	12
Slika 13.: Zaražena kukuljica gljivom <i>Paecilomyces farinosus</i> .....	14
Slika 14.: <i>Mucor</i> na kruhu.....	16
Slika 15.: Parazitizam kukca gljivom iz roda <i>Fusarium</i> .....	17
Slika 16.: Navlašeni filter papiri s 1 mL vode.....	19
Slika 17.: Postavljen pokus s entomopatogenima nematodoma <i>Steinernema feltiae</i> i gusjenicama kukuruznog moljca.....	20
Slika 18.: Uginule gusjenice na White- ovoj zamci.....	21
Slika 19.: Postavljen pokus na PDA podlogama u cilju izdvajanja endofitskih mikroorganizama.....	22
Slika 20.: Izolirane gljive iz roda <i>Mucor</i> tijekom istraživanja.....	25
Slika 21.: Izolirane gljive iz roda <i>Fusarium</i> tijekom istraživanja.....	25
Slika 22.: Uzgojene populacije endofitskih bakterija iz gusjenica kukuruznog moljca.....	26
Slika 23.: Endofitska gljiva porasla iz glave gusjenice kukuruznog moljca.....	26

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo smjer Zaštita bilja

Diplomski rad

Patogenost *Steinernema feltiae* i endofitskih mikroorganizama za kukuruznog moljca

Betina Kelemen

**Sažetak:** Ciljevi istraživanja su utvrditi prirodni mortalitet gusjenica kukuruznog moljca (*Ostrinia nubilalis* Hbn.), prirodne populacije populacije endofitskih mikroorganizama u gusjenicama te potencijal entomopatogenih nematoda *Steinernema feltiae* u suzbijanju ovog štetnika. Disekcija stabljika kukuruza je obavljena u rujnu 2018. godine, te su prikupljene gusjenice kukuruznog moljca. U laboratorijskim uvjetima, praćen je prirodni mortalitet gusjenica tijekom sedam dana, a disekcijom gusjenica uzeti su brisevi i uzgojene populacije endofitskih organizama. Patogenost entomopatogenih nematoda *S. feltiae* ISO16 testirana je tijekom 7 dana na filter papiru u koncentracijama od 10, 50 i 100 nematoda po gusjenici kukuruznog moljca. Prirodni mortalitet je iznosio tek oko 2%. *S. feltiae* su imale visoku učinkovitost od 95% u suzbijanju gusjenica kukuruznog moljca u tretmanu od 100 nematoda po gusjenici. Na PDA podlogama su se razvili endofitski mikroorganizmi tj. gljive iz rodova *Fusarium*, *Mucor* i razne populacije endofitskih bakterija. Ovim pokusom je utvrđeno da su gusjenice kukuruznog moljca u vrlo dobrom zdravstvenom stanju u polju i otporne na utvrđene populacije *Fusarium* i *Mucor* gljiva.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Ivana Majić

**Broj stranica:** 36

**Broj grafikona i slika:** 24

**Broj tablica:** 1

**Broj literaturnih navoda:** 37

**Broj priloga:** 2

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** Entomopatogene nematode, *Steinernema feltiae*, *Fusarium*, *Mucor*, mortalitet gusjenica

**Datum obrane:** 19. rujna 2019.

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. prof.dr.sc. Jasenka Čosić, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc. Ivana Majić, mentor
3. prof.dr.sc. Emilija Raspudić, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, Plant production, course Plant Protection**

**Graduate thesis**

Pathogenicity of *Steinernema feltiae* and endophytic microorganisms against European corn borer  
Betina Kelemen

**Abstract:** The aims of this study were to evaluate natural European Corn Borer (ECB; *Ostrinia nubilalis* Hbn.), mortality, natural populations of endophytic microorganisms from ECB larval gut, and pathogenicity of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* against this pest. ECB larvae were collected upon dissection of maize stalks in September 2018. Natural larval mortality was monitored during 7 days under laboratory conditions. Endophytic microorganisms were isolated from larval gut after dissection and reared on PDA. Natural larval mortality was low, only 2%. Pathogenicity of *S. feltiae* ISO16 against ECB larvae was tested for seven days on filter paper pretreated with different concentrations of nematodes (10, 50 and 100 nematodes per insect). Nematodes *S. feltiae* in concentration of 100 nematodes per insect caused 95% of larval mortality. Fungi belonging to the genera *Mucor* and *Fusarium*, as well as many bacterial colonies were identified on PDA. The conclusion is that natural population of ECB larvae are in good health conditions, and resistant to identified *Fusarium* and *Mucor* fungi. The entomopathogenic nematodes proved its high efficiency against this important pest.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences of Osijek

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Ivana Majić

**Number of pages:** 36

**Number of figures:** 24

**Number of tables:** 1

**Number of references:** 37

**Number of appendices:** 2

**Original in:** Croatian

**Key words:** Entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae*, *Fusarium*, *Mucor*, larval mortality

**Thesis defended on date:** September 19, 2019.

### **Reviewers:**

1. PhD Jasenka Čosić, full professor, chair
2. PhD Ivana Majić, associate professor, mentor
3. PhD Emilija Raspudić, full professor, member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.