

# BIOLOŠKO SUZBIJANJE MALOG VOŠTANOG MOLJCA (*Achroia grisella* Fabricius) ENTOMOPATOGENIM NEMATODAMA

---

**Antolović, Marina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:052176>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



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  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET OSIJEK**

Marina Antolović

Preddiplomski studij smjera Hortikultura

**BIOLOŠKO SUZBIJANJE MALOG VOŠTANOG MOLJCA (*Achroia grisella*  
Fabricius) ENTOMOPATOGENIM NEMATODAMA**

**Završni rad**

**Osijek, 2016.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET OSIJEK**

Marina Antolović

Preddiplomski studij smjera Hortikultura

**BIOLOŠKO SUZBIJANJE MALOG VOŠTANOG MOLJCA (*Achroia grisella*  
Fabricius) ENTOMOPATOGENIM NEMATODAMA**

**Završni rad**

Povjerenstvo za obranu završnog rada:

prof. dr. sc. Emilija Raspudić, predsjednik

izv. prof. dr. sc. Ivana Majić, mentor

dr. sc. Ankica Sarajlić, član

**Osijek, 2016.**

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. CILJ RADA.....	2
3. MORFOLOGIJA I BIOLOGIJA MALOG VOŠTANOG MOLJCA.....	3
4. ŠTETE OD MALOG VOŠTANOG MOLJCA .....	5
4.1. PREVENTIVNE MJERE I SUZBIJANJE VOŠTANIH MOLJACA .....	7
5. SUZBIJANJE VOŠTANIH MOLJACA NEMATODAMA .....	8
6. METODE KOJE SE MOGU PRIMJENJIVATI U ISTRAŽIVANJIMA PATOGENOSTI NEMATODA .....	10
7. UTJECAJ <i>STEINERNEMA FELTIAE</i> NA VOŠTANOG MOLJCA.....	12
8. UTJECAJ <i>HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA</i> NA LIČINKE VOŠTANOG MOLJCA I PČELINJU ZAJEDNICU .....	15
9. UTJECAJ ENTOMOPATOGENIH NEMATODA NA PČELINJU ZAJEDNICU .....	16
10. ZAKLJUČAK .....	20
11. POPIS LITERATURE .....	21
12. SAŽETAK.....	24
13. SUMMARY .....	25
14. POPIS TABLICA.....	26
15. POPIS SLIKA .....	27

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## 1. UVOD

*Achroia grisella* Fabricius je štetni kukac iz reda Lepidoptera koji je se može pronaći gotovo u svakoj pčelinjoj zajednici. Izravne štete radi u stadiju ličinke, a leptir nije štetan. Kako bi se brojnost voštanih moljaca svela na minimum, potrebno je pravilno gospodariti pčelinjim zajednicama i održavati čistoću košnica i samog pčelinjaka. Pri skladištenju saća izvan košnice potrebno je stvoriti optimalne uvjete, na kojima se usporava razvojni ciklus voštanog moljca, kako bi se opasnost od štete svela na minimum.

Prema načelima integrirane poljoprivrede, biološka kontrola se sve više primjenjuje u kontroli štetnih vrsta kukaca, kako u ostalim granama poljoprivrede, tako i u pčelarstvu. Trenutno u primjeni možemo naći B-401 (tzv. Certan), koncentriranu otopinu na bazi *Bacillus thuringiensis* koja je 100% djelotvorna pri suzbijanju ličinki voštanog moljca. U praksi se rijetko koristi jer nije ekonomski opravdan ako se koristi za tretiranje velikog broja okvira. Nije dokazan negativan učinak na pčele i ljude.

Sve veći broj istraživanja usmjeren je uvođenju entomopatogenih nematoda (EPN), kao jedne od mjera suzbijanja voštanog moljca. EPN su jednostavni mikroskopski organizmi čija je primjena u suzbijanju štetnih kukaca započela 1930-ih godina. One prodiru u domaćina kroz prirodne otvore (usta, anus, treheje), kutikulu ili putem ishrane domaćina. Pogodne su u biološkoj zaštiti, prvenstveno iz razloga što nisu štetne za okoliš, a letalne su za štetne organizme te se mogu masovno uzgajati (*in vivo* i *in vitro*) i same se obnavljaju.

Prema istraživanjima koja su provedena, u svrhu primjene EPN u suzbijanju voštanog moljca i njihovog utjecaja na samu pčelinju zajednicu, utvrđeno je da su vrlo djelotvorne te pri pravilnoj primjeni mogu uništiti gotovo 100% ličinki voštanog moljca. Isto tako je utvrđeno kako imaju slab utjecaj na pčele (Saenz i Luque, 2000.).

Danas u više od 40 razvijenih zemalja velike kompanije proizvode i distribuiraju proizvode na bazi EPN, koji se primjenjuju na velikom broju štetnih vrsta kukaca. U Hrvatskoj, uporaba EPN još nije dostigla tu razinu, da bi bili intenzivno primjenjivani u suzbijanju štetnih vrsta poput voštanog moljca, te ju u budućnosti treba pobliže istražiti i uvesti kao jednu od mjera biološkog suzbijanja.

## **2. CILJ RADA**

Cilj rada je prikazati literaturni pregled o mogućnostima suzbijanja malog voštanog moljca entomopatogenim nematodama.

### 3. MORFOLOGIJA I BIOLOGIJA MALOG VOŠTANOG MOLJCA

*A. grisella* je mali noćni leptir iz reda Lepidoptera ili leptira. Ima holometabolnu preobrazbu (jaje, ličinka, kukuljica i imago). Razvojni ciklus malog voštanog moljca ovisi o čimbenicima okoline sredine te varira u rasponu od nekoliko tjedana do pola godine. Optimalna temperatura za razvoj i reprodukciju je od 28 do 30°C. U slučaju kada je optimalna temperatura stalna, bez većih oscilacija između dnevnih i noćnih temperatura, tada razvoj jedne generacije traje od 43 do 44 dana, te se javljaju 3-4 generacije godišnje. Pri temperaturi od 20°C razvoj traje oko 120 dana. Opadanjem temperature dolazi do produženja stadija razvoja voštanog moljca. Aktivan je od ožujka do listopada.

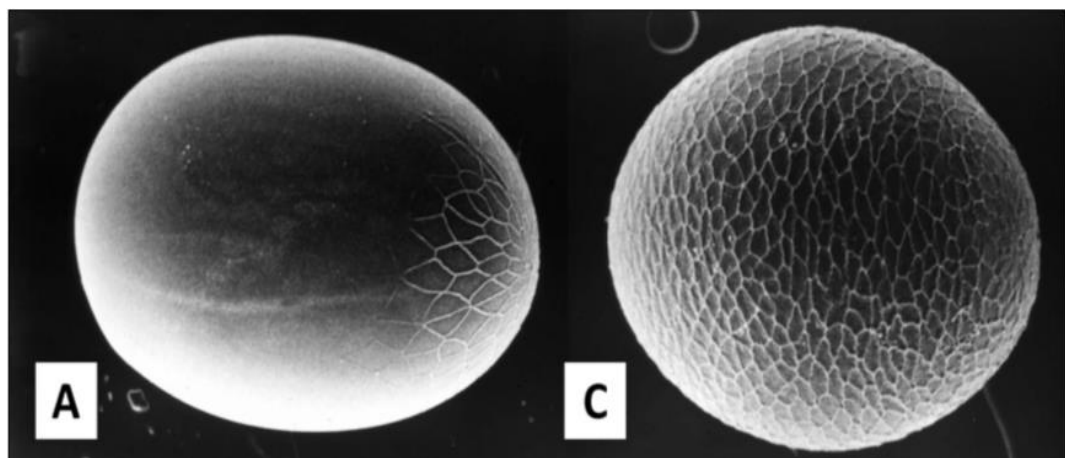
Ženka leptira je duga oko 11 mm, dok je mužjak nešto manji i dužine oko 9 mm (Slika 1.). Sive je boje te je mužjak nešto tamniji od ženke. Raspon krila im je oko 20 mm. Životni vijek imaga nije dug, ženka živi oko 12 dana i nakon odlaganja jaja ugiba, dok mužjak prosječno živi 21 dan.



