

## Parasitoids of the genus *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), natural enemies of European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae)

## Parazitoidi roda *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), prirodni neprijatelji kukuruznog plamenca *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae)

Aleksandar IVEZIĆ<sup>1</sup> (✉), Branislav TRUDIĆ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Forecasting and Warning Service in Plant Protection, Agricultural extension service of Kikinda, Serbia

<sup>2</sup> Forest Resource Management Team, Forestry division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy

✉ Corresponding author: [aleksandarivezic@yahoo.com](mailto:aleksandarivezic@yahoo.com)

Received: April 7, 2021; accepted: August 25, 2021

### ABSTRACT

Maize (*Zea mays* Linnaeus, 1753) is economically the most important crop in Serbia, while the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) is the its most significant pest of this crop. One of the potentially successful and environmentally friendly method for biological control of this pest is based on the usage of wasps from the genus *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), which parasitize the egg clusters of European corn borer. From the aspect of biological control of agricultural pests, species of the genus *Trichogramma* represent the most important parasitoids of harmful Lepidoptera insects. The use of parasitoids of the genus *Trichogramma* in the biological control of agricultural pests is widely used in many developed countries. However, in certain geographical regions, including the Balkan countries, the potential of these insects in biological control has not yet been fully exploited. Native populations of this genus show a high practical potential in biological control that the agricultural sector of the Republic of Serbia does not use at all. The results of research conducted in Serbia, which show a high capacity for parasitism of indigenous species from local *Trichogramma* populations, especially when it comes to *T. brassicae* species, indicate the potential for commercial production of these beneficial insects and their targeted use in biological control of European corn borer. The aim of this review is to indicate the potential of parasitoids of the genus *Trichogramma* present on the territory of Serbia in programs of biological control of agricultural pests, primarily harmful Lepidoptera such as *O. nubilalis*.

**Keywords:** *Trichogramma* spp., ITS2, *Ostrinia nubilalis*, PCR, *Wolbachia*

### APSTRAKT

Kukuruz (*Zea mays* Linnaeus, 1753) predstavlja ekonomski najznačajniju ratarsku kulturu u Srbiji, dok kukuruzni plamenac *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) predstavlja najznačajniju štetočinu ove kulture. Jedna od potencijalno uspešnih i ekološki prihvatljivih metoda za biološko suzbijanje kukuruznog plamenca zasniva se na primeni osica iz roda *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) koje parazitiraju jajna legla kukuruznog plamenca. Sa aspekta biološke kontrole poljoprivrednih štetočina, vrste iz roda *Trichogramma* predstavljaju najvažnije parazitoide štetnih Lepidoptera. Upotreba parazitoida iz roda *Trichogramma* u biološkom suzbijanju poljoprivrednih štetočina ima široku primenu u mnogim razvijenim zemljama sveta. Ipak, u određenim geografskim regionima, uključujući

zemlje Balkana, potencijal ovih insekata u biološkoj borbi nije u potpunosti iskorišćen. Nativne populacije vrsta ovog roda pokazuju veliki praktični potencijal u biološkoj kontroli koji sektor poljoprivrede Republike Srbije i dalje uopšte ne koristi. Rezultati sprovedenih istraživanja na teritoriji Srbije koji pokazuju visoki kapacitet parazitizma autohtonih vrsta iz lokalnih *Trichogramma* populacija, naročito kada je u pitanju vrsta *T. brassicae*, ukazuju i na potencijalnu mogućnost komercijalne proizvodnje ovih korisnih insekata i njihove ciljane primene u biološkoj kontroli kukuruznog plamenca. Cilj ovog preglednog rada je ukazivanje na potencijal parazitoida iz roda *Trichogramma* prisutnih na teritoriji Srbije u programima biološke kontrole poljoprivrednih štetočina, pre svega štetnih Lepidoptera poput *O. nubilalis*.

**Ključne reči:** *Trichogramma* spp., ITS2, *Ostrinia nubilalis*, PCR, *Wolbachia*

## DETAILED ABSTRACT

Maize (*Zea mays* Linnaeus, 1753) is the most economically important crop in Serbia, while the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) is the most important pest of this crop. One of the potentially successful and environmentally friendly method for biological control of this pest is based on the usage of wasps from the genus *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) which parasitize the eggs of European corn borer (ECB). From the aspect of biological control of agricultural pests, species from the genus *Trichogramma* represent the most important parasitoids of harmful Lepidoptera. The use of parasitoids of the genus *Trichogramma* in the biological control of agricultural pests is widely used in many developed countries. However, in certain geographical regions, including the Balkan countries, the potential of these insects in biological control has not yet been fully exploited. Regular monitoring of ECB in the region of Vojvodina demonstrated a high percentage of parasitized egg clusters of this pest. Parasitized egg clusters were found during the period of oviposition of the second and third generation of ECB. Morphological and molecular identification of emerged adults sampled in corn fields in Vojvodina revealed that they belong to the genus *Trichogramma*. Native populations of species of this genus show great practical potential in biological control, which the agricultural sector of the Republic of Serbia still does not use at all. The results of the conducted research of monitoring and molecular identification of wasps on the territory of Serbia show a high capacity of parasitism of autochthonous species from local *Trichogramma* populations, especially when it comes to *T. brassicae* species. These results also indicate the potential possibility of commercial production of these beneficial insects and their targeted application in the biological control of European corn borer. In this paper, the perspectives of research strategy and practical application of wasps from the genus *Trichogramma* are presented. It is necessary to conduct a lot of research, especially in controlled, semi-controlled and field conditions, so that the agricultural sector of the Republic of Serbia can commercialize the production of native species of *Trichogramma* wasps against harmful insects for wider application. One of the potentially greatest risks for conducting this type of biological control is the impact of the release of introduced species of this genus on local agricultural and native biodiversity. The aim of this review is to indicate the potential of parasitoids of the genus *Trichogramma*, present on the territory of Serbia, in the programs of biological control of agricultural pests, primarily harmful Lepidoptera such as *O. nubilalis*.

## UVOD

U sistemu integralnog ratarenja veoma važno mesto zauzimaju biološke mere zaštite, koje u savremenoj svetskoj poljoprivredi sve više dobijaju na značaju i baziraju se na upotrebi korisnih insekata (Molnar, 2004). Između štetnih i korisnih organizama postoji prirodna ravnoteža, koja je najčešće nedovoljna za postizanje zadovoljavajućih rezultata u smanjenju brojnosti populacija štetočina u intenzivnom gajenju kulturnog bilja. Stoga se biološka zaštita može definisati kao

manipulacija korisnih insekata od strane čoveka u cilju smanjenja populacije poljoprivrednih štetočina (Raspudić et al., 1999). U strukturi poljoprivrede Republike Srbije najznačajnije mesto zauzima biljna proizvodnja koja čini 70% ukupne poljoprivredne proizvodnje (Ilić et al., 2016). U najznačajnije ratarske kulture spadaju kukuruz, pšenica, suncokret, šećerna repa i soja, pri čemu se kukuruz smatra vodećom ratarskom kulturom u Srbiji. Iako je proizvodnja kukuruza ugrožena delovanjem brojnih štetnih insekata

kao što su kukuruzna zlatica *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868 (Coleoptera: Chrysomelidae), pamukova sovica *Helicoverpa armigera*, Hübner 1808 (Lepidoptera: Noctuidae), biljne vaši (Hemiptera: Aphididae), ekonomski najznačajnija štetočina kukuruza u Srbiji je kukuruzni plamenac *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) (Čamprag et al., 1983; Čamprag et al., 2004; Kereši et al., 2014).