Slika 1. Mužjak imaga malog voštanog moljca (gore), ženka imaga malog voštanog moljca (dolje)

Izvor: <http://www.coloss.org/beebook/II/wax-moth/2/4>

Ženka odlaže jaja na skrovita (rub okvira, pukotine u drvu, matične rešetke, u kutovima podnica i dr.) i tamna mjesta koja nisu dostupna pčelama. Broj jaja ovisi o tome kakvi su bili uvjeti za razvoj ženke, a ako su oni bili optimalni odlaže prosječno 200-300 jaja formiranih u skupinama. Pojedinačna jaja nisu vidljiva golim okom, ali ako se pomnije promatra mogu se uočiti skupine. Jaja voštanog moljca su okruglasta, kremastobijele boje (Slika 2.). Razvoj ličinke također ovisi o temperaturi sredine, ako je temperatura optimalna ličinka se razvija iz jajeta već za 3-5 dana. Ako su temperature niže, razvoj se usporava te je često potrebno i više od mjesec dana da se iz jajeta razvije ličinka.



Slika 2. Mikroskopski prikaz jaja voštanog moljca pod povećanjem 110x (slika A) i povećanjem od 560x (slika C)

Izvor: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3896/IBRA.1.52.1.10>

Iz jajeta izlaze sitne pokretne ličinke, veličina im je obično oko 2 cm te imaju 13 kolutića i 8 pari nogu, bijelo-žute su boje (Slika 3.). Odmah po izlasku iz jajeta, rašire se po cijeloj košnici u potrazi za skrovitim i tamnim mjestom, na kojemu će imati pristup hrani, te zaštitu od pčela koje će ih pokušati „izbaciti“ iz košnice. Buše hodnike u sredini saća i hrane se, te uništavaju leglo ukoliko ga ima. Ličinke čine najveće štete, hrane se voskom, peludom, kukuljicama te ponekad u nedostatku hrane uništavaju i drvene dijelove okvira i košnice. U optimalnim uvjetima, razvoj ličinke traje 20 do 30 dana, a u hladnim uvjetima i nekoliko mjeseci. Kada dosegnu punu veličinu zakukulje se na rubovima okvira i drvu košnici ta ako su uvjeti povoljni, nakon 3-8 dana izlazi leptir (Laktić i Šekulj, 2008.).





Slika 3. Ličinka (gore), kukuljica (sredina) i čahura (dolje) voštanog moljca

Izvor: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3896/IBRA.1.52.1.10>

#### 4. ŠTETE OD MALOG VOŠTANOG MOLJCA

Voštani moljac pričinjava štete prvenstveno pri skladištenju okvira, ali znatne štete mogu izazvati i u košnici. Ličinke se hrane voskom, polenom, pregrizaju voštene kape. Kroz saće prave hodnike, obavijaju ih tankim nitima koje ispredaju posebnim žlijezdama koje su smještene u glavi, a za sobom ostavljaju izmet. Ako tijekom godine, radi bolesti ili nekog drugog razloga, pčelinja zajednica oslabi te se smanji broj pčela, voštani moljac se razvija i „dominira“ košnicom, te može uništiti svo saće u košnici (Slika 4.). Ličinke u nedostatku voska izgrizaju rupe u drvenom dijelu košnice i okvira te mogu izazvati velike štete (Slika 5). U povoljnim uvjetima, tijekom jedne godine mogu pojesti i do 400 kg voska (3 generacije godišnje po 1000 ličinki = 1 milijun ličinki, a jedna ličinka može pojesti i do 0,4 g voska). Voštani moljac može napraviti i ozbiljne štete na leglu, izgrizanjem voštanih kapa ćelija u kojima se nalaze kukuljice pčela, te izazvati tzv. ćelavo leglo (Slika 6.). U takvom leglu ćelije su otvorene, djelomično zbog voštanog moljca, ali i zbog pčela koje ih potom same do kraja otvore. Kukuljica pčele je u tom slučaju nezaštićena te dolazi do deformacije krila i nogu budućih odraslih pčela.



Slika 4. Prikaz potpuno uništenog okvira uslijed napada voštanog moljca

Izvor: <http://www.afuturewithbees.com/resources/protect-your-bees/51-understanding-lesser-wax-moths-in-beekeeping>



Slika 5. Štete od voštanog moljca na drvenom dijelu okvira

Izvor: <http://www.afuturewithbees.com/resources/protect-your-bees/51-understanding-lesser-wax-moths-in-beekeeping>



Slika 6. Prikaz oštećenja voštanih kapa na leglu uslijed napada voštanog moljca

Izvor: <https://i.ytimg.com/vi/fem85Rq6nD0/hqdefault.jpg>

#### 4.1. PREVENTIVNE MJERE I SUZBIJANJE VOŠTANIH MOLJACA

Kao najbitniju preventivnu mjeru treba navesti pravilno održavanje i gospodarenje pčelinjim zajednicama. U jakim i dobro održanim pčelinjim zajednicama pojava voštanog moljca je rijetka, a ako se i pojavi, jaka pčelinja zajednica održava populaciju voštanog moljca ispod razine dinamike štetnosti. Važno je održavati čistoću u košnicama i pčelinjacima te je staro saće potrebno pretapati i zamjenjivati novim.

Kod skladištenja saća izvan košnice, temperatura bi trebala biti niža od 10°C te bi prostor trebao biti dobro zatvoren. Na niskim temperaturama se usporava razvoj voštanog moljca te može doći do zaustavljanja životnog ciklusa pri temperaturama nižim od 10°C. Saće koje se ne pohranjuje u zatvorenom prostoru treba izložiti na svijetlom, suhom i prozračnom mjestu. Voštani moljac se najlakše i najučinkovitije suzbija ranijim razvojnim stadijima (jaje, ličinka, kukuljica). Leptir se teško suzbija jer se skriva, a ostali stadiji su relativno osjetljivi i lako ih se suzbija pri rutinskim pregledima. Najveći prirodni neprijatelj voštanih moljaca je temperatura. Zabilježeno je da na -9°C, smrt nastupa nakon 2 h (suzbijanje svih stadija), te na temperaturi od -15°C, smrt nastupa već nakon 45 min. Ta tehnika se najčešće koristi

prije skladištenja kako bi se suzbila jaja na okvirima, koja rutinskim pregledom nisu lako uočljiva.

U praksi se najčešće provodi tretiranje okvira sa saćem sumporovim (II) oksidom. Ta tehnika se provodi paljenjem sumpora u prostoru gdje se saće skladišti. Ako se npr. skladištenje provodi u nastavcima LR tipa košnica, nastavci se poslože jedan na drugi te se na njih stavi posudica sa sumporom i zapali. Nakon paljenja nastavci se zatvore. Ovim postupkom se ne uništavaju jaja moljce, te ga je potrebno ponavljati svakih 10 do 15 dana.

S obzirom da se danas sve više primjenjuje biološka kontrola štetnih vrsta kukaca, utvrđeno je da bakterija *Bacillus thuringiensis* može biti vrlo učinkovita u suzbijanje voštanog moljca. Trenutno je u primjeni B-401 (tzv. Certan), koncentrirana otopina na bazi *Bacillus thuringiensis* koja ima visoku učinkovitost pri suzbijanju ličinki voštanog moljca. Bakterija proizvodi toksične spore koje se oslobađaju u tijelu ličinke i dovode do uginuća. Nije djelotvorno protiv stadija leptira pošto se oni ne hrane te ne postoji način za unošenje bakterije u organizam. Ovaj pripravak se primjenjuje se tretiranjem okvira prije skladištenja. U praksi je ova metoda rijetka, jer nije ekonomski opravdana ako se koristi za tretiranje velikog broja okvira. Nije dokazan negativan učinak na pčele i ljude.

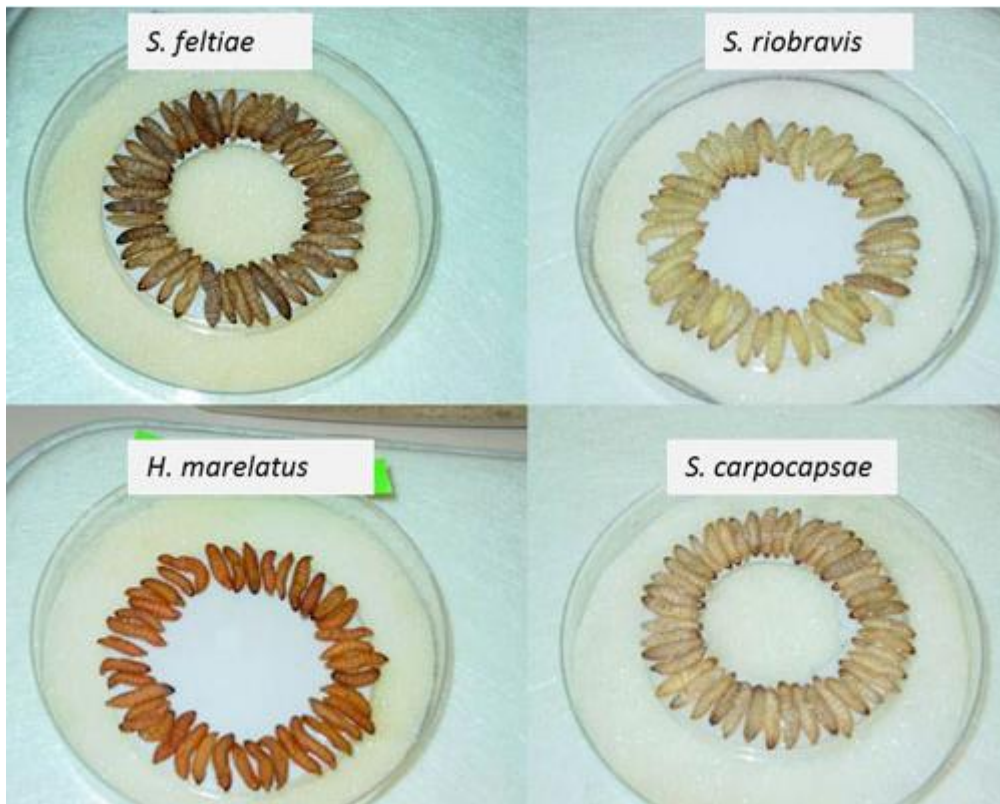
## 5. SUZBIJANJE VOŠTANIH MOLJACA NEMATODAMA

EPN su prirodno i ekološki opravdano rješenje u suzbijanju štetnih kukaca u poljoprivredi, a samim time i u pčelarstvu. Njihova primjena u suzbijanju štetnih vrsta kukaca je započela 1930-ih godina, te se sve više aktivno primjenjuje. EPN aktivno parazitiraju u tijelu domaćina, hrane se, razmnožavaju te izlaskom iz tijela domaćin ugiba. EPN iz rodova *Steinernema* i *Heterorhabditis* žive u raznim tipovima tla te se mogu naći u simbiozi s bakterijama. Nakon što se nasele u tijelu domaćina, aktivno se hrane njegovim tkivom i bakterijama koje su same unijele, razmnožavaju se te tijelo uginulog domaćina napuštaju u 3. stadiju razvoja ličinke (stadij infektivne ličinke - IL) i prelaze u tlo u potrazi za novim domaćinom. EPN u simbiozi s bakterijama mogu svojim parazitizmom usmrtiti štetnog kukca u razdoblju od 24 do 48 sati.

Najznačajnije vrste EPN su iz porodica Heterorhabditidae, Steinernematidae i Mermithidae. EPN imaju visok potencijal razmnožavanja te se mogu uzgajati *in vivo* (slika 7.) i *in vitro* (slika 8.), jednostavno se primjenjuju, napadaju velik broj štetnih kukaca, nema opasnosti od



rezidua, te im to stvara prednosti u odnosu na kemijske pripravke. EPN se sve više primjenjuju u ekološkoj i integriranoj poljoprivredi.



Slika 7. *In vivo* uzgoj različitih vrsta EPN u ličinkama voštanog moljca

Izvor: [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic\\_nematode.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic_nematode.htm)



Slika 8. *In vitro* uzgoj EPN sa spužvom

Izvor: [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic\\_nematode.htm5](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/entomopathogenic_nematode.htm5).

## **6. METODE KOJE SE MOGU PRIMJENJIVATI U ISTRAŽIVANJIMA PATOGENOSTI NEMATODA**

Metoda po Fan i Hominick (1991.) može se koristiti i za odabir EPN koja pokazuje djelotvornost protiv ličinki voštanog moljca, ali se prvenstveno koriste za utvrđivanje učinkovitosti uzgoja raznih vrsta EPN. Postupak se odrađuje pranjem pijeska destiliranom vodom te obrađuje autoklavom i suši u pećnici. Odrađeni pijesak se filtrira kroz 1,18 mm sito te se filtrirani pijesak navlaži 1 ml destilirane vode na svakih 25 ml pijeska. U plastičnu cijev zapremine 30 ml se dodaje 25 ml vlažnog pijeska. Sadržaj pipete u kojima se nalaze EPN se razrijedi s 1 ml vode te se doda u plastičnu cijev s vlažnim pijeskom. Na ovaj način se u tlo može uvesti željeni broj EPN, unošenjem većeg broja IL povećava se brojnost EPN. Plastičnu cijev potrebno je više puta okrenuti kako bi se EPN raširile u pijesku. Na površinu pijeska u kojemu se nalaze EPN postavi se jedna ličinka voštanog moljca. Posuda se zatvori i okrene te se tako ostavi u određenom vremenu i pri određenoj temperaturi koja se određuje sukladno ciljevima ispitivanja. Ličinke voštanog moljca potrebno je mijenjati, a uginulu ličinku voštanog moljca potrebno je oprati 3 puta destiliranom vodom. Ličinku voštanog moljca može se odmah secirati i utvrditi broj EPN ili se može ostaviti na navlaženom filter papiru pri temperaturi od 20°C, a broj prisutnih EPN u ličinkama voštanog moljca utvrđuje se naknadno. Ova metoda može se koristiti za izbor tla u kojem su zastupljene EPN koje uzrokuju mortalitet voštanog moljca.