Jedna od potencijalno uspešnih i ekološki prihvatljivih metoda za biološko suzbijanje kukuruznog plamenca zasniva se na primeni osica iz roda *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), koje parazitiraju jajna legla kukuruznog plamenca. Prisustvo ovih korisnih insekata registrovano je u brojnim zemljama širom Mediterana (Silva et al., 1999a; Oztemiz, 2007; Pintureau, 1987), dok je na teritoriji Srbije prisustvo *Trichogramma* parazitoida zabeleženo u zasadima kupusa, kukuruza šećerca i šumskim ekosistemima (Krnjajić, 2002; Tancik, 2017; Mihajlović, 2018; Ivezić et al., 2020; Ivezić, 2020). Tokom sprovođenja programa monitoringa kukuruznog plamenca u periodu od 2010. do 2018. godine u regionu Kikinde (Vojvodina, Srbija), ali i u drugim regionima u Vojvodini (Novi Sad, Vrbas, Senta, Vršac, Zrenjanin, Sombor) registrovan je izrazito visok procenat parazitiranih jajnih legala kukuruznog plamenca ([www.pissrbija.com](http://www.pissrbija.com)). Parazitirana jajna legla registrovana su tokom aktivnosti druge i treće generacije kukuruznog plamenca. Morfološka i molekularna identifikacija eklodiranih jedinki pokazala je da su parazitirana jajna legla plamenca posledica aktivnosti parazitoidnih osica iz roda *Trichogramma* (Ivezić et al., 2018; Ivezić et al., 2020; Ivezić, 2020).

Cilj ovog preglednog rada je ukazivanje na potencijal parazitoida iz roda *Trichogramma* prisutnih na teritoriji Srbije u programima biološke kontrole poljoprivrednih štetočina, pre svega štetnih Lepidoptera poput *O. nubilalis*.

#### **Primena *Trichogramma* spp. u biološkoj borbi protiv štetočina**

Već na samom početku 20. veka pojedini biolozi su prepoznali potencijal ovih insekata u biološkoj borbi i od

tada se mnoge *Trichogramma* vrste uspešno primenjuju u suzbijanju brojnih štetočina, te danas gotovo da ne postoje korisni insekti sa širom primenom od osica iz roda *Trichogramma* (Li, 1994). Biološki parametri *Trichogramma* spp. kao što su fekunditet i fertilitet ženki, dugovečnost adulta, sposobnost lociranja domaćina i stopa parazitizma svakako idu u prilog ovim parazitoidima i doprinose njihovoj visokoj efikasnosti u programima biološke kontrole poljoprivrednih štetočina. Dodatni razlog koji favorizuje masovnu primenu *Trichogramma* vrsta proizilazi iz relativno jednostavnog uzgoja ovih organizama u laboratorijskim uslovima. Podjednako bitna činjenica koja indukuje primenu ovih parazitoida je njihov širok areal rasprostiranja, odnosno prisutnost različitih *Trichogramma* vrsta u različitim ekosistemima, te se upravo tim prirodnim/nativnim populacijama najčešće daje prednost prilikom selekcije odgovarajuće vrste parazitoida za komercijalnu upotrebu i augmentaciju (Nordlund, 1994).

Hassan (1997) i Van Lenteren (2000) navode da se preko 16 miliona hektara poljoprivrednog zemljišta širom sveta tretira vrstama iz roda *Trichogramma*, dok Smith (1996) procenjuje upotrebu *Trichogramma* vrsta na 32 miliona hektara. Procena o praktičnoj primeni *Trichogramma* parazitoida varira od autora do autora, ali je svakako zabeležen konstantan porast zemalja, kako u Evropi tako i u Aziji i Americi, u kojima se uspostavlja ovakav način zaštite useva (Van Lenteren i Bueno, 2003).

Poznato je bar pet praktično primenjivanih *Trichogramma* vrsta (*T. evanescens* Westwood, 1833; *T. brassicae* Bezdenko, 1968; *T. ostriniae* Pang and Chen, 1974; *T. dendrolimi* Matsumura, 1926; *T. nubilale* Ertle and Davis, 1975) koje su pokazale značajnu efikasnost u suzbijanju kukuruznog plamenca i njegove srodne vrste, orijentalnog kukuruznog plamenca, *Ostrinia furnacalis* Guenée, 1854 (Wang et al., 1999). Na evropskom tlu, najširu primenu u suzbijanju kukuruznog plamenca pronašla je vrsta *T. evanescens*, čija je upotreba zabeležena u zemljama bivšeg Sovjetskog Saveza (Beglyarov i Smitnik, 1977) i u Nemačkoj (Hassan, 1993). Vrsta *T. brassicae* (syn. *T. maidis* Pintureau and Voegelé, 1980) je primenjivana za suzbijanje plamenca u drugim evropskim zemljama kao

što su Švajcarska (Bigler, 1986), Francuska, Italija, Austrija i Holandija (Van Schelt i Ravensberg, 1991).

*Trichogramma* vrste koje potiču iz različitih ekosistema se razlikuju po brojnim karakteristikama, pa samim tim i po potencijalu u biološkoj kontroli. Dobra početna strategija pri selekciji adekvatne vrste podrazumeva poređenje bioloških osobina svih raspoloživih vrsta o kojima postoje literaturni podaci. Efikasnost suzbijanja štetnog insekta koristeći native i introdukovane *Trichogramma* vrste treba najpre proveriti kroz laboratorijske eksperimente, a zatim ispitati, pratiti i procenjivati i u polu-kontrolisanim i prirodnim uslovima. Brojne osobine korisnih insekata iz roda *Trichogramma* su izučavane kako bi se unapredile strategije biološke kontrole, kao što su sposobnost pronalaska domaćina, disperzija populacije, procenat eklozije imaga, procenat vitalnih ženki, let, sposobnost kretanja i brzina hodanja (Burbutis et al., 1977; Kot, 1979; Greenberg, 1991; Kazmer i Luck, 1995; Cerutti i Bigler, 1995; Drost et al., 2000; Suverkropp et al., 2001).