Sličan postupak se može koristiti i za izdvajanje EPN iz tla po metodi Fan i Hominick (1991.). Potrebno je prikupiti željeno tlo sa željenih lokaliteta te se 200-250 cm<sup>3</sup> odabranog tla stavlja u plastične ili staklene posude volumena cca 300 cm<sup>3</sup>. Na površinu tla se postavi 5 ličinki voštanog moljca te se posuda zatvori kako bi se spriječio bijeg ličinki. Posude sa tлом i ličinkama voštanog moljca potrebno je inkubirati na 20°C. Ličinke voštanog moljca se mijenjaju svakih 4-6 dana (žive ili uginule), te se postupak ponavlja dok ličinke voštanog moljca prestanu ugibati. Uginule ličinke voštanog moljca se seciraju te se utvrđuje točan broj EPN. Ovom tehnikom također je moguće utvrditi utjecaj EPN na ličinke voštanih moljaca.

Za izdvajanje ličinke voštanog moljca iz inokuliranog pijeska koristi se metoda slična postupku za izdvajanje EPN iz tla. Pijesak je potrebno oprati destiliranom vodom te obraditi

autoklavom i osušiti u pećnici. Obradeni pijesak se filtrira kroz 1,18 mm sito te ga je potrebno navlažiti s 1 ml destilirane vode na svakih 25 ml pijeska. Količinu od 25 ml navlaženog pijeska potrebno je staviti u plastičnu ili staklenu cijev zapremine 30 ml. Sadržaj pipete u kojoj se nalaze EPN potrebno je razrijediti s 1 ml vode i dodati u cijev s pijeskom, te je potrebno plastičnu cijev više puta okrenuti kako bi se EPN raširile u pijesku. Na površinu pijeska postavlja se jedna ličinka voštanog moljca, te se plastična cijev inkubira na 20°C. Ličinke voštanog moljca (žive ili uginule) mijenjaju se jednom tjedno te se postupak ponavlja dok ličinka voštanog moljca ne prestane ugibati. Ličinke voštanog moljca se seciraju u fiziološkoj otopini te se utvrđuje broj EPN ili se ostavlja na navlaženom filter papiru pri temperaturi od 20°C te se naknadno utvrđuje broj EPN.

Prema Grewal (2000.) metodi provedenoj na ličinkama voštanog moljca može se utvrditi infektivnost EPN. Metoda se može provoditi na više načina, a najviše se koristi test metoda s pijeskom. Ovom metodom može se testirati različito djelovanje temperatura na EPN, njihova infektivnost pri određenoj temperaturi, te očekivani mortalitet ličinke voštanog moljca nakon tretiranja EPN u trajanju od 72 sata.

## 7. UTJECAJ *STEINERNEMA FELTIAE* NA VOŠTANOG MOLJCA

*Steinernema feltiae* je obligatni parazit iz porodice Steinernematidae koji ima dvije generacije i velik broj IL. U simbiozi sa bakterijama *Xenorhabdus bovienii* napada domaćina, umaža se te dovodi do smrtnosti kukca.

Prema istraživanju *in vivo* uzgoja *S. feltiae*, koje su proveli Saenz i Luque (2000.) u laboratoriju za biološku kontrolu Agronomskog fakulteta u Bogoti (Kolumbija), na ličinkama *G. mellonella* (veliki voštani moljac) i *A. grisella* (mali voštani moljac), može se utvrditi i utjecaj patogenosti *S. feltiae* na voštanog moljca. Za istraživanje je korišten posljednji stadij ličinke *G. mellonella* i *A. grisella*, uzgojen laboratorijski s umjetnom prehranom. Ispitivanje je provedeno u 3 faze u kojima se ispitivalo razdoblje infekcije EPN, inkubacija EPN i broj IL za skladištenje i daljnje korištenje u istraživanjima. Za utvrđivanje broja IL (u živoj ili uginuloj ličinki voštanog moljca), životnog vijeka voštanog moljca, te utvrđivanje najpovoljnije veličine ličinke voštanog moljca (2-3 cm i 0,25-0,35 g velike; 1,5-2 cm i 0,18-0,23 g srednje; 0,8-1 cm i 0,9-0,16 g male) u odnosu na zastupljenost EPN, koristile su se suspenzije sa 100, 300, 500, 700 i 1000 IL ml<sup>-1</sup> koje su bile jednako raspoređene na filter papir smješten na dnu Petri posude. Na suspenziju je dodana jedna ličinka srednje veličine *G. mellonella* i jedna ličinka srednje veličine *A. grisella*. Svaka Petri posuda je označena i čuvana na sobnoj temperaturi pri 20°C. Praćenje i bilježenje simptoma se odvijalo kroz 24, 48 i 72 sata, pa sve do smrti ličinke voštanog moljca. Uginule ličinke voštanog moljca su postavljene na navlaženi filter papri na okrenutu Petri posudu smještenu u veću Petri posudu, te je prema metodi „White trap“ utvrđen je broj EPN u uginulim ličinkama (Slika 9.). Postupak se provodio svaki dan dok nije dobivena suspenzija bez prisustva EPN.





Slika 9. Prikaz „White trap“ metode za utvrđivanje prisustva EPN u ličinkama voštanog moljca.

Izvor: <http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/23040/9/09-chapter3.pdf>

Dobivene infektivne jedinice su pohranjene u 120 g tla tretiranog autoklavom, pasteriziranog, i prirodnog (netretiranog) tla. U tlo je aplicirana koncentracija od 10000, 30000 i 50000 IL  $\text{ml}^{-1}$ , skladištenih u plastičnim vrećicama na temperaturi od  $8^{\circ}\text{C}$ . Svaki mjesec je Baermannovom metodom lijevka ispitivano 10 g tla, kako bi se utvrdilo brojčano stanje živih jedinki EPN (Baermann, 1917.). Postupak je ponavljan jednom mjesečno, a cjelokupni postupak je trajao 6 mjeseci. Dobivene EPN su korištene za utvrđivanje patogenosti na voštanom moljcu.

Pri utvrđivanju patogenosti je odrađeno 5 ponavljanja sa 5 ličinki voštanog moljca. U posudu su postavljene ličinke voštanog moljca, individualno stavljene u filter papir, te je dodano 80  $\mu\text{l}$  destilirane vode i 80  $\mu\text{l}$  suspenzije sa IL različitog vremena skladištenja i LD50. Pri kontroli je naknadno dodano 2  $\mu\text{l}$  destilirane vode. Posuda je zatvorena tamnom folijom i inkubirana u laboratorijskim uvjetima pri temperaturi od  $20^{\circ}\text{C}$  i relativnoj vlazi zraka od 60%. Nakon tri dana je utvrđen broj živih i mrtvih ličinki. Mrtve ličinke su bile secirane u staklenoj posudi 60 x 15 mm pomoću dvije igle za seciranje i 0,1 ml vode kako bi se olakšalo promatranje EPN pod mikroskopom.