## BIOLOGIJA I IDENTIFIKACIJA VRSTA IZ RODA TRICHOGRAMMA

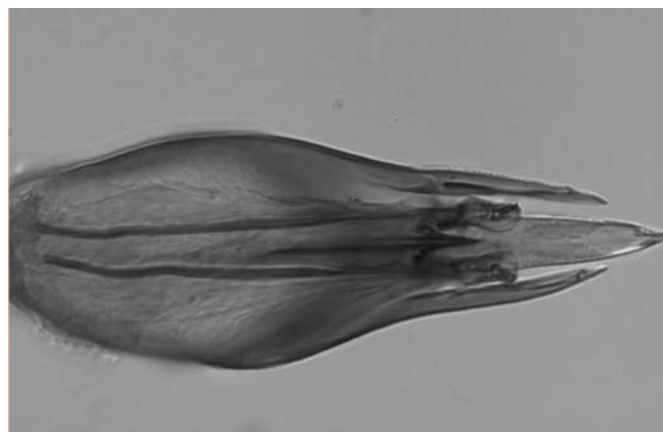
### Taksonomija roda i pripadajućih vrsta

Parazitne osice iz roda *Trichogramma* pripadaju redu Hymenoptera, nadfamiliji Chalcidoidea i familiji Trichogrammatidae. Familija Trichogrammatidae obuhvata 80 rodova i oko 640 vrsta, a u okviru roda *Trichogramma* u svetu postoji 210 opisanih vrsta (Pinto, 2006). Na Evropskom tlu identifikovano je 40 vrsta iz roda *Trichogramma* uz konstantnu identifikaciju novih vrsta (Pintureau et al., 2000), od kojih najširu primenu u biološkoj kontroli imaju: *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927, *T. brassicae*, *T. dendrolimi* i *T. evanescens* (EPPO, 2002). Na teritoriji Srbije praćenjem dinamike kupusne sovice *Mamestra brassicae* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Noctuidae) i monitoringom kukuruza identifikovano je prisustvo vrsta *T. evanescens* i *T. brassicae* (Krnjajić, 2002; Tancik, 2017; Ivezić et al., 2018; Ivezić et al., 2020; Ivezić, 2020), dok Mihajlović (2016) navodi *Trichogramma cacoeciae viridanae* kao vrlo efikasnu vrstu u suzbijanju zelenog hrastovog savijača *Tortrix viridana* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Tortricidae) u šumarstvu.

### Morfološka identifikacija

Izrazito male dimenzije vrsta iz roda *Trichogramma* (<1 mm), kao i nedostatak pouzdanih morfoloških karakteristika otežavanju određivanje taksonomske pripadnosti i ispravnu identifikaciju vrsta (Stouthamer et al., 1999). U okviru pojedinih vrsta ovog roda postoji veliki broj rasa i ekotipova koji su morfološki veoma slični, ali se mogu razlikovati po biološkom ciklusu, fiziološkim osobinama i prema spektru domaćina (Krnjajić, 2002). Za morfološku identifikaciju ovih osica postoji svega nekoliko pouzdanih morfoloških karaktera, a sam postupak morfološke determinacije predstavlja dugoročan proces koji zahteva specijalizovano znanje i veliko iskustvo (Nagarkatti i Nagaraja, 1968; Nagarkatti i Nagaraja, 1971; Pinto i Stouthamer, 1994). *Trichogramma* vrste su u prošlosti prvenstveno determinisane na osnovu boje tela i rasporeda seta na krilima.

Značajan korak u taksonomiji ovih insekata postignut je zahvaljujući Nagarkatti i Nagaraja (1968; 1971) koji su uočili specifičnosti u morfološkoj građi genitalija mužjaka kod pojedinih vrsta iz ovog roda (Slika 1).



**Figure 1.** Microscopy photo of male *T. brassicae* genitalia (taken from Ivezić, 2020)

**Slika 1.** Mikroskopski snimak građe genitalija kod mužjaka *T. brassicae* (preuzeto iz Ivezić, 2020)

Iako je ovo otkriće predstavljalo veliki napredak u taksonomiji i omogućilo identifikaciju brojnih *Trichogramma* vrsta, ova metoda je vremenski veoma zahtevna i podrazumeva posedovanje specijalizovanih veština determinacije, neophodnih za pripremanje mikroskopskog preparata, ali i izuzetno poznavanje morfoloških karakteristika datog roda. Takođe, značajan

nedostatak ove metode leži u činjenici da se ovim postupkom mogu identifikovati samo mužjaci, što predstavlja značajan limitirajući faktor s obzirom da se u prirodi vrlo često registruju telitokne partenogenetske forme među kojima nema mužjaka ili su mužjaci vrlo retki (Stouthamer et al., 1999). Greške u identifikaciji vrsta često su uzrokovale upotrebu neadekvatnih *Trichogramma* vrsta u komercijalne svrhe što je značajno smanjivalo efikasnost primenjenih parazitoida i onemogućilo postizanje željenih rezultata (Stouthamer et al., 1999). Brojne vrste roda *Trichogramma* pokazuju veoma izraženu sklonost ka specifičnim staništima (Nordlund, 1994), pa je izbor odgovarajuće vrste ključan u postupcima primene biološke borbe (Stouthamer et al., 1999).

### Molekularna identifikacija

Komplikovana morfološka identifikacija vrsta iz roda *Trichogramma* značajno je olakšana primenom molekularnih metoda koje omogućavaju pouzdaniju i rutinski izvodljivu identifikaciju ovih insekata. Molekularna identifikacija vrsta iz roda *Trichogramma* se prvenstveno bazira na analizi DNK sekvenci i na genetičkom mapiranju pomoću RAPD (eng. Random Amplification of Polymorphic DNA) markera (Laurent et al., 1996). Kod *Trichogramma* vrsta, ribozomska DNK se sastoji od tri visoko konzervirana regiona koji kodiraju ribozomsku RNK, a međusobno su razdvojeni sa dva interna transkripciona spejsera (eng. *Internal Transcribed Spacers 1 and 2*: ITS1 i ITS2). Stouthamer (1999) je sa svojim saradnicima prvi utvrdio praktičnu primenu DNK sekvenci internog transkripcionog spejsera 2 (ITS2) u postupcima molekularne identifikacije vrsta iz roda *Trichogramma*. ITS2 je intron, nekodirajući deo ribozomske DNK (rDNK) i ovaj region se uspešno koristi za identifikaciju i karakterizaciju vrsta iz roda *Trichogramma* (Pinto et al., 2002). ITS2 region je visoko specifičan za vrste iz roda *Trichogramma*, odnosno veoma je konzerviran unutar iste vrste i značajno varira između različitih *Trichogramma* vrsta (Tabela 1, Slika 2) (Sumer et al., 2009). Razvojem pouzdanijih molekularnih tehnika za identifikaciju determinisan je znatno veći broj vrsta ( $\approx 200$ ) (Pinto, 1999).