Za uzgoj EPN *in vivo* korišten je posljednji stadij ličinke *G. mellonella*, a utvrđen je utjecaj veličine i prosječne težine ličinke voštanog moljca (velika, srednja, mala) na broj

prikupljenih IL . Za male ličinke velikog voštanog moljca, prosječno po danu je utvrđeno 510,55 IL po ličinki velikog voštanog moljca manje u odnosu na srednje i velike ličinke. Ne postoji značajna razlika između koncentracije EPN i odnosa koncentracije EPN i veličine velikog voštanog moljca. Od razdoblja inkubacije EPN do dobivanja prve IL korišteno je vremensko razdoblje od 10 dana. Počevši od prvog izdvajanja IL metodom „White trap“ u prosječnom trajanju od 12 dana i s 3 različite veličine ličinki voštanog moljca, utvrđeno je 95% preživjelih IL. Iako nema značajnih razlika između pet ispitivanih koncentracija EPN, utvrđeno je da je koncentracija od 500 IL po ličinki voštanog moljca najučinkovitija. Najmanje IL je prikupljeno kod malih ličinki velikog voštanog moljca.

Kod ličinke *A. grisella* nema značajnih razlika između koncentracije EPN i količine izdvojenih IL. Najveća brojnost uzgojenih IL u 10 ponavljanja je utvrđena pri koncentraciji od 100 IL ml<sup>-1</sup>. Postotak preživjelih jedinki, izdvojenih metodom „White trap“, u prosječnom trajanju od 8 dana je bio 93%. Prve IL uočene su nakon 6 dana od infekcije.

Prema vrsti tala nije utvrđen utjecaj na prisutnost EPN, ne postoje statistički značajne razlike u koncentracijama EPN u tlu i vremenskom trajanju skladištenja tla. Utvrđeno je da koncentracija od 1000 IL ml<sup>-1</sup> koja se čuvala pet mjeseci ima najveći prosjek preživjelih EPN. Broj preživjelih IL iz tla blago je porastao pri povećanju koncentracije. Pri utvrđivanju patogenosti srednja letalna doza tj. LD 50 iznosi 3,3 IL po ličinki voštanog moljca (1,37–6,56).

## 8. UTJECAJ *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* NA LIČINKE VOŠTANOG MOLJCA I PČELINJU ZAJEDNICU

*H. bacteriophora* je parazit iz porodice Heterorhabditidae u čijem su probavilu naseljene simbiotske bakterije roda *Photorhabdus*.

Prema istraživanju koje su proveli Taha i Abdelmegeed (2016.) u laboratoriju za zaštitu bilja na Agronomskom fakultetu u Shoubra El-Kheima (Egipat) utvrđen je utjecaj *H. bacteriophora* na ličinke voštanog moljca i pčelinju zajednicu. Istraživanje je provedeno u košnicama u prirodnim uvjetima. Za istraživanje su korištene ličinke voštanog moljca i EPN uzgojenih u laboratorijskim uvjetima. Ličinke petog stadija voštanog moljca postavljene su na navlaženi filter papir na dnu Petri posude i tretirane sa suspenzijom koncentracije od 100 IL na 25°C. Nakon 48 sati uginule ličinke su premještene u novu Petri posudu, pripremljenu prema metodi „White trap“ (White, 1927.). Nakon 6-10 dana, IL su prikupljene i korištenje u ispitivanju utjecaja na voštanog moljca i pčelinju zajednicu u košnici. Tretiranje se obavljalo sa različitim koncentracijama *H. bacteriophora* (100, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, ili 5000 IL ml<sup>-1</sup>).

Ličinke voštanog moljca su dodane na male okvire dimenzije 20x20 cm, te je nakon dva dana svaki okvir tretiran sa 10 ml koncentracije IL sa svake strane. Za kontrolni tretman se koristila voda. Svaki tretman je odrađen 2 puta u odvojenim košnicama. Nakon 3 dana uginule ličinke voštanog moljca su sakupljene i utvrđen je postotak smrtnosti. Uginule ličinke voštanog moljca su raspoređene u dvije grupe, prva grupa je secirana i na taj način je utvrđeno prisustvo i broj IL, a druga grupa je ispitivana pomoću metode „White trap“. Nakon 6 do 10 dana IL su sakupljene i izračunata je njihova brojnost.

Deset imaga pčela je stavljeno u malu staklenu posudu, te je svaka posuda tretirana s 5 ml suspenzije. Svaki tretman je ponovljen 2 puta, a brojnost IL je utvrđena na isti način kao i kod ličinke voštanog moljca.

EPN nisu pokazale utjecaj na pčele primjenom različitih koncentracija IL, te je postotak smrtnosti bio nula.

Ličinke voštanog moljca pokazuju različitu stopu smrtnosti s obzirom na primijenjenu koncentraciju IL. Najniži postotak smrtnosti je zabilježen pri koncentraciji od 100 IL (5% u 1. tretmanu i 25% u 2. tretmanu), pri koncentraciji od 4000 IL je smrtnost bila znatno veća (oko 90%), a 100%-tna smrtnost je zabilježena pri tretmanu sa koncentracijom od 5000 IL ml<sup>-1</sup> u oba ponavljanja)

## 9. UTJECAJ ENTOMOPATOGENIH NEMATODA NA PČELINJU ZAJEDNICU

Istraživanje koje su proveli Bauer i sur. (1994.) u pčelinjaku kalifornijskog sveučilišta imao je cilj utvrditi mogu li EPN, s visokim stupnjem otpornosti na visoke temperature, naštetiti pčelinjoj zajednici. U ispitivanju su korištene četiri različite vrste EPN.

Korišteni su svi sojevi *S. carpocapsae*, NC soj *S. glaseri*, RGV soj *S. riobravis* i NC soj *H. bacteriophora*, te talijanski soj europskih pčela. Pčelinja zajednica je prvo bila testirana na moguće simptome neke druge bolesti, te su za istraživanje odabrane samo jake i zdrave zajednice. Mali okviri dimenzije 11,5x11,5, koji su sadržavali med, tretirani suspenzijom od 1000 IL ml<sup>-1</sup> i 0,01% Triton X-100 otopinom. Svaki okvir je tretiran sa 5 ml suspenzije koja je sadržavala jednu od 4 vrste EPN (*S. carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. riobravis* ili *H. bacteriophora*), a kontrolni test je izvršen samo otopinom Triton X-100. Svaki tretirani okvir je postavljen u košnice dimenzije 18x18x20 cm s približno 270 pčela te je ispitivano 20 malih kolonija s 5 tretmana u 4 ponavljanja. U testnoj prostoriji je temperatura bila 33°C, relativna vlaga zraka 80%, te je prostorija bila potpuno zatamnjena (stvoren su uvjeti slični onima u košnici). Nakon 3 dana uginule pčele su sakupljene i secirane te je utvrđen broj IL. Pokus je ponovljen 2 puta i nije bilo značajnih razlika između dobivenih podataka.