**Table 1.** The length of ITS2 regions within various *Trichogramma* species (taken from Sumer et al., 2009)

**Tablica 1.** Dužina ITS2 regiona kod različitih *Trichogramma* vrsta (preuzeto iz Sumer et al., 2009)

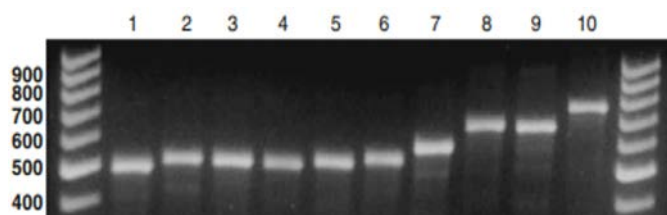
Species	Accession number (GenBank)	Amplified ITS2 region size in base pairs (bp)
Vrsta	Pristupni identifikacioni broj (GenBank)	Veličina umnoženog ITS2 regiona u baznim parovima (bp)
<i>T. euproctidis</i>	AF043614	489
<i>T. brassiaca</i>	AY182766	519
<i>T. oleae</i>	U74601	512
<i>T. dendrolimi</i>	AF453650	516
<i>T. cordubensis</i>	AF04319	529
<i>T. evanescens</i>	AF043617	548
<i>T. cacoeciae</i>	AF409654	578
<i>T. pintoi</i>	AY182757	694
<i>T. bourarachae</i>	AFO43624	666
<i>T. nerudai</i>	AY182756	745

### Ciklus razvika *Trichogramma* spp.

Osice iz roda *Trichogramma* su polifagni endoparaziti insekata (parazitoidi) koji se razvijaju u svom domaćinu. Sve vrste iz ovog roda spadaju u grupu parazitoida koji parazitiraju jaja drugih insekata (Slika 3). Za ove parazitoide je karakteristično da isključivo stadijum larve vodi parazitski život i upravo larva ubija svog domaćina. Ono što odlikuje sve *Trichogramma* vrste su izrazito sitne dimenzije tela. Dužina tela adulta varira od 0,2 mm do 1,5 mm, dok teže svega 8  $\mu$ g, što u velikoj meri otežava njihovu morfološku identifikaciju (Silva et al., 1999b).

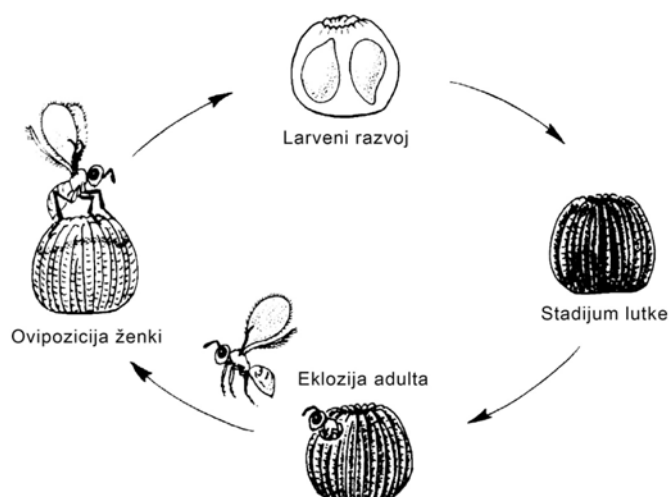
Pri pronalaženju jaja domaćina u koje će položiti svoja jaja, odrasla ženka osice se orijentiše pomoću hemijskog (ženka domaćina prilikom ovipozicije luči određenu količinu kairomona) i vizuelnog (oblik i boja jaja domaćina) atraktanta poreklom od domaćina. Kada ženka osice locira jaje domaćina, legalicom pravi otvor na horionu i polaže svoja jaja unutar jajeta domaćina, pri čemu iz otvora na jajetu domaćina ističe određena količina vitelusa kojim se ženka osice hrani. Ruberson i Kring (1993) ističu da ishrana vitelusom parazitiranog jajeta produžava životni vek ženke parazitoida.

Broj jaja koje ženka *Trichogramma* sp. položi u jedno jaje domaćina varira od veličine jajeta domaćina i kreće se u rasponu od 1 do 4. Za ove vrste nije karakterističan superparazitizam, te ženke *Trichogramma* nisu sklone ovipoziciji u već parazitiranim jajima domaćina (Hajek, 2004). Ipak, parazitiranje istog jajnog legla domaćina od strane više *Trichogramma* vrsta nije retka pojava kod ovih insekata (Huigens and Stouthamer, 2003).



**Figure 2.** The length of ITS2 regions in base pairs within certain *Trichogramma* species. Bands from 1 to 10 are (from left to right): 1: *T. euproctidis*, 2: *T. brassicae*, 3: *T. oleae*, 4: *T. dendrolimi*, 5: *T. cordubensis*, 6: *T. evanescens*, 7: *T. cacoeciae*, 8: *T. pintoi*, 9: *T. bourarachae*, 10: *T. nerudai* (taken from Sumer et al., 2009). Columns from far right and left represents the order of bands of known length coming from Fermentas® manufacturer, which were used as comparative length control for the purpose of relative preliminary determination of sample bands size

**Slika 2.** Dužina ITS2 regiona u baznim parovima kod pojedinih *Trichogramma* vrsta. Trakice od 1 do 10 su (s leva na desno): 1: *T. euproctidis*, 2: *T. brassicae*, 3: *T. oleae*, 4: *T. dendrolimi*, 5: *T. cordubensis*, 6: *T. evanescens*, 7: *T. cacoeciae*, 8: *T. pintoi*, 9: *T. bourarachae*, 10: *T. nerudai* (preuzeto iz Sumer et al., 2009). Kolone sa krajnje leve i desne strane predstavljaju raspored trakica poznate dužine proizvođača Fermentas® koji su služili kao komparabilna kontrola dužina kako bi se relativno odredile preliminarnu dužine trakica uzoraka



**Figure 3.** Life cycle of the *Trichogramma* sp. wasp (taken from <https://www.flickr.com/photos/allaboutblueberries/4882541446>, accessed on April, 2020)

**Slika 3.** Životni ciklus osice *Trichogramma* sp. (preuzeto sa <https://www.flickr.com/photos/allaboutblueberries/4882541446>, pristupljeno April, 2020)

Tokom ovipozicije ženka *Trichogramma* osice u jaje domaćina ispušta otrov (toksine), koji razgrađuje vitelus i embrion parazitiranog jajeta, stoga sadržaj parazitiranog jajeta biva razgrađen pre piljenja larvi parazitoida. Pored toga, deponovani toksini služe za eliminaciju patogena i predatora, odnosno konkurenata za izvor hrane (Ksentini and Herz, 2019). Larve parazitoida se pile u roku od 24 sata nakon ovipozicije i tokom razvića prolaze kroz tri larvena stupnja (Strand, 1986). Tokom poslednjeg larvenog stupnja, pigment melanin se deponuje na horionu jajeta domaćina i parazitirana jaja dobijaju karakterističnu crnu boju po kojoj se veoma lako razlikuju od neparazitiranih jaja (Slika 4).



**Figure 4.** European corn borer parasitized egg litter (with courtesy of Milan Vidić, private archive. Photo taken in 2014, Novi Sad, Republic of Serbia)

**Slika 4.** Parazitirano jajno leglo kukuruznog plamena (ljubaznošću Milana Vidića, privatna arhiva. Fotografija napravljena 2014.godine u Novom Sadu, Republica Srbija)

Larva trećeg stupnja prelazi u stadijum lutke, a nakon 4-5 dana formira se imago (Slika 5), koji progriže otvor na horionu i napušta parazitirano jaje (Strand, 1986) (Slika 6). Male dimenzije tela, kao i realne poteškoće u istraživanjima biologije osica roda *Trichogramma* izazvale su neslaganja autora čak i oko broja larvenih stupnjeva. Flanders (1946) i Curtis (1940) navode da rod *Trichogramma* ima 3 larvena stupnja, dok Pak i Oatman (1982) tvrde da postoje četiri larvena stupnja.

Alkarrat (2013) navodi da vrste iz roda *Trichogramma* ciklus razvića završavaju za 10 dana pri temperaturi od  $25 \pm 1$  °C. U laboratorijskim uslovima ženka parazitira, odnosno izvrši ovipoziciju u jednom do 10 jaja domaćina

dnevno, a čak do 190 tokom životnog veka (Ruberson and Kring, 1993). Isti autori tvrde da krupnije ženke parazitiraju više jaja od sitnijih ženki, ali i da sveže položena jaja domaćina više pogoduju razvoju parazitoida te su podložnija njihovom napadu. *Trichogramma* ženke vrlo retko parazitiraju jaja u kojima je došlo do diferenciranja larve domaćina, jer je pod takvim okolnostima stopa preživljavanja larvi parazitoida vrlo niska (Ruberson and Kring, 1993).



**Figure 5.** Imago of *Trichogramma* sp. (with courtesy of Boško Jezerkić, private archive. Photo taken in 2014, Novi Sad, Serbia)

**Slika 5.** Imago *Trichogramma* sp. (ljubaznošću Boška Jezerkića, privatna arhiva. Fotografija napravljena 2014, u Novom Sadu, Republica Srbija)



**Figure 6.** Abandoned parasitized egg litter of *O. nubilalis* (with courtesy of Ankica Sarajlić, private archive. Photo taken in 2010, in Osijek, Republic of Croatia)

**Slika 6.** Napušteno parazitirano jajno leglo *O. nubilalis* (ljubaznošću Ankice Sarajlić, privatna arhiva. Fotografija napravljena 2010. godine u Osijeku, Republika Hrvatska)

*Trichogramma* parazitoidi uglavnom prezimljavaju u larvenom stadijumu u jajetu domaćina. Određene vrste prezimljavaju u stadijumu lutke kako bi preživele duži period pod niskim temperaturama (Lopez et al., 1980). Najznačajniji faktor spoljašnje sredine koji utiče na ulazak u zimsku dijapauzu (hibernaciju) kod *Trichogramma* parazitoida je niska temperatura (Boivin, 1994). Pored temperature, dijapauzu može indukovati fotoperiod i način ishrane (Alkarrat, 2013). Istraživanje perioda mirovanja vrsta iz roda *Trichogramma* privlači veliku pažnju istraživača, usled činjenice da su ovi organizmi ne samo široko primenjeni u biološkom suzbijanju raznih poljoprivrednih štetočina, već i važni predstavnici brojnih prirodnih biocenoza (Boivin, 1994; Smith, 1996).

#### **Razmnožavanje *Trichogramma* spp.**

Kao predstavnici reda Hymenoptera, *Trichogramma* vrste predstavljaju haplo-diploidne organizme. Za većinu predstavnika reda Hymenoptera pored seksualne reprodukcije karakteristično je partenogenetsko razmnožavanje, odnosno razmnožavanje bez oplodnje. Najzastupljeniji oblik partenogeneze je arenotokna partenogeneza. Pri ovakvom načinu razmnožavanja iz neoplođenih jaja razvijaju se haploidni mužjaci, dok se iz oplodjenih jaja razvijaju diploidne ženke. Ipak, među pojedinim predstavnicima ovog reda prisutna je i telitokna partenogeneza koja se karakteriše produkcijom diploidnih ženki iz neoplođenih jaja (Luck et al., 1992). Telitoknom partenogenezom ove vrste mogu da produkuju veliki broj generacija u potpunom odsustvu mužjaka i seksualne reprodukcije. Telitokna partenogeneza nije retka pojava kod predstavnika iz roda *Trichogramma*. Pinto i Stouthamer (1994) navode da postoji bar 14 *Trichogramma* vrsta kod kojih su zabeležene telitokne forme.

Prema navodima Stouthamer (1997), telitokna partenogeneza kod *Trichogramma* se najčešće povezuje sa prisustvom endosimbiontske bakterije *Wolbachia*. *Wolbachia* je alfa proteobakterija koja je široko rasprostranjena i prisutna je u mnogim insekatskim vrstama. Prenosi se transovariolno (citoplazmom jajeta) i utiče na reproduktivne procese domaćina na različite načine (O'Neill et al., 1992; Werren et al., 1995). De

Almeida (2004) navodi da je registrovano 17 *Trichogramma* vrsta kod kojih je utvrđeno prisustvo *Wolbachia* bakterije. Među registrovanim *Trichogramma* vrstama, najčešći oblik reproduktivne modifikacije indukovana ovom bakterijom je upravo telitokna partenogeneza (De Almeida, 2004). U haplo-diploidnim *Trichogramma* osicama, citogenetički mehanizam *Wolbachia*-indukovane partenogeneze je poznat i kao duplikacija gameta (Stouthamer, 1997). Normalna mejoza je proračunata spajanjem dva jedra tokom prve mitotičke deobe što obnavlja diploidnost (Stouthamer and Kazmer, 1994). Ovakva pojava vrlo učinkovito čini potomstvo homozigotnim na svim lokusima u genomu (Stouthamer, 1997).

Prenos bakterije je vertikalni i vrši se sa zaražene ženke na potomstvo, dok mužjaci ne prenose *Wolbachia* bakteriju na svoje potomstvo (Huigens and Stouthamer, 2003). Kod *Trichogramma* vrsta ova endosimbiontska bakterija može uticati na fekunditet i dugovečnost adulta, ali može povećati i mortalitet larvi (Stouthamer and Luck, 1993). Telitokna partenogeneza kod *Trichogramma* spp. je zabeležena i pri potpunom odsustvu *Wolbachia* bakterije, što implicira da ovaj oblik partenogeneze kod *Trichogramma* spp. ne mora uvek biti posledica infekcije ovom bakterijom (De Almeida and Stouthamer, 2003). Sa aspekta efikasnosti *Trichogramma* parazitoida u biološkoj borbi protiv štetočina, telitokna partenogeneza indukovana *Wolbachia* bakterijom pokazuje izvesne prednosti. Telitokne linije parazitoida odlikuju manji troškovi laboratorijskog gajenja, jer se produkcijom diploidnih telitoknih ženki isključuje produkcija mužjaka, nepotrebnih u biološkom suzbijanju poljoprivrednih štetočina (Silva et al., 1999b).