Prije ispitivanja utjecaja EPN na legla, na okvir s leglom je postavljen proziran papir i ocrtan je krug sa 60-70 ćelija s leglom za prvi eksperiment i 100-120 ćelija za drugi eksperiment. Ta skica je kasnije korištena za lociranje legla i utvrđivanju smrtnosti.

U ispitivanju utjecaja EPN na legla korištena su dva eksperimenta. U prvom eksperimentu koristili su se mali okviri s otvorenim leglom. Svaki tretman je proveden sa sve 4 vrste EPN i jednom kontrolom. Tretirana su po 3 okvira i ponovno vraćena u košnicu. Nakon 5 dana smrtnost je mjerena indirektnom metodom te je odrađeno 6 ponavljanja.

Drugi eksperiment se provodio sa standardnom veličinom okvira, dimenzije 23x28 cm, tretiranih s 25 ml suspenzije 100 IL ml<sup>-1</sup> *S. riobravis* i *S. carpocapsae* i 0,01% Triton X-100, a kontrolni test je odrađen samo otopinom Triton X-100. Tretirana su po 3 okvira i vraćeni u košnice, a nakon pet dana je izmjerena smrtnost legla indirektnom metodom. Oboljelo leglo pčele same uklone te su takva legla otvorena, a zdravo neinficirano leglo ostaje normalno zatvoreno. Procjena smrtnosti je vršena pomoću broja otvorenih legla i prethodno napravljene skice. Na svakoj strani je otvoreno 5 ćelija radi ispitivanja zaraze legla.

Utjecaj EPN na imago pčele istražen je direktno u košnici. Temperatura unutar male košnice pri inkubaciji je prosječno bila 32,5°C, a relativna vlažnost zraka 72%. Smrtnost pčela radilica se ne razlikuje između tretmana. Prosječno 9 pčela je uginulo nakon tretiranja sa IL *S. glaseri* i *S. riobravis*, te 6 nakon tretmana s IL *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora*. Prosječno je 3 pčele uginulo u kontrolnom tretmanu. IL nisu pronađene u uginulim pčelama, te nema dokaza o infekciji. Pčele mogu biti inficirane ako se *S. carpocapsae* nalazi u medu ili vodi pri temperaturi od 25°C. Pčele izložene EPN mogu biti zaražene na temperaturama ispod 33°C.

Pri ispitivanju utjecaja EPN na legla u prvom eksperimentu broj otvorenih ćelija se razlikovao između tretmana (Tablica 1.).

Tablica 1. Prikaz broja otvorenih ćelija u odnosu na primijenjeni tretman

Vrsta tretmana	Broj otvorenih ćelija
<i>S. carpocapsae</i>	26,5±4,6
<i>S. riobravis</i>	10,3±3,7
<i>H. bacteriophora</i>	15,0±4,4
Kontrolni test	2,0±0,4
<i>S. glaseri</i>	1,5±0,3

(izvor: Bauer i sur., 1994.)

U drugom eksperimentu nije pronađena značajna razlika između tretmana. U tretmanu sa *S. riobravis* je bilo 30,2±7,1, u tretmanu sa *S. carpocapsae* 13.3±0,7, a u kontrolnom tretmanu 15.7±0.3 otvorenih ćelija.

Na otvorenim ćelijama je utvrđena infekcija legla. Rezultatima je utvrđeno da EPN otporne na visoke temperature nisu infektivnije za pčele.

Bacca i Lagos (2014.) su proveli istraživanje u laboratoriju za nematologiju u Chinchina, (Caldas). Cilj je bio utvrditi ima li *Beauveria bassiana* utjecaj na *Steinernema sp.* pri infekciji ličinke *G. mellonella*. Utvrđeno je da je smrtnost ličinki *G. mellonelle* u svim provedenim ispitivanjima bila 100%-tna, te je od vremena infekcije ličinke *G. mellonella* s EPN, do uginuća ličinke *G. mellonella* u prosjeku prošlo 5 dana. Utvrđeno je da *B. bassiana* nema utjecaj na infektivnost *Steinernema sp.*

Sonin (1990.) je proveo istraživanje s ciljem utvrđivanja utjecaja *Neoplectana carpocapsae* na ličinku *G. mellonella*. Ovim istraživanjem pokušava se utvrditi period potreban za postizanje mortaliteta ličinki voštanog moljca, te maksimalna produktivnost EPN. U Petri posude je postavljen agar s 50 EPN, te je na to postavljena ličinka voštanog moljca. Kukci su dodani s 0,50 ml vode ili hrane. Uginuli insekti ličinke voštanog moljca su nakon tjedan dana ispitani metodom „White trap“ i utvrđen je broj EPN. Ličinka voštanog moljca je uginula nakon 1-2 dana, izdvojeno je 84% EPN, prosječno izdvajanje EPN po ličinki voštanog moljca je 150, a prosječno je izdvojeno 580 EPN po gramu ličinke voštanog moljca.

Millstead i Poinar (1978.) istraživali su životni ciklus *H. bacteriophora*, pomoću laboratorijski uzgojenih ličinki voštanog moljca. EPN su u simbiozi s gram-negativnim bakterijama te prodorom u ličinku voštanog moljca mortalitet nastupa u roku od 16-48 sati, ovisno o koncentraciji i temperaturi okoline. U Petri posudu na navlaženi filter papir su dodane ličinke voštanog moljca, te služe kao pokazatelj infekcije EPN. Uginule ličinke voštanog moljca su inkubirane 7 dana te je seciranjem i mikroskopskim promatranjem utvrđen broj EPN.

U ispitivanju Gruner i sur. (2006.) ličinke *G. mellonella* korištene su u testiranju učinaka supstrata tla na kratanje i infektivnost EPN *S. feltiae* i *H. marelatus*. Testiranje se izvodilo u centrifugalnoj epruveti i 15 ml tla s nematodama. Prema utvrđenim rezultatima prisutnost *S. feltiae* i *H. marelatus* u tlu je bila podjednaka. Prisutnost *S. feltiae* nije utjecala na infektivnost *H. marelatus*. Mortalitet ličinke voštanog moljca je bio 32% kod infekcije *H. marelatus*, te samo 8% kod infekcije *S. feltiae*.

Istraživanjem koje su proveli Vasanthi i sur. (2012.) cilj je utvrditi prisutnost EPN u tlu na plantaži indijskih oraščića. EPN i simbiotske gljive prirodni su neprijatelji štetnih kukaca koji napadaju korijen i stabljiku indijskog oraščića. Eksperiment je proveden na ličinkama voštanog moljca, te se iz njega može utvrditi koji je vremenski period potreban kako bi EPN usmrtila ličinku voštanog moljca. Od 110 uzoraka tla samo je kod njih 10 utvrđeno prisustvo EPN, a izolirane vrste EPN su *H. bacteriophora* i *S. abbasi*. Sve korištene ličinke voštanog moljca su uginule u razdoblju od 48-72 sata.

Chau i sur. (2009.) su proveli istraživanje kojemu je cilj bio utvrditi mogućnost reprodukcije EPN u ličinkama voštanog moljca. U istraživanju su korišteni 43 izolata EPN iz Vijetnama te posljednji stadij ličinke *G. mellonella*. Broj IL je varirao s obzirom na primijenjeni EPN izolae, te su postojale velike razlike u reprodukciji između vijetnamskih izolata i vrsta EPN. Najveću reproduktivnu sposobnost je pokazao izolat *H. indica* H-NT3 sa prosjekom od 240 izoliranih IL iz ličinke voštanog moljca, a najmanju izolat *Steinernema sp.1* S-DL9 S-TS2 sa prosjekom od 4 izolirane IL iz ličinke voštanog moljca.

Jagdale i Gordon (1997.) Ispitali su učinak temperature na infekciju EPN. U ispitivanju infekcije korištena su 4 izolata EPN, te je mjeren LD50 ličinke voštanog moljca na temperaturama u rasponu od 10-25°C. Od 4 ispitivana izolata samo su izolati *S. feltiae* Umea i *S. feltiae* NF izvršili zarazu na temperaturi nižoj od 10°C, a izolatima *S. riobravus* TX i *S. carpocapsae* (svi izolati) je za infekciju bila potrebna temperatura veće od 20°C.

Tarihi (2006.) proveo je istraživanje kojemu je cilj bio utvrditi reproduktivnu sposobnost *S. weiseri* i *S. feltiae*, te njihovu sposobnost infekcije ličinki voštanog moljca. Ispitivanje se provodilo na 10, 15 i 20°C s dozama 10, 50 i 100 IL po ličinki voštanog moljca. U ispitivanju sposobnosti reprodukcije, *S. weiseri* je u svim eksperimentalnim uvjetima bila reproduktivnija od *S. feltiae*. Sposobnost infekcije EPN je utvrđena 48 sati nakon postavljanja eksperimenta, te je utvrđen LD50 ličinke voštanog moljca. Na osnovu koncentracije IL utvrđeno je da je mortalitet ličinki voštanih moljaca tretiranih *S. feltiae* najveći pri koncentraciji od 300 IL (86%), a *S. weiseri* pokazuje mortalitet od 100% pri koncentracijama od 100, 150 i 300 IL. Prema utvrđenom LD50 učinkovitija je *S. feltiae* s mortalitetom ličinki voštanog moljca od 80%.

## 10. ZAKLJUČAK

*Achroia grisella* Fabricius je visoko rasprostranjeni štetnik u pčelarstvu, te je jako dobro prilagođen životnom ciklusu pčelinje zajednice. Voštani moljac može izazvati velike štete na uskladištenom saću i u samoj košnici, te ako se ne suzbije na vrijeme, može uništiti cijele okvire koji više nisu za upotrebu. Izravne štete na pčelinjoj zajednici nanosi izgrizanjem voštanih kapa na leglima, te dovodi do tzv. otvorenog legla, uslijed čega dolazi do deformacije budućih odraslih pčela. Jake pčelinje zajednice ga do nekih granica mogu same kontrolirati, ali u slučajevima kada dođe do slabljenja, primjenjuju se druge mjere suzbijanja. Primjena entomopatogenih nematod jedna je od najboljih i najsigurnijih mjera u borbi protiv voštanog moljca, te je potreban samo jedan tretman jer se same obnavljaju. Vrlo je učinkovita protiv ličinki voštanog moljca, a ovisno o vrsti EPN smrtnost može biti i do 100%. Učinak na pčele i legla je neznatan te se može primjenjivati i izravno u košnici. Uz efikasnost u suzbijanju voštanog moljca bitno je naglasiti da entomopatogene nematode nemaju štetno djelovanje na čovjekov organizam, te ih nije moguće pronaći u medu i drugim pčelinjim proizvodima. Biološka kontrola štetnih vrsta pčelinje zajednice u Hrvatskoj se danas ne primjenjuje, što zbog ekonomske neisplativosti, nedostupnosti proizvoda ili pak zbog nedovoljne informiranosti pčelara koji još uvijek koriste tradicionalne metode. Biološko suzbijanje entomopatogenim nematodama je sve više u porastu, te bi se u bližoj budućnosti mogla početi intenzivno primjenjivati i u pčelarstvu.



## 11. POPIS LITERATURE

1. Abdel-Naby, A. A., Ata llah, M. A., Morad, M. G., Mohamed, A. A. (1983.): Effect of different temperatures, relative humidity and light on the immature stages of the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). Proceeding of 5th Arab Pesticides Conference, Tanta University, 94-103
2. Ahmad, R., Muzaffer. N., Ali, Q. (1983.): Biological control of wax moths, *Achroia grisella* (F.) and *Galleria mellonella* (L.) (Lep: Galleridae) by augmentation of the parasite. *A. galleriae* Wilko (Hym: Braconidae), *Apiacta* 18(1):15-20
3. Bacca, T., Lagos, B. (2014.): Efecto de *Beauveria bassiana* y de la entomonematodo *Steinernema sp.* sobre larves de *Galleria mellonela*, Boletin cientificio de museum historia natural de Caldes 18 (1): 247-258
4. Bauer, M.E., Kaya, H.K., Peng, Y.S., Jiang, J. (1995.): Nonsusceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), to *Steinernematid* and *Heterorhabditid* nematodes, *Journal of nematology* 27(3):378-381
5. Belčić, J., Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Sulimanović, Đ., Šimić, F., Tomašec, I. (1985.): Pčelarstvo, Nakladni zavod znanje, Zagreb, 590-591 str.
6. Chau, N.N., Duyen, N.T. (2009.): The evolution of multiplication capacity in *Galleria* nematode isolates from Vietnam, *Tap chi sinh hoc*, 31(2):1-7
7. Ellis, J.D., Graham, J.R., Mortensen, A. (2012.): Standard methods for wax moth research, *Journal of Apicultural Research* 52(1)
8. Gruner, D.S., Ram, K., Strong, D. R. (2007): Soil mediates the interaction of coexisting entomopathogenic nematodes with an insected host, *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol. 94(1):12-9
9. Hyršl, P. (2011.): Patogenicity of 4 entomopatogenic nematodes species to *G. mellonella* larvae; *Karalms science and engineering journal*, 1(1):1-6
10. Jagdale, G.B., Gordon, R. (1997.): Effect of recyclins temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes, *Canadian journal of zoology*, 75(12): 2137-2141, 10.1139/z97-849
11. Kaya, H.K. (1990.): Soil Ecology. In: *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. (Eds. Gaugler, R. and Kaya, H.K.), CRC Press, Boca Raton, Florida, Supplement to the *Journal of Nematology* 27(4S):529-534
12. Laktić, Z., Šekulja, D. (2008.): *Suvremeno pčelarstvo*, Nakladni zavod globus, Zagreb, 440-443.