### PRAKTIČNE IMPLIKACIJE I POTENCIJALNI RIZICI KOMERCIJALNE PRIMENE VRSTA IZ RODA TRICHOGRAMMA

Upotreba parazitoida iz roda *Trichogramma* u biološkom suzbijanju poljoprivrednih štetočina ima široku primenu u mnogim razvijenim zemljama sveta kao što su Švajcarska, Francuska, Rusija, Nemačka, SAD (Beglyarov and Smitnik, 1977; Hassan, 1993; Bigler, 1986; Van Schelt and Ravensberg, 1991). Sektor poljoprivrede,

šumarstva i agrošumarstva u Republici Srbiji ne koristi ni približan deo mogućnosti ovih parazitoida i pored visokog potencijala nativnih populacija za biološku kontrolu štetnih organizama (Krnjajić, 2002; Tancik, 2017; Ivezić et al., 2018; Ivezić et al., 2020; Ivezić, 2020). Sprovedeni dvogodišnji monitoring kukuruznog plamenca na teritoriji Vojvodine ide u prilog ovoj hipotezi, gde je registrovano prisustvo parazitiranih jaja plamenca uz visoku stopu parazitiranosti od strane osica iz roda *Trichogramma* (Ivezić, 2020). Na teritoriji opštine Kikinda u 2016. godini prosečna stopa parazitiranosti iznosila je 64,67%, a u 2017. godini, u kojoj je registrovana brojnost kukuruznog plamenca na svetlosnim klopama bila višestruko niža u odnosu na prethodnu godinu (4,9 puta u Kikindi i 12,2 puta u Banatskoj Topoli), prosečna stopa parazitiranosti jajnih legala je iznosila 38,84% (Ivezić, 2020). Ovi rezultati su dobijeni uzorkovanjem parazitiranih jajnih legala tokom pomenutog monitoringa 2016. i 2017. godine, pri čemu je u obe godine istraživanja pregledan po jedan usev merkantilnog kukuruza na 17 različitih lokaliteta tokom aktivnosti II i III generacije kukuruznog plamenca. U svakom pregledanom usevu kukuruza, koji je uzgajan po principima konvencionalne proizvodnje, pregledano je po 100 biljaka kukuruza po metodi Reid i saradnika (1996). Slični rezultati dobijeni su višegodišnjim monitoringom kukuruza šećerca u severozapadnoj Srbiji na lokalitetu Ruski Krstur, kada je zabeležena visoka stopa parazitiranih jaja kukuruznog plamenca kao posledica aktivnosti vrsta iz roda *Trichogramma* (Tancik, 2017). U pomenutoj studiji, tokom perioda između 2004 i 2007. godine, procenat parazitiranih jajnih legala varirao je između 9,3% i 73,6% u zavisnosti od lokaliteta i datuma pregleda, ukazujući da su ovi korisni insekti u našem agroekosistemu konstantno prisutni, ali da njihova aktivnost i visina populacije varira od godine do godine.

Visoka stopa parazitizma koja odlikuje autohtone populacije *Trichogramma* parazitoida na teritoriji Srbije je potencijal koji se nikako ne sme zanemariti. Stoga bi ove osice, ali i brojni drugi korisni insekti koji su prisutni na teritoriji Srbije, morali pronaći svoje mesto u komercijalnoj upotrebi, odnosno u masovnoj proizvodnji i primeni u biološkoj kontroli štetnih



insekata (Ivezić, 2020). Ipak, jedan od ključnih uslova za uspešnu primenu ovih organizama u praksi jeste izbor i tačna identifikacija adekvatne *Trichogramma* vrste, jer različite vrste preferiraju različita staništa, domaćine i uslove sredine. Pogrešna identifikacija može uzrokovati laboratorijsko gajenje neadekvatnih *Trichogramma* vrsta i njihovu rizičnu distribuciju. Na teritoriji Severne Amerike pojedine *Trichogramma* vrste su pogrešno identifikovane i kao takve su distribuirane u komercijalne svrhe, a slični problemi javljali su se sredinom devedesetih i na evropskom tlu prilikom suzbijanja kukuruznog plamenca (Fahriye et al., 2009). U cilju utvrđivanja biodiverziteta i inventarizacije ovih parazitskih osica, kao i potencijala u efikasnoj biološkoj kontroli štetočina, neophodno je ispitati prisustvo *Trichogramma* vrsta i na drugim alternativnim domaćinima, kako na štetnim vrstama, tako i na vrstama koje se ne svrstavaju u kategoriju štetnih organizama, ali su atraktivni domaćini za parazitoidne iz roda *Trichogramma*.

Svi prethodno navedeni parametri utiču na efikasnost primenjenih *Trichogramma* osica, jer određuju u kom stepenu će korisni insekt parazitirati ciljnog domaćina, tj. štetnog insekta (Oliveira et al., 2003). Efikasnost biološke borbe je u direktnoj korelaciji sa kvalitetom prirodnih neprijatelja. S obzirom da se *Trichogramma* vrste za komercijalne potrebe uzgajaju laboratorijskim putem, neophodno je ispitati sve faktore, kako biotičke tako i abiotičke, koji utiču na kvalitet proizvedenih osica i biološke karakteristike primenjenih parazitoida.

S obzirom na biološku raznovrsnost roda *Trichogramma*, istraživanja genetičkog diverziteta populacija *Trichogramma* na širem području Srbije i zemalja u okruženju bi verovatno rezultovalo utvrđivanjem većeg broja autohtonih vrsta *Trichogramma*, koje bi usled prilagođenosti ekološkim uslovima našeg podneblja mogle biti efikasnije u biološkoj kontroli od vrsta i njihovih formi poreklom iz drugih delova sveta, a koje se komercijalno gaje i čija primena ne donosi uvek očekivane rezultate u borbi protiv štetnih insekata u poljoprivredi (Ivezić, 2020).

Istraživačka strategija komercijalne upotrebe *Trichogramma* parazitoida u biološkoj kontroli štetnih

insekata treba da bude usmerena na dizajniranje i planiranje eksperimenata u kontrolisanim, polu-kontrolisanim i otvorenim uslovima na poljima. Samo uz rezultate ovih istraživanja možemo pristupiti masovnoj proizvodnji osica u biološkoj kontroli u poljoprivredi, uzimajući u obzir da je potrebno daleko više podataka o njihovom potencijalnom uticaju na lokalni biodiverzitet. Iako su Ivezić i sar. (2020) potvrdili visoku stopu parazitiranosti jaja kukuruznog plamenca *Trichogramma* vrstama u usevima kukuruza, pre nego što se pristupi bilo kakvoj komercijalnoj upotrebi ovih insekata u biološkoj kontroli poljoprivrednih štetočina u Srbiji i regionu, potrebno je ispitati da li i u kojoj meri može doći do promene ravnoteže i dinamike unutar različitih poljoprivrednih i lokalnih-nativnih ekosistema. Jedino na ovaj način biološka kontrola štetnih insekata drugim organizmima može da bude deo upravljanja poljoprivredom u skladu sa principima i zaštitom prirode i biodiverziteta.

## ZAHVALNICA

Zahvaljujemo se Milanu Vidiću i Bošku Jezerkiću iz Poljoprivredne Stanice Novi Sad, Republika Srbija i Ankici Sarajlić sa Agrobiotehničkog fakulteta znanosti, Osijek, Republika Hrvatska zbog ustupanja fotografija predstavljenih u ovom radu. Želimo isto da se zahvalimo Paul F Rugman-Jones-u sa Departmana za entomologiju, Univerziteta Kalifornija, Riverside, Sjedinjene Američke Države, zbog korisnih saveta i smernica tokom pisanja ovog rada.

## LITERATURA

- Alkarrat, H. (2013) Intra- and interspecific performance of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimented with honey, pollen or honey-pollen mixtures. Dissertation, Faculty of Agricultural Science, Hohenheim University.
- Beglyarov, G.A., Smitnik, A.I. (1977) Seasonal colonization of entomophages in the USSR. In: Ridgway, R.L., Vinson, S.B., eds. Biological Control by Augmentation of Natural Enemies. Insect and mite control with parasites and predators. New York: Plenum Press, pp. 283–328.
- Bigler, F. (1986) Mass production of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg. and its field application against *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Switzerland. Journal of Applied Entomology, 101, 23–29.
- Boivin, G. (1994) Overwintering strategies of egg parasitoids. In: Wajnberg, E., Hassan, S.A., eds. Biological control with egg parasitoids. CAB International, Wallingford pp. 219–244.

- Burbutis, P.P., Curl, G.D., Davis, C.P. (1977) Host searching behavior by *Trichogramma nubilaleon* corn. *Environmental Entomology*, 6 (3), 400-402.
- Čamprag, D., Krnjajić, Đ., Maceljski, M., Maček, J., Marić, A., Vrabl, S. (1983) Priručnik izveštajne i prognozne službe zaštite poljoprivrednih kultura. Savez društava za zaštitu bilja Jugoslavije.
- Čamprag, D., Sekulić, R., Kerešić, T., Bača, F. (2004) Kukuruzna soвица (*Helicoverpa armigera* Hübner) i integralne mere suzbijanja. Poljoprivredni fakultet, Institut za zaštitu bilja i životne sredine "Dr Pavle Vukasović", Novi Sad.
- Cerutti, F., Bigler, F. (1995) Quality assessment of *Trichogramma brassicae* in the laboratory. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 75 (1), 19-26.
- Curtis, C.P. (1940) *Entomophagous insects*. McGraw-Hill Publishing Co London.
- DeAlmeida, R.P. (2004) *Trichogramma* and its relationship with *Wolbachia*: Identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts. Dissertation, Wageningen University.
- De Almeida, R.P., Stouthamer, R. (2003) Molecular identification of *Trichogramma cacoeciae* Marshal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): A new record from Peru. *Neotropical Entomology*, 32 (2), 269-272  
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2003000200011>
- Drost, Y.C., Qiu, Y.T., Posthuma-Doodeman, C.J.A.M., Van Lenteren, J.C. (2000) Comparison of searching strategies of five parasitoid species of *Bemisia argentifolli* Bellow and Perring (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*, 124 (2), 105-112.  
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2000.00443.x>
- EPPO (2002) PM 6/3(2). Safe use of biological control. List of biological control agents widely used in the EPPO region. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 32, pp. 447-461.
- Fahriye, S., Tuncbilek, A.S., Oztemiz, S., Pintureau, B., Rugman-Jones, P., Stouthamer, R. (2009) Molecular key to the common species of *Trichogramma* of the Mediterranean region. *BioControl*, 54 (5), 617-624.
- Flanders, S.E. (1946) Control of sex and sex-limited polymorphism in Hymenoptera. *The Quarterly Review of Biology*, 21, 135-143.
- Flickr - online photo management. Available at: <https://www.flickr.com/photos/allaboutblueberries/4882541446>
- Greenberg, S. (1991) Evolution techniques for *Trichogramma* quality. In: Bigler, F., ed. *Proceedings of the 5th Workshop of the IOBC Global Working Group "Quality Control of Mass Reared Arthropods"*. Wageningen, Netherland, 25-28 March 1991, Swiss Federal Research Station for Agronomy, pp. 138-145.
- Hajek, E.A. (2004) *Natural Enemies: An introduction to biological control*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hassan, S.A. (1993) The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. *Pesticide Science*, 37 (4), 387-391.
- Hassan, S.A. (1997) Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: Parra, J.R.P., Zucchi, R.A., eds. *Trichogrammae o Controle Biológico Aplicado*. FEALQ, Piracicaba, Brasil, pp.183-206.
- Huigens, M.E., Stouthamer, R. (2003) Parthenogenesis associated with *Wolbachia*. In: Bourtzis, K., Miller, T.A., eds, *Insect symbiosis*. Boca Raton: CRC press, pp. 247-266.
- Ilić, I., Jovanović, S., Janković-Miličić, V. (2016) Forecasting corn production in Serbia using Arima model. *Economics of Agriculture*, 63 (4), 1141-1156.
- Ivezić, A., (2020) Identifikacija parazitoida kukuruznog plamenca *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796), roda *Trichogramma*, u Vojvodini. Dissertation, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad.
- Ivezić, A., Rugman-Jones, P., Stouthamer, R., Ignjatović-Ćupina, A. (2018) Molecular identification of *Trichogramma* egg parasitoids of *Ostrinia nubilalis* in the north eastern Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 70 (3), 425-432.
- Ivezić, A., Rugman-Jones P., Malausa T., Ris N., Ignjatović-Ćupina A. (2020) Molecular identification of *Trichogramma* species parasitizing *Ostrinia nubilalis* in corn and pepper in south-east border of Europe. *International Journal of pest management*.  
DOI: <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1779383>
- Kazmer, D.J., Luck, R.F. (1995) Field test of the size-fitness in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecology*, 76 (2), 412-425.
- Kerešić, T., Vajgand, D., Milovac, Ž. (2014) Važnije štetočine kukuruza iz reda Lepidoptera. *Biljni lekar*, 42 (2-3), 184-199.
- Kot, J. (1979) Analysis of factors affecting the phytophage reduction by *Trichogramma* Westw. species. *Polish Ecological Studies*, 5 (3), 5-59.
- Krnjajić, S. (2002) Dinamika populacija jasnih parazitoida kupusne sovice (*Mamestra brassicae* L.) sa osvrtom na mogućnost korišćenja *Trichogramma evanescens* Westwood u suzbijanju štetočina iz reda Lepidoptera. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Ksentini, I., Herz, I. (2019) Studies on interactions between parasitoids: the case of the idiobiont *Trichogramma cacoeciae* and the koinobiont *Ascogaster quadridentata* on *Cydia pomonella* eggs. *Bulletin of Insectology* 72 (2), 207-218.
- Laurent, V., Vanlerberghe-Masutti, F., Wajnberg, E., Mangin, B., Goffinet, B. (1996) Genetic mapping of *Trichogramma brassicae* genome with RAPD markers. XX International Congress of Entomology, August 25-31, 1996 (Proceedings).
- Li, L. (1994) Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: A survey. In: Wajnberg, E., Hassan, S.A. eds. *Biological Control with Egg Parasitoids*. Oxon, U.K., CAB International, pp. 37-53.
- Lopez, J.D., Morrison, R.K. Jr. (1980) Overwintering of *Trichogramma pretiosum* in Central Texas. *Environmental Entomology*, 9 (6), 75-78.
- Luck, R.F., Stouthamer, R., Nunney, L. (1992) Sex determination and sex ratio patterns in parasitic Hymenoptera. In: Wrench, D.L., Ebbert, M.A., eds. *Evolution and Diversity of Sex Ratio in Haplodiploid Insects and Mites*, Chapman & Hall, New York, pp. 442-476.
- Mihajlović, Lj. (2018) Ekološki i ekonomski značaj faune nadfamilije Chalcidoidea Srbije (Insecta: Hymenoptera). *Zbornik radova SANU, Beograd*, pp. 313-339.
- Mihajlović, Lj. (2016) Šumarska entomologija. Šumarski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Molnar, I. (2004) Osnovni principi integralne biljne proizvodnje. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Eko konferencija.
- Nagarkatti, S., Nagaraja, H. (1968) Biosystematic studies on *Trichogramma* species: I. Experimental hybridization between *Trichogramma austriacum* Girault, *T. evanescens* Westwood, and *T. minutum* Riley. *Technical Bulletin*, 10 (3), 81-96.
- Nagarkatti, S., Nagaraja, H. (1971) Redescriptions of some known species of *Trichogramma* showing the importance of the male genitalia as a diagnostic character. *Bulletin of Entomological Research*, 61 (1), 13-31.
- Nordlund, D.A. (1994) Habitat location by *Trichogramma*. In: Wajnberg, E., Hassan, S.A., eds. *Biological Control with Egg Parasitoids*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 155-164.
- O'Neill, S.L., Giordano, R., Colbert, A.M.F., Karr, T.L., Robertson, H.M. (1992) 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 89 (2), 699-702.

- Oliveira, H.N., Zanuncio, J.C., Pratisoli, D., Picanco, M.C. (2003) Biological characteristics of *Trichogramma maxacalii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Brazilian Journal of Biology*, 63 (4), 647-653.
- Oztemiz, S. (2007) *Trichogramma* species egg parasitoids of *Lepidoptera* in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 109 (3), 718-720.
- Pak, G.A., Oatman, E.R. (1982) Biology of *Trichogramma brevicapillum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 32, 61-67.
- Pinto, J.D. (2006) A review of the New World genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). *Journal of Hymenoptera Research*, 15, 38-163.
- Pinto, J.D., Koopmanschap, A.B., Platner, G.R., Stouthamer, R. (2002) The North American *Trichogramma* parasitizing certain *Tortricidae* (Lepidoptera) on apple and pear with ITS2 DNA characterization and description of a new species. *Biological Control*, 23 (2), 134-142.
- Pinto, J.D., Stouthamer, R. (1994) Systematics of the *Trichogrammatidae* with emphasis on *Trichogramma*. In: Wajberg, E., Hassan, S.A., eds. *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford, Cab International, pp. 1-36.
- Pinto, J.D. (1999) The systematics of the North American species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 22, 1-287.
- Pintureau, B. (1987) *Systématique évolutive du genre Trichogramma Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en Europe*. Dissertation, Université Paris VII, Paris, 311.
- Pintureau, B., Stefanescu, C., Kenis, M. (2000) Two new European species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annales de la Société entomologique de France*, 36 (4), 417-422.
- Portal prognozno-izveštajne službe zaštite bilja. Available at: <http://www.pisvojvodina.com/default.aspx>
- Raspudić, E., Ivezić, M., Mlinarević, M. (1999) Utjecaj transgenih Bt hibrida kukuruza na kukuruznog moljca (*Ostrinia nubilalis* Hübner). *Sažeci priopćenja 43. seminara iz Zaštite bilja*. Opatija, Hrvatska, 9-11 February, 1999, *Glasnik zaštite bilja*, 1, 6-7.
- Ruberson, J.R., Kring T.J. (1993) Parasitism of developing eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Host age preference and suitability. *Biological Control*, 3, 39-46.
- Reid, L.M., Hamilton, R.I., Mather, D.E. (1996) Screening maize for resistance to Gibberella Ear Rot. *Agriculture and Agri-Food Canada technical bulletin* 40 p.
- Silva, I.M.M.S., Honda, J., Van Kan, F., Hu, S.J., Neto, L., Pintureau, B., Stouthamer, R. (1999a) Molecular differentiation of five *Trichogramma* species occurring in Portugal. *BioControl*, 16 (2), 177-184.
- Silva, I.M.M.S., Van Meer, M.M.M., Roskam, M.M., Hoogenboom, A., Gort, G., Stouthamer, R. (1999b) Biological control potential of *Wolbachia*-infected versus uninfected wasps: laboratory and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* Strains. *Biocontrol Science and Technology*, 10, 223-238.
- Smith, S.M. (1996) Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, 41, 375-406.
- Stouthamer, R. (1997) *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'Neill, S.L., Hofmann, A.A., Werren, J.H., eds. *Influential passengers: inherited microorganisms and invertebrate reproduction*. Oxford University Press, New York, pp. 102-124.
- Stouthamer, R., Hu, J., Van Kan, F.J.P.M., Platner, G.R., Pinto, J.D. (1999) The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. *BioControl*, 43 (4), 421-440.
- Stouthamer, R., Kazmer, D.J. (1994) Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity*, 73, 317-327.
- Stouthamer, R., Luck, R.F. (1993) Influence of microbe-associated parthenogenesis on the fecundity of *Trichogramma deion* and *T. pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 67, 183-192.
- Strand, M.R. (1986) Physiological interactions of parasitoids and hosts. In: Waage, J., Greathead, D., eds. *Insect Parasitoids*. Academic Press, London, pp. 109-118.
- Sumer, F., Tuncbilek, A.S., Oztemiz, S., Pintureau, B., Rugman-Jones, P., Stouthamer, R. (2009) A molecular key to the common species of *Trichogramma* of the Mediterranean region. *BioControl*, 54, 617-624.
- Suverkropp, B.P., Bigler, F., Van Lenteren, J.C. (2001) Temperature influences walking speed and walking activity of *Trichogramma brassicae* (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Applied Entomology*, 125, 303-307.
- Tancik, J. (2017) Natural parasitism of the second generation European Corn Borer Eggs *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera, Pyralidae) by *Trichogramma* spp. in sweet corn fields in Vojvodina, Serbia. *Plant protection science*, 53 (1), 50-54. DOI: <https://doi.org/10.17221/12/2016-PPS>
- Van Lenteren, J.C. (2000) Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In: Gurr, G., Wratten, S., eds. *Biological control: measures of success*. Kluwer Academic Publishers, London, pp. 77-103.
- Van Lenteren, J.C., Bueno, V.H.P. (2003) Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *BioControl*, 48, 123-139.
- Van Schelt, J., Ravensberg, W.J. (1991) Some aspects on the storage and application of *Trichogramma maidis* in corn. In: Wajnberg, E., Vinson, S.B., eds. *The Third International Symposium on Trichogramma and other Egg Parasitoids*. San Antonio, USA 23-27 September, 1990, Institut nationale de la recherche agronomique pp. 239-242.
- Wang, B., Ferro, D.N., Hosmer, D.W. (1999). Effectiveness of *Trichogramma ostrinae* and *T. nubilale* for controlling the European corn borer *Ostrinia nubilalis* in sweet corn. *Entomol. Exp. App.* 91:297-303.
- Werren, J.H., Windsor, D., Guo, L.R. (1995) Distribution of *Wolbachia* among Neotropical arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 262, 197-204.