13. Milstead, J. E., Poinar, G.O. (1978.): A new entomogenous nematode for pest management systems, Calif. Agric 32:12
14. Oštrec, Čj. (2000.): Biološko suzbijanje štetnih insekata, Entomopatogenim nematodama, Agriculturae conspectus scientificus, Vol. 66 (2001.), No. 3 179-185
15. Seanz, A., Luque, J. E. (2000.): Cultivo *in vivo* metodo de almacenamiento para juveniles infectivos de *Steinernema feltiae* (Rhabdita: Steinernematidae), Agronomia Colombiana 2000. 17:37-45
16. Shapiro-Ilan, D. I., Han, R., Dolinski, C. (2012): Entomopathogenic Nematode Production and Application Technology, The Journal of Nematology, Society of nematologists, 44(2): 206–217.
17. Sonin, M. D. (1990): Helminths of insects, E. J. Brill, Zeiden, New York, Kobenhoun, Koln, 16-25
18. Tarihi, G. (2006.): Comparison of some biological characterizations of the Entomopathogenic nematodes *Steinernema weiseri* and *S. feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae), isolated in Turkey, Tarim bilimleri dergisi 2006, 12(4)340-344
19. Taha, E. H., Abdelmegeed, S. M. (2016.): Effect of Entomopathogenic Nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* on *Galleria mellonella* in Bee Hives of *Apis mellifera*, Journal of biological sciences, 16 (5): 197-201, 201
20. Tucak, Z., Bačić, T., Horvat, S., Puškadija, Z. (1999.): Pčelarstvo, Poljoprivredni fakultet, Osijek, 67-68 str.
21. Vasanthi, P., Raviprased, T. N., Nagesh, M., Nikhita, K. (2014.): Distribution of entomopathogenic nematodes and fungi in cashew ecosystem, Journal of biopesticides 7 (Supp.): 42-46

Jedinice sa interneta:

<http://www.afuturewithbees.com/resources/protect-your-bees/51-understanding-lesser-wax-moths-in-beekeeping> (17.8.)

<http://www.agrif.bg.ac.rs/files/subjectfiles/873/Fitonematologija%20praktikum.pdf> (18.8.)

<http://www.coloss.org/beebook/II/wax-moth/2/4> (17.8.)

<http://dlib.bpums.ac.ir/multiMediaFile/20773621-4-1.pdf;jsessionid=23bcc2bcba404b31df6a3b40b009befc9f538b59b66b487c4290f0fb40f4bf> (2.9)

[http://lrc.tnu.edu.vn/upload/collection/brief/27352\\_2542012939531.sh.2.09.pdf](http://lrc.tnu.edu.vn/upload/collection/brief/27352_2542012939531.sh.2.09.pdf) (25.8)

[http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/vol\\_7\\_0\\_42-46.pdf](http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/vol_7_0_42-46.pdf) (2.9.)

[http://pinova.hr/hr\\_HR/aktualno/entomopatogene-nematode-entomoinsekticidi-u-suzbijanju-stetnih-insekata](http://pinova.hr/hr_HR/aktualno/entomopatogene-nematode-entomoinsekticidi-u-suzbijanju-stetnih-insekata) (21.8.)

<http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/23040/9/09-chapter3.pdf> (8.8.)

<http://www.vita-europe.com/products/b401/> (20.9)

[http://www.wormbook.org/chapters/www\\_genomesHbacteriophora/genomesHbacteriophora.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_genomesHbacteriophora/genomesHbacteriophora.html) (28.8)

## 12. SAŽETAK

Mali voštani moljac (*A. grisella* Fabricius) je visoko rasprostranjeni štetnik u pčelarstvu, te može izazvati velike štete na uskladištenom saću i u samoj košnici. Jake pčelinje zajednice ga mogu same kontrolirati, ali ako je zajednica slaba može uništiti sve okvire. Biološka kontrola štetnih vrsta kukaca sve se više istražuje i pokušava primijeniti u praksi. Istraživanja su pokazala da se EPN mogu uspješno koristiti u suzbijanju malog voštanog moljca, te je dokazano da mogu uništiti sve ličinke voštanog moljca. Primjena ove metode nije opasna za ljude i okoliš, a učinak na pčelinju zajednicu i legla je neznatan.

**Ključne riječi:** mali voštani moljac, entomopatogene nematode, biološko suzbijanje, pčelinja zajednica

### 13. SUMMARY

Lesser wax moth (*A. grisella* Fabricius) is a important pest in bee-keeping, and can caus great damage to the stored comb and in the hive. The strong bee colonies can control lesser wax moth, but if the colony is weak, pest can destroy all combs. Biological control has been recently very much researched, and the efforts are given to put it in the practice. Research has proven that EPNs can be successfly used in biological control of lesser wax moth, and that they can destroy all of wax moth larvae. The application of that method is not dangerous for humans and environment, and don't have minor on the bee colonys and broods.

**Keywords:** lesser wax moth, entomopathogenic nematodes, biological control, bee colony

## **14. POPIS TABLICA**

Tablica 1. Prikaz broja otvorenih ćelija u odnosu na primijenjeni tretman.....	17
--	----

## 15. POPIS SLIKA

Slika 1. Mužjak odraslog voštanog moljca (gore), ženka odraslog voštanog moljca (dolje)...	3
Slika 2. Mikroskopski prikaz jaja voštanog moljca pod povećanjem 110x (slika A) i povećanjem od 560x (slika C).....	4
Slika 3. Ličinka (gore), kukuljica (sredina) i čahura (dolje) voštanog moljca .....	5
Slika 4. Prikaz potpuno uništenog okvira uslijed napada voštanog moljca.....	6
Slika 5. Štete voštanog moljca na drvenom dijelu okvira.....	6
Slika 6. Prikaz oštećenja voštanih kapa na leglu uslijed napada voštanog moljca.....	7
Slika 7. <i>In vivo</i> uzgoj različitih vrsta EPN u ličinkama voštanog moljca.....	9
Slika 8. <i>In vitro</i> uzgoj EPN sa spužvom.....	9
Slika 9. Prikaz „White trap“ metode za utvrđivanje prisustva EPN u ličinkama voštanog moljca.....	13

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Završni rad

BIOLOŠKO SUZBIJANJE MALOG VOŠTANOG MOLJCA (*Achroia grisella* Fabricius)  
ENTOMOPATOGENIM NEMATODAMA

BIOLOGICAL CONTROL OF LESSER WAX MOTH (*Achroia grisella* Fabricius) WITH  
ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES

Marina Antolović

## Sažetak

Mali voštani moljac (*A. grisella* Fabricius) je visoko rasprostranjeni štetnik u pčelarstvu, te može izazvati velike štete na uskladištenom saću i u samoj košnici. Jake pčelinje zajednice ga mogu same kontrolirati, ali ako je zajednica slaba može uništiti sve okvire. Biološka kontrola štetnih vrsta kukaca sve se više istražuje i pokušava primijeniti u praksi. Istraživanja su pokazala da se EPNs mogu uspješno koristiti u suzbijanju malog vošanog moljca, te je dokazano da mogu uništiti sve ličinke vošanog moljca. Primjena ove metode nije opasne za ljude i okoliš, a učinak na pčelinju zajednicu i legla je neznatan.

Ključne riječi: mali voštani moljac, entomopatogene nematode, biološko suzbijanje, pčelinja zajednica

## Summary

Lesser wax moth (*A. grisella* Fabricius) is a important pest in bee-keeping, and can caus great damage to the stored comb and in the hive. The strong bee colonies can control lesser wax moth, but if the colony is weak, pest can destroy all combs. Biological control has been recently very much researched, and the efforts are given to put it in the practice. Research has proven that EPNs can be successflly used in biological control of lesser wax moth, and that they can destroy all of wax moth larvae. The application of that method is not dangerous for humans and environment, and don't have minor on the bee colonys and broods.

Keywords: lesser wax moth, entomopathogenic nematodes, biological control, bee colony

Datum obrane: