

Učinkovitost biljnih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara (*Tribolium confusum* L.)

Josipović, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:863926>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**UČINKOVITOST BILJNIH EKSTRAKATA U
SUZBIJANJU MALOG BRAŠNARA (*Tribolium
confusum* L.)**

DIPLOMSKI RAD

Ana Josipović

Zagreb, veljača, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Ekološka poljoprivreda i agroturizam

**UČINKOVITOST BILJNIH EKSTRAKATA U
SUZBIJANJU MALOG BRAŠNARA (*Tribolium
confusum* L.)**

DIPLOMSKI RAD

Ana Josipović

Mentor: doc. dr. sc. Martina Grdiša

Zagreb, veljača, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Ana Josipović**, JMBAG 2910993325035, rođena dana 29. 10. 1993. u Varaždinu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**UČINKOVITOST BILJNIH EKSTRAKATA U SUZBIJANJU MALOG BRAŠNARA
(*Tribolium confusum* L.)**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta studentice

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studentice **Ana Josipović**, JMBAG 2910993325035, naslova

**UČINKOVITOST BILJNIH EKSTRAKATA U SUZBIJANJU MALOG BRAŠNARA
(*Tribolium confusum* L.)**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. doc. dr. sc. Martina Grdiša mentor

2. prof. dr. sc. Dinka Grubišić član

3. izv. prof. dr. sc. Klaudija Carović-Stanko član

Zahvala

Najveću zahvalnost iskazujem mentorici doc. dr. sc. Martini Grdiša i dr. sc. Kristini Gršić za iskazanu pomoć tijekom izrade rada. Također se zahvaljujem dr. sc. Darki Hamel na savjetima pri provođenju eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Posebnu zahvalnost iskazujem svojim roditeljima koji su mi omogućili studiranje i bili velika podrška tijekom svih godina studija. Veliko hvala i mom suprugu na iskazanoj podršci te puno strpljenja i razumijevanja za moje studentske obveze.

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Ana Josipović**, naslova

Učinkovitost biljnih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara (*Tribolium confusum* L.)

Veliki broj biljnih vrsta sintetizira aktivne tvari insekticidnog djelovanja kao dio vlastitog obrambenog mehanizma od napada štetnika. Navedene vrste predstavljaju jednu od opcija zaštite usjeva i alternativu u programima suzbijanja brojnih štetnika, pa tako i onih skladišnih. Cilj ovog rada bio je istražiti učinkovitost vodenih i etanolnih ekstrakata kadulje (*Salvia officinalis* L.), đumbira (*Zingiber officinale* Roscoe), klinčića (*Syzygium aromaticum* L.), pelina (*Artemisia absinthium* L.), rajčice (*Lycopersicon esculentum* Mill), dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.), češnjaka (*Allium sativum* L.) i bijelog bora (*Pinus sylvestris* L.) u suzbijanju ličinki zadnjeg stadija malog brašnara (*Tribolium confusum* L.). Istraživanje je uključivalo osam tretmana s vodenim ekstraktima i 10 tretmana s etanolnim ekstraktima, a svaki je tretman uključivao četiri ponavljanja, a svako ponavljanje 10 ličinki malog brašnara. Pokusi s vodenim ekstraktima očitavani su 24, 48, 72 i 192 sata nakon tretmana, a etanolni 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 i 100 sati nakon tretmana, pri čemu je utvrđen broj mrtvih jedinki. Kod vodenih ekstrakata najveća učinkovitost postignuta je kod tretmana s đumbirom i pelinom (27,5 %), dok je kod etanolnih ekstrakata najveća učinkovitost utvrđena kod tretmana s dalmatinskim buhačem (30 i 27,5 %).

Ključne riječi: biljni ekstrakti, botanički insekticidi, ekološka poljoprivreda, eterična ulja, *Tribolium confusum* L.

Summary

Of the master's thesis – student **Ana Josipović**, entitled

Efficacy of plant extracts against Confused flour beetle (*Tribolium confusum* L.)

Many plant species synthesize active ingredients with insecticidal activity as a part of their own defense mechanism against various pest. These active ingredients represent new means of crop protection and a pest management alternative. Confused flour beetle (*Tribolium confusum* L.) is one of the most harmful pests of stored grain and final products. The aim of this study was to investigate the efficacy of aqueous and ethanol extracts of Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), clove (*Syzygium aromaticum* L.), absinthium (*Artemisia absinthium* L.), tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill), Dalmatian pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.), garlic (*Allium sativum* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on the *Tribolium confusum* L. larvae. The study included eight treatments with aqueous extracts and 10 treatments with ethanol extracts, each treatment consisted of four replicates, and each replicate of 10 *Tribolium confusum* L. larvae. Experiments with aqueous extracts were monitored 24, 48, 72 and 192 hours after the treatment, ethanol extracts 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 and 100 hours after the treatment, where the number of dead larvae was determined. The highest efficacy of aqueous extracts was achieved in ginger and absinthium treatment (27,5 %) and among ethanol extracts, the highest efficacy was observed with Dalmatian pyrethrum (30 and 27,5 %).

Keywords: herbal extracts, botanical insecticides, organic agriculture, essential oils, *Tribolium confusum* L.

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Cilj istraživanja	2
2. Pregled literature	3
2.1. Mali brašnar (<i>Tribolium confusum</i> L.)	3
2.1.1. Toksičnost monoterpena na sve razvojne stadije malog brašnara.....	4
2.2. Morfološka i kemijska svojstva korištenih biljnih vrsta	6
2.2.1. Ljekovita kadulja (<i>Salvia officinalis</i> L.).....	6
2.2.2. Đumbir (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	8
2.2.3. Gorski pelin (<i>Artemisia absinthium</i> L.).....	9
2.2.4. Klinčić (<i>Syzygium aromaticum</i> L.).....	11
2.2.5. Dalmatinski buhač (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> /Trevir./ Sch. Bip.)	12
2.2.6. Rajčica (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.).....	15
3. Materijali i metode	18
3.1. Laboratorijski pokusi.....	18
3.1.1. Uzgoj malog brašnara.....	18
3.1.2. Vodeni ekstrakti	19
3.1.3. Etanolni ekstrakti.....	22
3.2. Očitavanje pokusa i statistička obrada podataka.....	26
4. Rezultati	27
4.1. Učinkovitost vodenih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara	27
4.2. Učinkovitost etanolnih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara	28
5. Rasprava	35
6. Zaključak.....	37
7. Popis literature.....	38

1. Uvod

Primjena bioloških preparata ima daleko stariju povijest primjene nego što se to smatralo. Stari Rimljani su koristili različite biljne vrste kako bi zaštitili uskladištene žitarice, što potvrđuju brojni arheološki nalazi i pronalasci sjemena različitih biljnih vrsta u zemljanim naslagama rimskih ostataka. Na području južne Engleske pronađeno je sjeme pinijske (Pinus pinea L.) pomiješano s pšenicom. Sjeme korijandra pomiješano s mahunarkama na području otoka Santorini iz vremena kasnog Brončanog doba dokazuje korištenje aromatičnog bilja u svrhu zaštite sjemena prehrambenih kultura.

U svrhu suzbijanja skladišnih štetnika, u zadnjih 15 – 20 godina značajno je porastao interes za primjenom botaničkih insekticida, kao posljedica sve veće ekološke osviještenosti i sve češće rezistentnosti kukaca na konvencionalna kemijska sredstva. Međutim, još uvijek najčešće korištene metode zaštite uskladištenih proizvoda od skladišnih štetnika su one kemijske. Pozitivno je što kemijska sredstva relativno brzo i učinkovito rješavaju postojeći problem napada i zaraze štetnicima. S druge strane, osim opasnosti za okoliš i kontaminaciju proizvoda, učestala uporaba kemijskih pripravaka iste aktivne tvari pospješuje nastanak rezistentnih vrsta skladišnih kukaca na uobičajene sintetske insekticide (npr. malation, fenitrothion, pirimifos metil, itd.). Sve to doprinosi potrebi za razvojem novih učinkovitih metoda suzbijanja štetnika, koje ne ostavljaju štetne rezidue u proizvodu. Među njima značajno mjesto zauzimaju botanički insekticidi. Botanički insekticidi su prirodni derivati izolirani iz biljnih vrsta. Često se koriste u obliku eteričnih ulja ili ekstrakata. Danas je poznato preko 2000 biljaka, odnosno biljnih ekstrakata za koje je dokazano da posjeduju pesticidno djelovanje (Znaor, 1996). Prednost primjene biljnih insekticida u odnosu na sintetičke je niska toksičnost na sisavce i prirodne neprijatelje štetnika te brza razgradnja u okolišu. Međutim, poznati su i brojni nedostaci. Ponajprije, različiti ekotipovi biljnih vrsta sadrže različite količine aktivnih tvari, stoga je teško odrediti jedinstvenu recepturu. Također, komercijalno su skuplji i kemijski nestabilniji, a time i s kraćim djelovanjem, stoga je nužno proizvesti formulacije koje će omogućiti dugotrajniju zaštitu, a u tu svrhu se dodaju razni fiksatori (Isman, 2000).

Biljna eterična ulja su mješavina hlapljivih organskih spojeva, koja sadrže stotine različitih aktivnih tvari od kojih je samo nekoliko sastavnica prisutno u većem udjelu. Osim insekticidnog djelovanja, eterična ulja posjeduju virucidno, baktericidno, fungicidno, larvicidno i ovcidno djelovanje, a ujedno imaju i antifidantno djelovanje, odnosno sprječavaju hranjenje kukaca biljkom (Isman, 2000). Za neka ulja je potvrđena veća djelotvornost od pojedinačno izoliranih sastavnica, zbog njihovog međusobnog sinergističkog djelovanja. Botanički insekticidi neosporno predstavljaju značajnu alternativu sintetičkim insekticidima i otvaraju nove mogućnosti u zaštiti uskladištenih žitarica (Liška, 2011).

Skladišni kukci čine nekoliko tipova ekonomskih šteta na uskladištenoj robi. Opseg i važnost šteta ovisi o vrsti štetnika, o proizvodu koji se skladišti te o njegovoj namjeni. Prisutnost skladišnih kukaca, dijelova tijela i izmeta mogu predstavljati izvor onečišćenja, što dovodi do smanjenja tržišne vrijednosti proizvoda, odnosno do smanjenja količine uskladištenog proizvoda. Osim toga, skladišni štetnici mogu biti vektori različitih uzročnika bolesti i djelovati kao alergeni (Korunić, 1990). Procjena mogućeg gubitka uskladištene mase, nastale ishranom

skladišnih kukaca, važna je za izračun troškova potrebnih za smanjivanje ekonomskih gubitaka tijekom skladištenja. Procijenjeno je da godišnji poslije-žetveni gubici nastali uslijed napada skladišnih kukaca, mikrobiološkog kvarenja i drugih faktora, iznose 10 – 25 % svjetske proizvodnje (Matthews i Hislop, 1993).

Mali brašnar (*Tribolium confusum* L.) je jedan od najvećih štetnika uskladištenih žitarica i gotovih proizvoda. Pripada u sekundarne štetnike, a ponekad i primarne. Sekundarni štetnici uzrokuju sekundarnu zarazu uskladištenih proizvoda, odnosno napadaju slomljena i oštećena zrna žitarica, brašnene prerađevine i smjese. U velikom broju razvijaju se u međuzrneljenom prostoru uskladištene mase te onečišćuju proizvod svojim izmetom i fragmentima tijela. Rasprostranjeni su u cijelom svijetu te mogu uzrokovati velike ekonomske štete (Rozman, 2010).

U literaturi je moguće naći brojne recepte i preporuke o mogućnostima suzbijanja malog brašnara na vlastitom gospodarstvu, primjenom preparata dobivenih ekstrakcijom nekih od ljekovitih ili aromatičnih biljnih vrsta, međutim, u većini slučajeva njihova učinkovitost nije dokazana.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi učinkovitost vodenih i etanolnih ekstrakta kadulje, đumbira, klinčića, pelina, rajčice, dalmatinskog buhača, bora i češnjaka u suzbijanju ličinki malog brašnara (*Tribolium confusum* L.).

2. Pregled literature

2.1. Mali brašnar (*Tribolium confusum* L.)

Tijelo malog brašnara (*Tribolium confusum* L.) je 3 – 4 mm dugo, smeđe ili crvenkaste boje s izraženim uzdužnim linijama na pokrildju. Ličinka ima žućkasto tijelo, dugo do 6 mm (Slika 1). Termofilni su pa već pri +7 °C ugibaju za 25 dana, a pri -6 °C za 1 dan. Odgovaraju im temperature u rasponu od 20 do 37,5 °C. Najradije oštećuju klicu zrna, no napadaju i najrazličitije druge proizvode (Maceljki, 1999). Kod vlage zrna veće od 12,5 % mogu vršiti primarnu zarazu, odnosno oštetiti i cijelo zrno. Imaju dvije generacije godišnje a životni vijek im je 2 – 3 godine. Ženka polaže od 300 do 900 jajašca. Trajanje pojedinih razvojnih stadija malog brašnara pri različitim temperaturama prikazana je u Tablici 1. Bitna morfološka razlika između *T. confusum* i kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst) je u tome što se kod *T. confusum* segmenti ticala postupno šire prema vrhu, a kod *T. castaneum* su zadnja 3 segmenta ticala izražajno veća kao što je prikazano na Slici 2 (Rozman, 2010).



Slika 1. *Tribolium* sp.– jajašca, ličinka, kukuljica, imago
(Izvor: Rozman, 2010)

Tablica 1. Trajanje (u danima) pojedinih razvojnih stadija malog brašnara *T. confusum* pri 25 ± 1 °C i 65 ± 5 % relativne vlažnosti

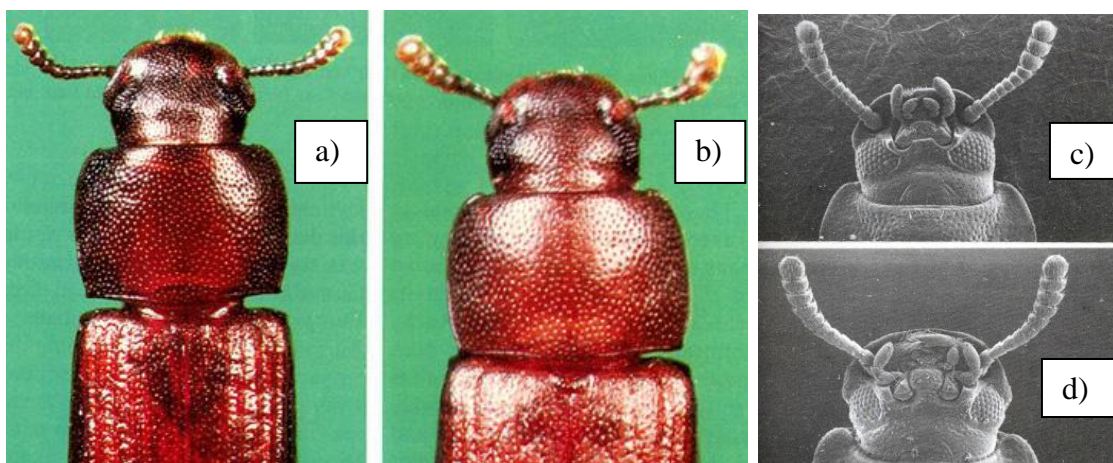
Razvojni stadij	Trajanje stadija (dani)	
	Stamopoulos i sur. (2007)	Howe (1960)
Jajašce	7,6 ± 0,2	7,7
Ličinka	32,7 ± 2,9	30
Pupa	8,7 ± 0,4	10,3
Cijeli razvojni ciklus	49 ± 2,02	48
Odrasli	58,1 ± 1,4	Nije testirano

(Izvor: Howe, 1960, Stamopoulos i sur., 2007)

Prisutnost ovih kukaca ukazuje na slabije stanje i kvalitetu uskladištene robe, bez obzira da li su posljedica oštećenja zrna primarni štetnici ili je prisutno mnogo loma i brašnaste komponente kao primjesa. Kukci su vrlo često prisutni u sastojcima stočne hrane što predstavlja velike poteškoće u proizvodnji stočne hrane ispravnog zdravstvenog stanja i kakvoće, a malo tko razmišlja o opasnosti koju ti kukci predstavljaju za životinje. Naime, utvrđeno je kako su kukci, koji se razvijaju na uskladištenim poljoprivrednim proizvodima, posljedično odgovorni za nastale štete, prenositelji raznih uzročnika bolesti. Tako je *T. confusum* međudomaćin trakavice ptica i peradi (Hamel, 1993).

Vrsta *T. confusum* osim što prenosi patogene organizme i uzrokuje razne bolesti, u velikim populacijama onečišćuje hranu svlakovima, dijelovima tijela te izmetom. Tako onečišćena hrana ima neugodan miris i može promijeniti boju brašna iz npr. bijelog u svijetlo ružičastu boju.

Za sprječavanje širenja štetnika na uskladištenoj robi potrebno je provoditi preventivne mjere poput zadovoljavanja propisa pravilne izgradnje skladišnog objekta, održavanje čistoće te nikako ne dozvoliti miješanje nezaražene i zaražene, odnosno nove i stare robe. Tijekom čuvanja potrebno je mjeriti temperaturu i vlažnost robe te stanje i brojnost kukaca. Preporučljivo je da su temperatura i vlaga vrlo niski jer se na taj način ne mijenja kakvoća uskladištene robe, a sprječava se ili usporava razvoj i život štetnika (Hamel, 1993).



Slika 2. Razlike u ticalima, vratnom štitu i usnom ustroju: *T. confusum* (a i d), *T. castaneum* (b i c)

(Izvor: Rozman, 2010)

2.1.1. Toksičnost monoterpena na sve razvojne stadije malog brašnara

Djelovanje eteričnih ulja na kukce može biti neurotoksično, sa simptomima sličnim onima koji nastaju pod utjecajem insekticida na bazi organofosfata i karbamata (Isman, 2000) ili inhibitorno na acetilkolin, izazivajući paralizu kukaca. Monoterpeni su prvi biljni inhibitori za koje se smatralo da imaju karakteristike enzima acetilkolinesteraze (AChE) te je dokazano da monoterpen 1,8-cineol izaziva značajnu inhibiciju tog enzima (Picollo i sur., 2008).

U radu autora Stamopoulos i sur. (2007) istraživana je učinkovitost monoterpena terpinen-4-ola, 1,8-cineola, linalola te *R*-(+)-limonena i geraniola na ličinke malog brašnara.

Najbolju učinkovitost je imao terpinen-4-ol, zatim R-(+)-limonen, potom 1,8-cineol te linalol, dok je geraniol pokazao najmanju učinkovitost. U svim slučajevima, osim vezanim za geraniol, pokazalo se da su ličinke u trećoj fazi najosjetljivije, a najtolerantnija jajašca starosti 3 dana. Osim uočene izravne toksičnosti, kod ženki koje su bile izložene isparavanju monoterpenoida uočena je smanjena reproduktivnost i slabija otpornost jajašca. Svi testirani monoterpenoidi pokazali su svojstva slična hormonu regulatora rasta ukoliko su primijenjeni na kukuljice starosti tri dana, stvarajući adultoide¹ i deformirana imaga. Postoji nekoliko objašnjenja zašto su jajašca najotporniji stadij. Znanstvenici Papachristos i Stamopoulos (2004) navode da monoterpeni djeluju kao neurotoksini, stoga njihova aktivnost dolazi do izražaja tek kada embrij počne razvijati živčani sustav. Nadalje, na početku embriogeneze, propusnost vanjske ovojnice jajašca za plinove je niža te ometa difuziju para u mlađa jajašca. Treće objašnjene proizlazi iz činjenice da je respiratorna snaga jajašca znatno manja u odnosu na aktivne stadije, stoga je niži stupanj izmjene zraka (para monoterpena) u jajašcima (Emekci i sur., 2002).

Veliki broj istraživanja dokazuje da postoje razlike u osjetljivosti stadija ličinki u odnosu na stadij imaga istog štetnika na eterična ulja i/ili njihove komponente, te da svojim razvojem ličinke postaju otpornije. Prema Stamopoulos i sur. (2007) starije ličinke mogu tolerirati veće koncentracije monoterpena, dok su kukuljice osjetljivije od ličinki starosti 18 i 25 dana, pokazujući spolno neovisnu i podjednaku osjetljivost kao kod odraslih. Međutim, u sličnom istraživanju provedenom na kestenjastom brašnaru *T. castaneum*, utvrđeno je da je stadij kukuljice kod oba spola tolerantniji u odnosu na ličinke starosti 16 dana i imago. Također su kukuljice ovisno o spolu pokazale različitu osjetljivost prema testiranim komponentama, gdje se 1,8-cineol pokazao najučinkovitijim (Liška, 2011). Ebadollahi (2013) navodi da su odrasli oblici *T. castaneum* osjetljiviji od ličinki pri fumigacijskoj i kontaktnoj toksičnosti 1,8-cineola, što je dokazano i u drugim istraživanjima. Također je zamijećeno kako 1,8-cineol reducira izlijeganje jajašca. Prema Boussaasa i sur. (2008) mortalitet *T. confusum* je veći kod ličinki nego kod imaga koristeći eter petrolej i metanolne ekstrakte *Rhaponticum acaule* (L.) DC.

Toksičnost monoterpena je povezana s njihovim djelovanjem, koje je slično djelovanju juvenilnih hormona JH², odnosno odgoda morfogeneze u stadiju kukuljice i pojava adultoida i deformiranih jedinki u stadiju imaga može biti objašnjena njihovim direktnim djelovanjem na hormonalni sustav kukaca (Bowers, 1969). Ovakvo djelovanje monoterpena uočili su i Amos i sur. (1974) nakon miješanja monoterpena s hranom za *T. castaneum* i *T. confusum*.

Zabilježeno je umjereno štetno djelovanje para monoterpena na plodnost i izlijeganje jajašca malog brašnara pri subletalnim dozama. Kod doze LC₁₀ terpinen-4-ola i 1,8-cineola zabilježen je značajan utjecaj na plodnost ženki, dok je LC₁₀ geraniola smanjila izlijeganje jajašca za 50 % u usporedbi s kontrolom (Stamopoulos i sur., 2007).

¹ Adultoid- prijelaz kukuljice u imago

Ove pojave se u manjoj mjeri mogu javiti i u normalnoj populaciji kukaca (uključujući i vrste iz roda *Tribolium*) bez tretiranja, ali su daleko intenzivnije izražene u sredinama koje nisu optimalne za njihov razvoj.

² Juvenilni hormon (JH) koji je odgovoran za zadržavanje trenutnog stadija kukca, tj. ako je prisutan JH za vrijeme presvlačenja ličinke, kukac će nakon presvlačenja i dalje biti ličinka, a ako nije prisutan, ličinka će prijeći u stadij kukuljice. Općenito, količina JH je prije metamorfoze visoka, za vrijeme metamorfoze opada, ali ponovo raste za vrijeme odraslog stadija kukca gdje je JH odgovoran za sintezu žumanjka u ženki i razvoj spermija u mužjaka.

2.2. Morfološka i kemijska svojstva korištenih biljnih vrsta

2.2.1. Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)

Narodni nazivi: mirisava kadulja, žalfija, slavlulja, krastatica, kuš divji, pelin pitomi, šalvija, žalvija, narugvana kadulja (Nikolić, 2018).

Red: Lamiales Bromhead

Porodica: Lamiaceae (usnjače)

Rod: *Salvia*

Vrsta: *Salvia officinalis* L.



Slika 3. Ljekovita kadulja (*Salvia officinalis* L.)

(Autor: Josipović, 2018)

Kadulja (*Salvia officinalis* L.) je višegodišnja biljna vrsta čija je prirodna rasprostranjenost strogo ograničena na sredozemno područje istočno-jadranskog primorja, stoga pripada skupini ilirsko-jadranskih endemičnih biljaka. Na sjeverozapadu ne prelazi rijeku Soču, a na jugoistoku se spušta gotovo do Otranta, ali je središte njezine rasprostranjenosti ograničeno u prvom redu na dio Hrvatskog primorja od otoka Krka i Cresa na sjeveru do planine Biokova na jugu. Stvara busenasto razgranjene polugrmove (Slika 3). Stariji dijelovi busena su odrvenjeli, a vršni dijelovi zeljasti s gusto skupljenim listovima (Trinajstić, 1992). Koriijen je jak, račvast i drvenast te prodire duboko u tlo. Stabljike su četverbridne, visine 50 – 80 cm, u svom donjem dijelu nose nekoliko pari unakrsno nasuprotnih listova. Mladi izdanci su svijetlo-ljubičasti do ljubičasti. Prve su godine neplodni (sterilni), a druge razvijaju cvatnu stabljiku, nakon čega propadaju. Listovi su usko-ovalni, dosta čvrsti, trajni, jajasti do izduženo kopljasti, namreškani, vrlo nježno nazubljenog ruba. Svi su listovi obrasli gusto isprepletenim dlakama, stoga izgledaju poput pusta, što cijeloj biljci daje posebnu blijedo-sivo-modru boju. Cvjetovi su skupljeni u klasove, veliki su, dvousnati i svijetlo-ljubičasti. Čaška je cjevasto-zvonolika,

zelena ili skoro ljubičasta s 15 žila, izbrazdana, skoro do polovine dužine podijeljena s dvije usne podjednake dužine. Vjenčić je 2,5 puta duži od čaške. Za cijeli rod *Salvia* tipično je da cvijet ima samo dva prašnika. Biljka u punom cvatu stvara mnogo slatkog soka pa je kadulja važna medonosna biljka. Plod je kalavac, okruglast, malo izdužen, širok 2 mm, a dug 2 do 2,5 mm (Židovec i sur., 2006).

Vrsta *S. officinalis* sadrži 1 – 2,5 % eteričnog ulja, tanine, smole i gorke tvari, čiji je kemijski sastav uvjetovan zemljopisnim porijeklom te razvojnoj fazi, odnosno vremenom berbe biljaka. Postotak eteričnog ulja ljekovite kadulje na hrvatskim prostorima je najveći u listovima kadulje ubrane u srpnju. Najzastupljenije sastavnice eteričnog ulja ljekovite kadulje su monoterpeni: α - i β - tujon (do 50 %), 1,8-cineol (15 %), (+)-kamfor, (-)-borneol i bornilacetat. Neka kaduljina ulja sadrže i fenole, timol i karvakrol (Kuštrak, 2005).

U eteričnom ulju kadulje s otoka Paga, ubrane tijekom srpnja 2008. godine, Dent i sur. (2013) su utvrdili sljedeće fenolne spojeve: vanilinsku, kafeinsku, siringinsku i salvianolnu K i I kiselinu, metil-rozmarinat, 6-hidroksiluteolin-7-glukozid, luteolin-7-glukuronid, luteolin-7-glukozid, apigenin-7-glukuronid, apigenin-7-glukozid, ružmarinsku kiselinu te luteolin-3-glukuronid. Autori navode da se smjesom vode i etanola ili vode i acetona može ekstrahirati više polifenolnih spojeva nego čistim otapalima, zbog veće polarnosti smjese. Najviše polifenolnih spojeva ekstrahirano je iz listova kadulje smjesom etanola i vode te acetona i vode (30 %) pri temperaturi od 60 °C tijekom 30 min (Dent i sur., 2013). Dekokti i ekstrakti sa smjesom metanola i vode u omjeru (80:20) daju najizraženije antioksidativno i antifungalno svojstvo, što je povezano s njihovim fenolnim sastavom. Najveća koncentracija fenolnih sastavnica zabilježena je kod dekokta, zatim ekstraktima od smjese metanola i vode, te infuza (Martins i sur. 2014).

Sener i sur. (2009) navode kako su 1,8-cineol, β -tujon i L-kamfor najzastupljenije sastavnice eteričnog ulja kadulje te im se pripisuje najveći insekticidni učinak. U svom istraživanju autori su ispitivali insekticidno djelovanje eteričnog ulja kadulje na malom brašnaru. Različite koncentracije eteričnog ulja od 2, 4, 8, 16 i 32 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$ nanosene su na filter papir, koji je stavljen na donju stranu poklopca staklenke u kojoj se nalazilo 10 odraslih oblika malog brašnara s 30 grama pšenice. Nakon 72 sata izloženosti već s 2 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$ eteričnog ulja utvrđen je mortalitet od 12,5 %, a pri najvišoj koncentraciji od 32 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$ utvrđen je 100 %-tni mortalitet. Prema istraživanju Mathur i sur. (2007) ekstrakt kadulje u koncentraciji od 5 ml po 100 grama uskladištene riže uzrokovao je 21,66 % mortalitet malog brašnara.

Provedena su istraživanja pesticidnog djelovanja eteričnih ulja drugih vrsta iz roda *Salvia*. Tako je npr. dokazano da eterično ulje *S. hydrangea* ima značajan potencijal u zaštiti uskladištenih proizvoda od *T. confusum* L. (68,3 – 75 % mortalitet imaga), kao i dokazano toksično djelovanje na gljivične i bakterijske patogene (Kotan i sur., 2008)

2.2.2. Đumbir (*Zingiber officinale* Roscoe)

Red: Zingiberales

Porodica: Zingiberaceae

Rod: *Zingiber*

Vrsta: *Zingiber officinale* Roscoe



Slika 4. Nadzemni i podzemni dio đumbira (*Zingiber officinale* Roscoe)

(Izvor: Edible Plant Guide, 2012)

Đumbir je višegodišnja biljna vrsta porijeklom iz Indije, tropskog i subtropskog područja. U ljekovite svrhe se upotrebljava preko 5000 godina. Iz zadebljanog i kvrgavog podanka se stvara stabljika i listovi koji mogu narasti do 1 m visine. Listovi su zeleni i kopljasti, dugi 30 cm i široki 2 – 5 cm (Slika 4). Cvjetovi su žute boje, gusto smješteni u stožastim klasovima duljine 7,5 cm na vrhu stapke. Plod je kapsula podijeljena na tri dijela te sadrži mnogo sjemenki (Plantea, 2016). Podanak je 7 – 15 cm dug, čvorast, debeo i bež boje (Awang, 1992). Sadrži 1 – 3 % eteričnog ulja koje mu daju svojstven ljutkast okus i izrazito ugodan miris. Glavne sastavnice eteričnog ulja podanka analizirane pomoću plinske kromatografije (GC/MS) su: zingiberin (23,69 %), AR-kurkumen (23,69 %), α -bergamoten (23,69 %), gingerol (14,31 %), zingeron (10,07 %), β -eskvifelandren (9,94 %), (Z)- β -farnesen (9,94 %), kariofilen (9,94 %) i ζ -elemen (0,72 %) (Choudhari i Kareppa, 2013).

Prema istraživanju Ali i Mohammed (2013) đumbir ima snažan insekticidni učinak na ličinke zadnjeg stadija malog brašnara. U radu su korišteni svježi listovi biljke, koji su potom oprani vodom te sušeni u sjeni i samljeveni u fini prah. Ekstrakti su pripremljeni od 12,5 g praha pomiješanog s 12,5 ml vode i 50 ml etanola, potom čuvani u mračnoj prostoriji kroz 24 sata te filtrirani. U petrijeve zdjelice stavljen je filter papir natopljen s 1 ml ekstrakta i nakon sušenja

položene su ličinke malog brašnara. Ekstrakt đumbira je postigao 93,33 %-tni mortalitet nakon 30 minuta, a 100 %-tni nakon 2 sata.

Ismal (2018) je istraživao djelovanje eteričnog ulja kurkume i đumbira na mortalitet imaga malog brašnara. Prosječan mortalitet nakon 5, 10, 15 i 20 dana izlaganja različitim koncentracijama kurkume (0,5; 1; 1,5; 2 i 5 ml eteričnog ulja na 100 g brašna) iznosio je 45,1 %, 56 %, 65,5 % te 74,4 %, dok je za đumbir iznosio 38,1 %, 44,4 %, 55,1 % te 61,3 %. Nakon 15 dana, pri maksimalnoj koncentraciji od 5 ml/100 g eteričnog ulja kurkume utvrđen je 100 %-tni mortalitet dok je kod primjene eteričnog ulja đumbira nakon 20 dana utvrđen mortalitet od 83,3 %.

Ahmad i sur. (2018) su istraživali učinkovitost češnjaka, eukaliptusa, neema, duhana, limunske trave i đumbira na kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum*), pri čemu su đumbir i češnjak (*Allium sativum* L.) pokazali učinkovito djelovanje. Autori su zaključili da se zaštita žitarica povećava ako se eterično ulje pomiješa s rižom, te da tada primjena eteričnog ulja češnjaka i đumbira rezultira 15 puta većim mortalitetom kestenjastog brašnara.

2.2.3. Gorski pelin (*Artemisia absinthium* L.)

Narodni nazivi: pravi pelin, pelin, pelen, pelim, žuhti pelin, osjenac, obisenac, oksjenac, pelinek, vakčenac, bleda češljiga, absint, akšenac, đul (Nikolić, 2018).

Red: Asterales

Porodica: Asteraceae (glavočiike)

Rod: *Artemisia* L.

Vrsta: *Artemisia absinthium* L.



Slika 5. Gorski pelin (*Artemisia absinthium* L.)

(Autor: Josipović, 2018)

Gorski pelin (*Artemisia absinthium* L.) je višegodišnja aromatična i ljekovita biljna vrsta koja na našim prostorima raste samoniklo (Slika 5). Rasprostranjena je diljem Europe, Azije i Sjeverne Amerike. Raste uz staze i kamenje na sunčanim i suhim područjima, livadama, rubovima šuma, a najviše ga ima uz obalno područje, no ima ga i u kontinentalnim dijelovima (Kolak i sur., 2004).

Gorski pelin je zeljasta, u donjem dijelu drvenasta trajnica ili polugrm koja naraste do 1 m visine. Korijen mu prodire na dubinu tla od 50 do 90 cm, drvenast je te živi 4 do 12 godina. Stabljika je okruglasta na presjeku, razgranata i prekrivena srebrnkasto sivim dlačicama. Listovi su dva do tri puta perasto razdijeljeni i prekriveni dlačicama kao i stabljika. Donji listovi su troperasti, duži, veći i na dužim peteljkama, dok su gornji listovi manji, kopljasti, jedno ili dvoperasti i na kraćim peteljkama. Biljka cvate od srpnja do listopada. Cvjetovi su sitni, žućkasti, sastavljeni u glavice koje su metličasto raspoređene po biljci. Cvjetna glavica je promjera 3 – 4 milimetara, a donji dio joj je prekriven dlačicama kao i ostatak biljke. Plod je roška (*achenium*) bez kundare. Sjeme je vrlo sitno, a masa 1000 sjemenki iznosi 0,1 do 0,2 grama (Kolak i sur., 2004).

Vrsta *A. absinthium* sadrži eterično ulje (0,5 – 1 %) u kojem su najznačajnije sastavnice: tujon, tujol i kamazulen, gorke tvari (absintin i artabsin), glikozide te smole, tanine, jabučnu kiselinu i dr. Eterično ulje se dobiva destilacijom vodenom parom, a tijekom nje ulje dobiva svijetloplavu boju za koju je zaslužan artabsin i plavkasto zelenu boju za koju je zaslužan tujon koji mu također daje gorak i ljutit okus kao i otrovnost. Od biljnih dijelova se u ljekovite svrhe koriste listovi i cvatovi (Kolak i sur., 2004).

U istraživanju autora Bano (2014) glavne sastavnice eteričnog ulja *A. absinthium* utvrđene plinskom kromatografijom (GC) su: β -tujon (17,25 %), p-cimen (13,94 %), kamfor (12,42 %), α -terpineol (12,27 %), eugenol (12,20 %), terpin-4-ol (10,10 %), α -pinen (9,90 %), farnesol (5,80 %), mircen (4,54 %), α -tujon (1,62 %) i β -pinen (0,54 %).

Chaieb i sur. (2018) su uspoređivali potencijalno insekticidno i repelentno djelovanje eteričnih ulja vrsta roda *Artemisia* (*A. absinthium*, *A. campestris* L. i *herba-alba*) na *T. castaneum*. Fumigacijski testovi pokazali su značajan mortalitet *T. castaneum* primjenom eteričnih ulja svih navedenih biljnih vrsta. U istraživanju repelentnog djelovanja eterično ulje *A. absinthium* pokazalo je snažnije i brže djelovanje od ostalih vrsta. Smjesa svih eteričnih ulja imala je antagonistički učinak u svim ispitivanim kombinacijama. Nadalje, vrsta *A. herba* je pokazala snažniji učinak u obliku fumiganta, dok se kod *A. absinthium* snažniji učinak očitovao pri kontaktnoj primjeni (Bachrouch i sur., 2015).

Istraživanje autora Zahra i sur. (2010) također ukazuju da eterično ulje *A. absinthium* ima veliki potencijal za korištenje u skladištima žitarica protiv imaga *T. confusum*.

Provedena su istraživanja pesticidnog djelovanja eteričnih ulja i drugih vrsta iz roda *Artemisia*. Na primjer, ispitivana je insekticidna aktivnost eteričnog ulja *Artemisia dracunculul* L. na *T. castaneum* i *T. confusum* (Shojaei i sur., 2015), pri čemu je utvrđena znatno veća toksičnost prema *T. castaneum* ($LC_{50} = 67,2 \mu\text{l/L}$ zraka) nego li *T. confusum* ($LC_{50} = 178,4 \mu\text{l/L}$ zraka). Njihovi rezultati upućuju na to da su glutation S-transferaze i MFO (*Mixed-function oxidase*) uključeni u metabolizam eteričnog ulja *A. dracunculul* te da se može koristiti za zaštitu od ovih ekonomski važnih štetnika.

Eterično ulje *Artemisia vulgaris* L. također pokazuje značajno repelentno djelovanje i fumigantnu toksičnost prema *T. castaneum*. Autori Wang i sur. (2006) su utvrdili mortalitet

imaga *T. castaneum* od 100 % pri koncentraciji od 8,0 $\mu\text{L}/\text{ml}$ eteričnog ulja *A. vulgaris*, dok je za ličinke 12, 14 i 16 dana starosti iznosio 49, 53 i 52 %. Iz navedenog se zaključuje kako su imaga znatno osjetljiviji stadij od ličinki. Također, pri fumigantnoj toksičnosti i koncentracijama od 10, 15 i 20 $\mu\text{L}/\text{L}$ zraka tijekom 96 sati zabilježen je mortalitet jajašca od 100 %. Povećanjem doze i vremena izloženosti rasla je djelotvornost što potvrđuje manji broj razvijenih kukuljica te u konačnici i odraslih oblika.

2.2.4. Klinčić (*Syzygium aromaticum* L.)

Narodni nazivi: karanfilić, klinček, klinčićevac, karanfilovac

Red: Myrtales

Porodica: Myrtaceae

Rod: *Syzygium*

Vrsta: *Syzygium aromaticum* L.



Slika 6. Klinčić (*Syzygium aromaticum* L.)

(Autor: Josipović, 2018)

Klinčićevac (*Syzygium aromaticum* L.) je malo do srednje visoko, zimzeleno drvo visine 8 – 30 m (Slika 6). Samoniklo raste u šumama i prašumama Indonezije, Brazila, Haitija, Indije, Kenije, Madagaskara, Malazije, Mauriciusa, Meksika, Šri Lanke i Tanzanije. Raste u ilovastim tlima i tlima bogatim humusom, kao i rastresitim tlima bogatim željezom. Listovi, cvjetovi i kora klinčićevca su aromatični. Stablo klinčićevca ima krošnju srednje veličine u obliku piramide koja se počinje nisko granati. Listovi su veliki, kožasti i sjajni s brojnim uljnim žlijezdama na donjoj strani. Cvjetovi su maleni, skupljeni u vršne cvatove, svaka grančica nosi 3 – 4 cvata na vrhu. Stablo klinčića je samooplodno, odnosno cvjetovi su hermafroditni i sami se oprašuju. Cvatnja varira između područja, primjerice u Indiji cvatnja traje od veljače do svibnja, u Zanzibaru (Tanzanija) od srpnja do rujna i od listopada do siječnja. Plodovi se obično

razvijaju 5 – 6 mjeseci nakon cvatnje. Za upotrebu se najviše koriste 'klinčići' odnosno neotvoreni cvjetni pupovi koji su 1 – 1,5 cm dugački, četverouglastog oblika i na vrhu zatvoreni. Beru se neposredno prije cvatnje, kada poprime crvenu boju koja se tijekom sušenja promijeni u smeđu (Orwa i sur., 2009).

Eterično ulje se dobiva destilacijom pupoljaka u kojem dominira eugenol (70-85 %), eugenol acetat (15 %) i β -kariofilen (5 – 12 %), s oko 2 % triterpen oleinske kiseline (Orwa i sur., 2009). Dokazano je ovicidno i repelentno djelovanje eteričnog ulja klinčićevca na ličinke i odrasle oblike kestenastog brašnara (*T. castaneum*). Dokazano je da su upravo sastavnice eugenol, izoeugenol i metil eugenol najviše toksične na *T. castaneum* i *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Redoslijed jačine navedenih sastavnica eteričnog ulja za *T. castaneum* bio je slijedeći: izoeugenol ($LD_{50} = 21,6 \mu\text{g}/\text{mg}$ insekta) > eugenol ($LD_{50} = 30,7 \mu\text{g}/\text{mg}$ insekta) > metileugenol ($LD_{50} = 85,3 \mu\text{g}/\text{mg}$ insekta). Alfa-pinen i β -kariofilen pokazuju sinergizam te kao posljedicu smanjenu pojavu i odraslih oblika *T. castaneum* (Ebadollahi, 2013).

Tretiranjem ličinki različitim koncentracijama eteričnog ulja klinčića utvrđena je značajno smanjena ovipozicija kod odraslih oblika *T. castaneum*, ali i smanjena pojava kukuljica i odraslih oblika zbog inhibicije aktivnosti acetilkolin-esteraze (Mishra, 2016).

2.2.5. Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)

Narodni nazivi: buhač, buvač, dalmatinska hrizantema, matrikolda, divlji pelin (Nikolić, 2018).

Red: Asterales

Porodica: Asteraceae

Rod: *Tanacetum*

Vrsta: *Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.



Slika 7. Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)

(Autor: Josipović, 2018)

Dalmatinski buhač je višegodišnja zeljasta biljna vrsta koja formira polugrm visine 30 – 100 cm (Slika 7). Biljka razvija vretenast korijen te iz korijenovog vrata izbija 15 – 20 tamnosmeđih bočnih korjenova, koji prodiru u dubinu 30 – 35 cm. Kotiledoni su izduženo jajoliki, mesnati, bez dlačica te prekriveni voštanim maškom. Rast buhača u visinu započinje odmah po nicanju, pa se na jednoj biljci uz središnju stabljiku razvija i veliki broj sekundarnih stabljika. Stabljike su brazdaste, prekrivene sivozelenim dlačicama. Listovi su duguljasti, perasto razdjeljeni i dvostruko urezani, naizmjenično poredani na prvoj trećini stabljike. Otvorene cvjetne glavice imaju promjer 3 – 5 cm. Cvjetna glavica se sastoji od dva tipa cvjetova: jezičastih i cjevastih. Žuti cjevasti cvjetovi su smješteni u sredini cvjetišta, dok su bijeli jezičasti (obodni) cvjetovi smješteni na rubovima cvjetne glavice. Cjevasti cvjetovi su hermafroditni, odnosno sadrže muške i ženske spolne organe. Sastoje se od zelene čaške i 5 latica koje čine žuti cjevasti vjenčić, unutar kojeg se nalazi 5 prašnika. Cvjetovi se otvaraju oko mjesec dana nakon što se pojave prvi pupovi. U našim uvjetima cvatnja započinje početkom svibnja i traje sve do kraja lipnja. Jedna biljka starosti 1 – 2 godine može formirati 200 – 400 cvjetova na glavnoj i sekundarnim stabljikama i granama, dok biljke stare 3 – 6 godina mogu formirati 800 – 900 cvjetova. Plodovi buhača su jednosjemene, svijetlosmeđe roške, cilindrične ili klinaste s 5 do 7 brazda. Sjeme je sitno i masa od 1000 sjemenki iznosi 0,8 – 1,2 g (Kolak i sur. 1999, Grdiša i sur., 2009).

Dalmatinski buhač je endemična vrsta istočne obale Jadranskog mora, najučestaliji je u Dalmaciji, a postoje nalazišta i u Italiji, Bosni i Hercegovini, Crnoj Gori i Albaniji. Može ga se naći i u mediteransko-montanom vegetacijskom pojasu na nadmorskim visinama preko 500 m na sjeverozapadnom dijelu Pelješca – Zmijsko brdo. Prirodno stanište su mu kamenjarski pašnjaci, kamenita, skeletna, propusna i degradirana staništa. Strogo je zaštićena biljna vrsta (Grdiša i sur., 2009).

Glavne insekticidno aktivne sastavnice *T. cinerariifolium* su: piretrin I i II, cinerin I i II te jasmolin I i II, koje se najčešće navode kao ukupni piretrini I (piretrin I, cinerin I i jasmolin I) i ukupni piretrini II (piretrin II, cinerin II i jasmolin II). Piretrin I, cinerin I i jasmolin I su esteri krizantemske kiseline, dok su piretrin II, cinerin II i jasmolin II esteri piretrinske kiseline (Essig i Zhao, 2001). Piretrini prve grupe djeluju kao repelenti, odnosno koriste se za odbijanje štetnika zahvaljujući svom mirisu te se koriste za zaštitu hrane u skladištima. Piretrini druge grupe djeluju kao kontaktni insekticidi jer djeluju na centralni i periferni živčani sustav kukca. Od navedenih sastavnica piretrin I i piretrin II su najzastupljeniji i najaktivniji. Piretrin II ima 'knockdown' učinak, koji se javlja nekoliko minuta nakon tretmana, a piretrin I je smrtonosan, djelujući nakon nekoliko minuta. Kukci lako metaboliziraju piretrin II i mogu se oporaviti nakon nekoliko sati. Kombinacija piretrina I i II ima izvanredan učinak na veliki broj kukaca (Winney, 1979). Omjer piretrina I i piretrina II je izuzetno važan jer se prema tom omjeru određuje kvaliteta ekstrakta, pa tako i sama insekticidna aktivnost raste s njegovim povećanjem. Omjer piretrina I i piretrina II kreće se od 0,9 do 1,3. Najveći sadržaj piretrina nalazi se u cvjetnim glavicama; 93,7 % u roškama (uljne žlijezde koje su izolirane i zaštićene od svjetla), 2,6 % u jezičastim cvjetovima, 2,6 % u cvjetištu te 2 % u cjevastim cvjetovima, dok je u ostalim biljnim dijelovima prisutan samo u tragovima. Sadržaj piretrina ovisi o genotipu, zrelosti cvjetova, vremenu berbe, metodi sušenja, klimi te uvjetima čuvanja u skladištima (Grdiša i sur., 2009).

Piretrini su djelotvorni u suzbijanju velikog broja štetnika, a neotrovni su za ljude te toplokrvne životinje i okoliš, brzo se razgrađuju u tlu i ne ostavljaju rezidue te postoji mala mogućnost pojave rezistentnosti kod kukaca. Premda piretrin izaziva brzu paralizu kukca, oni se mogu nakon nekog vremena oporaviti jer imaju sposobnost razgradnje manjih količina piretrina u svom tijelu. Nestabilni su pod utjecajem sunčevog svjetla, zraka, vode te visokih temperatura, stoga posljedično imaju brzu razgradnju u poljskim uvjetima što ujedno predstavlja nedostatak kao sredstva za zaštitu bilja. Kako bi se spriječila razgradnja piretrina u tijelu, dodaje mu se tzv. sinergist. Komercijalne formulacije u te svrhe sadrže poboljšivače poput piperonil butoksida, razna biljna ulja, sapune, antioksidante i taninsku kiselinu. Piperonil butoksid sprječava rad enzima koji kukcima omogućava razgradnju piretrina te na taj način povećavaju samu učinkovitost piretrina (Duke, 1990). U svrhu zaštite bilja preporuča se piretrine primjenjivati u kasnim popodnevnim satima zbog pojačanog insekticidnog učinka pri nižim temperaturama i smanjenom intenzitetu svjetla.

U istraživanju autora Kalinović i sur. (2011) provedenom na *T. castaneum* i *Sitophilus oryzae* L. (rižin žižak) utvrđeno je da su mješavine dijetomejske zemlje (DZ), piretrina i sinergista piperonil butoksida (PBO) značajno učinkovitije na kukce, u usporedbi s djelotvornošću formulacija DZ-a Perma-Guard i hrvatskoga DZ-a primijenjenoga u istoj dozi. Taj rezultat je dobar pokazatelj da je s odgovarajućom mješavinom DZ-a i piretrina s PBO, odnosno s optimalnim omjerima tvari u formulacijama, moguće znatno povećati njihovu učinkovitost te tako smanjiti dozu primjene DZ-a. Obzirom da Hrvatska ima nalazišta DZ-a i autohtoni buhač, moguće je mješavinom DZ i piretrina razviti ekološko prihvatljiv hrvatski insekticid.

Vayias i sur. (2006) su istraživali utjecaj triju različitih vrsta dijetomejske zemlje (DZ) u kombinaciji s piretrinom na kukuljice *T. confusum* starosti jedan i pet dana u brašnu i sjemenu pšenice, pri čemu je utvrđen značajno veći broj odraslih jedinki u brašnu. Pojava odraslih jedinki bila je značajno veća kod kukuljica starih pet dana nego onih starih jedan dan, stoga se može zaključiti da su kukuljice stare pet dana tolerantnije na primijenjena sredstva od kukuljica starih jedan dan. Također, mortalitet imaga zabilježen je sa svim testiranim formulacijama i kretao se između 34 % i 100 % .

U istraživanju Kharel i sur. (2014) testirana je učinkovitost piretrina primijenjenog u obliku aerosola na sve razvojne stadije *T. confusum* i *T. castaneum*. Zabilježen je mortalitet veći od 88 % kod obje vrste i u svim razvojnim stadijima kod direktnog tretiranja kukaca koji su potom premješteni u tretirano ili netretirano brašno. Mortalitet je bio značajno smanjen kada su kukci tretirani zajedno s brašnom ili su netretirani kukci prebačeni u tretirano brašno, odnosno neizravno izlagani aerosolu. Usporedbom osjetljivosti pojedinih razvojnih stadija zaključeno je da su ličinke i odrasli oblici obje vrste tolerantniji u odnosu na jajašca i kukuljice.

2.2.6. Rajčica (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Narodni nazivi: paradajz, paradajs, pomidor, jabučica crljena, jabučica zlatna, jabučasta rajčika (Nikolić, 2018)

Red: Solanales

Porodica: Solanaceae

Rod: *Lycopersicon*

Vrsta: *Lycopersicon esculentum* Mill.



Slika 8. Rajčica (*Lycopersicon esculentum* Mill.)
(Autor: Josipović, 2018)

Rajčica je jednogodišnja zeljasta biljna vrsta koja u povoljnim uvjetima može biti i dvogodišnja (Slika 8). Glavni korijen prodire do dubine 1 m, ali grananje počinje vrlo rano, pa korijenov sustav može dosegnuti promjer od 1,5 m, međutim glavnina korijenovog sustava je u površinskom sloju do 30 cm. Rajčica ima sposobnost formiranja adventivnog korijenja. Kada stabljika dodiruje tlo, tada će se na tim mjestima najprije razviti adventivno korijenje. Stabljika je zeljasta, promjera do 2 cm pokrivena dlačicama. Postoje dva tipa stabljike: indeterminantne i determinantne. Prvi tip se često naziva visoki, a kultivari drugog tipa niski ili grmasti. Indeterminantna stabljika može narasti nekoliko metara. Vegetacijski vrh je aktivan dokle god ima povoljne uvjete. Nakon prvog cvata razvije najčešće tri lista, zatim drugi cvat, opet tri lista pa treći cvat i tako redom. Iz pazuha listova razvijaju se zaperci koje treba odstranjivati. Determinantna stabljika naraste 0,5 do 1 m, zatim prestaje s rastom. Na vrhu se nalazi cvat a iz pazuha listova razvijaju se sekundarne grane, koje imaju isti raspored listova kao i glavna grana. List rajčice neparno je perast na dugoj peteljci. U odgovarajućim uvjetima može dosegnuti do

50 cm. Liske su nejednake veličine, a pojedine na postranoj peteljci mogu imati do 3 liske. Liske su naborane i dlakave. Cvat je jednostavni ili sastavljeni grozd. Jednostavni grozd ima 7 – 12 cvjetova, a sastavljeni i višestruko više. Cvjetovi se na cvatu razvijaju sukcesivno, akropetalno (od dna prema vrhu cvata), pa tako na jednom cvatu može biti već razvijenih plodova i tek otvorenih cvjetova. Plod rajčice je bobica, a sastoji se od mesa (perikarp i pokožica) i pulpe (placenta, sjeme i želatinozno tkivo oko sjemenki). Plod može biti različitog oblika i boje (Lešić i sur., 2002).

Listovi rajčice sadrže mnogobrojne aktivne tvari od kojih su najznačajniji fenolni spojevi i steroidni alkaloidi. Glikoalkaloidi listova rajčice su slični solaninu. Tomatidin, osnovni aglikon glikoalkaloida (α -tomatina i dehidrotomatina) sudjeluje u obrani biljke od mnogobrojnih bakterija, gljivica, virusa i kukaca. Istraživanje kemijskog sastava listova 50 različitih vrsta, imalo je za cilj utvrditi vrste koje sadrže najvišu količinu od pet različitih flavonola i dva glikoalkaloida te antioksidativnu aktivnost ekstrakta (Lee i sur., 2016). Njihovi rezultati su prikazani u Tablici 2.

Tablica 2. Količine flavonola, glikoalkaloida i antioksidativne aktivnosti 50 različitih vrsta rajčice

Grupa	Tvar	Minimum	Maksimum	Prosjek
Flavonoli (mg g ⁻¹)	Miricetin	1,3	4,8	2,9
	Kvercetin	9,0	413,2	119,9
	Naringenin	23,2	1.306,4	429,7
	Kaempferol	3,2	81,2	15,7
	Isorhamnetin	1,0	10,3	6,7
Glikoalkaloid (mg g ⁻¹)	Tomatin	209,4	925,6	483,1
	Tomatidin	25,0	110,4	61,3
Antioksidacijska aktivnost	DPPH (%)	10,3	39,5	22,7
	ABTS (%)	21,3	59,7	40,9
	TPC (mg GAE g ⁻¹)	16,8	59,9	30,7
	NO (IC ⁵⁰)	24,8	71,5	36,9

Izvor: (Lee i sur., 2016)

DPPH: 2,2-difenil-1-pikril hidrazil; ABTS: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina); TPC: ukupni sadržaj polifenola; GAE: jednako galičnoj kiselini; NO: dušikov oksid

Prema Schreiber (1958) α -tomatin je učinkovit protiv krumpirove zlatice. Zabilježen je poremećeni rast ličinki zlatice koje su se hranile listovima rajčice s niskim sadržajem α -tomatina, dok je kod onih s visokim sadržajem α -tomatina napad ličinki bio u potpunosti spriječen. Potvrđeno je da α -tomatin ili tomatidin djeluju toksično, inhibirajući razvoj ličinki i hranjenje kod kukaca poput *Empoasca fabae* Harris, *Tribolium castaneum*, *Christoneura fumiferana* Clemens, *Melanoplus bivittatus* Say, *Aedes aegyptii* L., *Earias insulana* Boisduval, *Manduca sexta* L., *Helicoverpa zea* Boddie i *Spodoptera exigua* Hübner (Bloem i sur., 1989).

Ghada i sur. (2017) navode da ekstrakt listova rajčice sadrži fenolne i flavonoidne spojeve koji su učinkoviti protiv *Aphis gossypii* Glover. Različite niske koncentracije ekstrakta rajčice uzrokovale su visok postotak mortaliteta. Povećanje doze rezultiralo je većim

mortalitetom, odnosno 100 %-tnom smrtnošću. Glavne sastavnice ekstrakta utvrđene plinskom kromatografijom bile su: fitol (16,03 %), heksadecenska kiselina, etil ester (6,14 %), etil-9,12,15-oktadekatrinoat, alfa-limolenat (6,06 %), Z-citral (4,10 %), β -mircen (2,99 %), palmitinska kiselina (2,20 %) i 3-kloroformanilid (1 %).

3. Materijali i metode

3.1. Laboratorijski pokusi

Laboratorijski pokusi u svrhu utvrđivanja učinkovitosti vodenih i etanolnih ekstrakata na ličinke četvrtog stadija malog brašnara (*Tribolium confusum* L.) provedeni su u laboratoriju Centra za zaštitu bilja, Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu tijekom travnja, svibnja i lipnja 2018. godine. Istraživanje je uključivalo osam tretmana s vodenim ekstraktima (T1-T8) i 10 tretmana s etanolnim ekstraktima (T1-T10). Priprema ekstrakata i postupak provođenja pokusa opisani su u daljnjem tekstu. Prije postavljanja pokusa uzgojene su ličinke malog brašnara koje su nakon razvoja čuvane u staklenkama s brašnom. Prije tretmana brašno je prosijano i izdvojene su ličinke (Slika 9, 10, 11).

3.1.1. Uzgoj malog brašnara

Ličinke malog brašnara uzgojene su prema USDA – ARS (1969). Postupak se sastojao od nekoliko koraka. Brašno za uzgoj ličinki prvobitno je sterilizirano kroz period od 20 minuta na 150 °C. U ohlađeno brašno dodan je kvasac (omjer brašno: kvasac = 10:1,5). Od pripremljene mješavine brašna i kvasca izvagano je 5 puta po 100 grama te je isto stavljeno u 5 staklenki u koje je dodano 25 odraslih kukaca malog brašnara te prekriveno pamučnom tkaninom (datum izvođenja: 17. 04. 2018.). Staklenke su čuvane u klima komori pri temperaturi od 27 ± 1 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 65 ± 5 % u tami. Nakon tjedan dana brašno je prosijano i vraćeno u staklenke i klima komoru. Ličinke 4. stadija razvijene su u brašnu nakon 5 tjedana (22. 05. 2018.).



Slika 9. Prosijavanje brašna
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 10. Odabir ličinki iste veličine
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 11. Ličinke 4. stadija malog brašnara
(Autor: Josipović, 2018)

3.1.2. Vodeni ekstrakti

Biljni materijal kadulje, pelina, rajčice i dalmatinskog buhača prikupljen je u Vrtu ljekovitog i aromatičnog bilja, Zavoda za sjemenarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu, a klinčić i đumbir su kupljeni u trgovini.

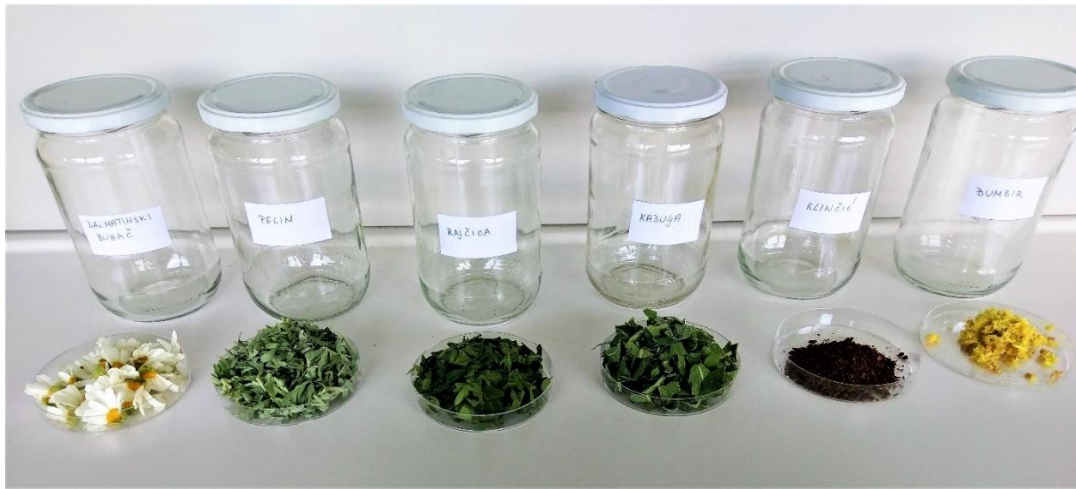
U ovom dijelu istraživanja postavljene su ukupno 32 petrijeve zdjelice, odnosno osam tretmana (uključujući i kontrolu) u četiri ponavljanja (Tablica 3). Svako ponavljanje uključivalo je 10 ličinki malog brašnara. Biljni ekstrakti su pripremljeni močenjem 10 grama biljnog materijala (Slika 12, 13) u 200 ml vode (Slika 14). Mješavina je ostavljena 24 h na sobnoj temperaturi (Slika 15). Nakon 24 sata ekstrakti su procijeđeni kroz gazu (Slika 16) i kao takvi korišteni u pokusima (Slika 17). Promjene na ličinkama praćene su tijekom 24, 48, 72 i 192 sata. Kao što je vidljivo iz Tablice 3, s ekstraktom kadulje napravljena su dva tretmana; prvi (T1) je napravljen na filter papiru (postupak je objašnjen u daljnjem tekstu), dok je drugi tretman (T8) proveden bez filter papira, odnosno prskanjem ekstrakta s ručnom prskalicom po površini petrijeve zdjelice.

Tablica 3. Popis biljnih vrsta korištenih u pripremi vodenih ekstrakata

Tretman	Biljna vrsta
T1	Ljekovita kadulja (<i>Salvia officinalis</i> L.)
T2	Đumbir (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)
T3	Klinčić (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)
T4	Gorski pelin (<i>Artemisia absinthium</i> L.)
T5	Rajčica (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)
T6	Dalmatinski buhač (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> /Trevir./ Sch. Bip.)
T7	Kontrola (netretirano)
T8	Ljekovita kadulja (<i>Salvia officinalis</i> L.) bez filter papira



Slika 12. Vaganje biljnog materijala
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 13. Izvagani i usitnjeni biljni materijal
(Autor: Josipović, 2018)



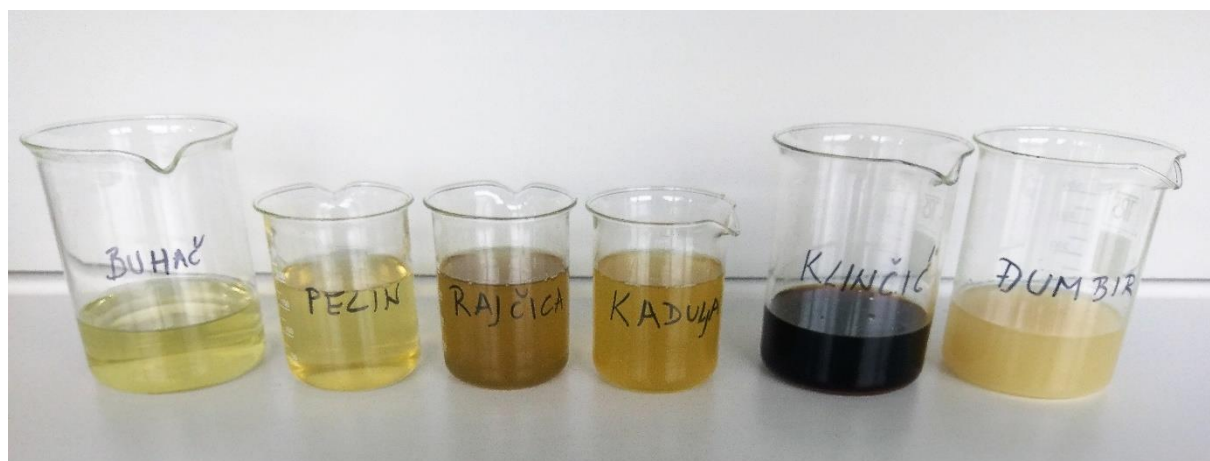
Slika 14. Pripremljeni ekstrakti
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 15. Vodeni ekstrakti nakon 24 sata
(Autor: Josipović, 2018)

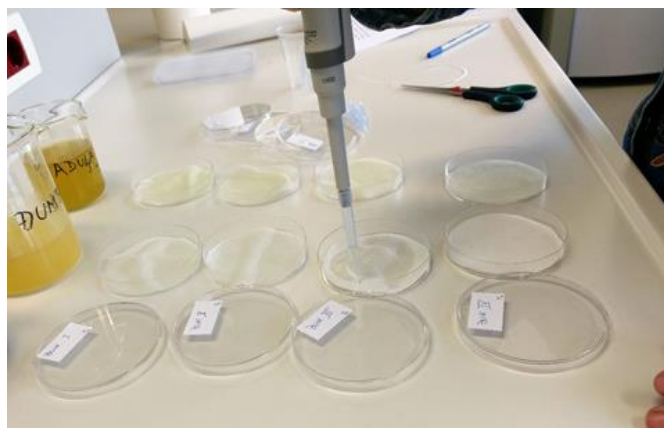


Slika 16. Cijeđenje vodenih ekstrakata kroz gauzu
(Autor: Josipović, 2018)

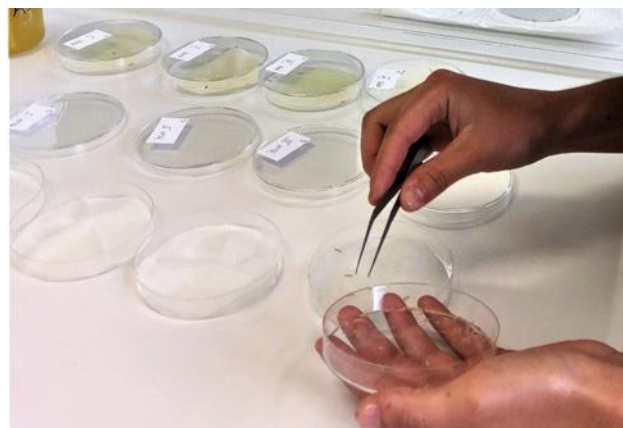


Slika 17. Procijeđeni vodeni biljni ekstrakti
(Autor: Josipović, 2018)

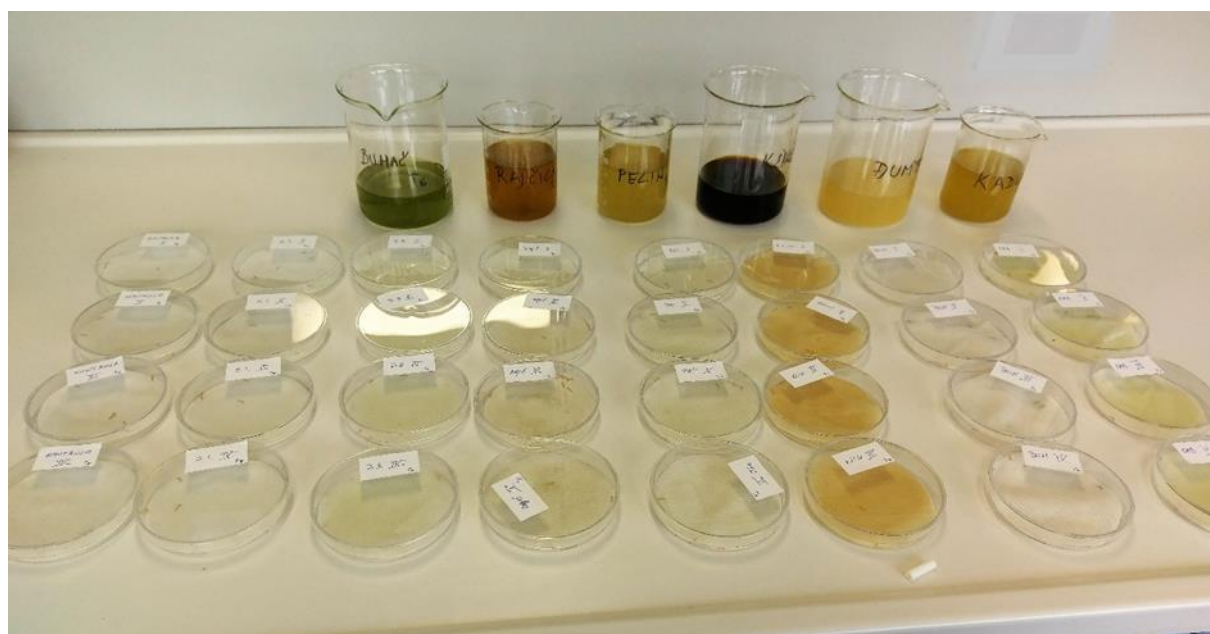
Po 1 ml svakog ekstrakta ispipetirano je na filter papir koji je položen na dno petrijeve zdjelice, a prije polaganja ličinki filter papir je ostavljen da se prosuši (Slika 18). Potom je u svaku petrijevu zdjelicu položeno po 10 ličinki (Slika 19), a petrijeva zdjelica je poklopljena te su bilježene promjene (Slika 20). Kontrolnim uzorcima nisu dodavani biljni ekstrakti.



Slika 18. Pipetiranje 1 ml ekstrakta na filter papir
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 19. Polaganje 10 ličinki na prosušeni filter papir
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 20. Tretmani spremni za očitavanje
(Autor: Josipović, 2018)

3.1.3. Etanolni ekstrakti

Biljni materijal kadulje, pelina, rajčice i dalmatinskog buhača prikupljen je u Vrtu ljekovitog i aromatičnog bilja, Zavoda za sjemenarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu, klinčić i đumbir kupljeni su u trgovini, češnjak uzgojen u vrtu u Lipiku, dok su grane bijelog bora ubrane na otoku Krku.

U ovom dijelu istraživanja postavljeno je ukupno 40 petrijevih zdjelica, odnosno 10 tretmana u četiri ponavljanja (Tablica 4). Biljni ekstrakti su pripremljeni močenjem 10 grama prosušenog i usitnjenog biljnog materijala (Slika 21, 22) u 50 ml 70 %-tnog etanola. Mješavina je ostavljena 24 sata na sobnoj temperaturi (Slika 23, 24). Nakon 24 sata ekstrakti su procijeđeni kroz gazu i kao takvi korišteni u pokusima (Slika 25). Promjene na ličinkama praćene su

tijekom 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 i 100 sati (Slika 28). Kao što je vidljivo u Tablici 4., pokus je uključivao dva tretmana s dalmatinskim buhačem; tretman T6 je uključivao ekstrakte pripremljene močenjem cvatova dalmatinskog buhača u etanolu, dok je tretman T7 uključivao ekstrakte dobivene metodom ultrazvučne ekstrakcije s etanolom (Slika 26).

Tablica 4. Popis biljnih vrsta korištenih u pripremi etanolnih ekstrakata

Tretman	Naziv tretmana
T1	Ljekovita kadulja (<i>Salvia officinalis</i> L.)
T2	Đumbir (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)
T3	Klinčić (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)
T4	Gorski pelin (<i>Artemisia absinthium</i> L.)
T5	Rajčica (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)
T6	Dalmatinski buhač (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> /Trevir./ Sch. Bip.)
T7	Ekstrakti dalmatinskog buhača (<i>Tanacetum cinerariifolium</i> /Trevir./ Sch. Bip.)*
T8	Kontrola
T9	Češnjak (<i>Allium sativum</i> L.)
T10	Bijeli bor (<i>Pinus sylvestris</i> L.)

*Ekstrakt dobiven metodom ultrazvučne ekstrakcije s etanolom



Slika 21. Bijeli bor (*Pinus sylvestris* L.)
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 22. Češnjak (*Allium sativum* L.)
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 23. Močenje biljnih dijelova u etanolu; kadulja, klinčić, dalmatinski buhač, gorski pelin, rajčica, đumbir (s lijeva na desno)
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 24. Močenje biljnih dijelova bijelog bora i češnjaka
(Autor: Josipović, 2018)



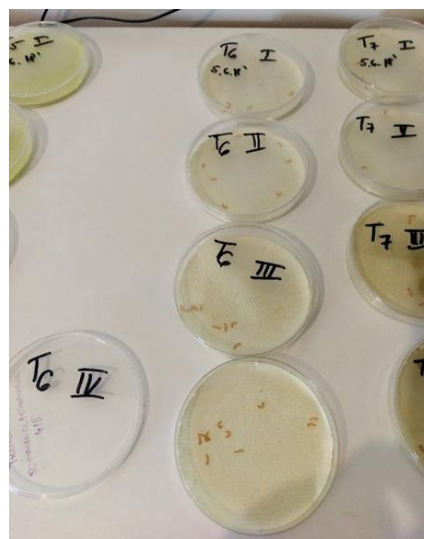
Slika 25. Pripremljeni etanolni ekstrakti
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 26. Tretman T7 - Ekstrakti dalmatinskog buhača dobivenih metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 27. Pipetiranje 2 ml ekstrakta na filter papir
(Autor: Josipović, 2018)



Slika 28. Tretmani spremni za očitavanje
(Autor: Josipović, 2018)

Od svakog ekstrakta ispipetirano je po 2 ml na filter papir petrijeve zdjelice, a prije polaganja ličinki filter papir je ostavljen da se prosuši (Slika 27). Potom je u svaku petrijevu zdjelicu položeno po 10 ličinki, petrijeva zdjelica je poklopljena i bilježene su promjene. Kod kontrolnih uzoraka na površinu filter papira stavljeno je 2 ml 70 %-tnog etanola.

3.2. Očitavanje pokusa i statistička obrada podataka

Pokusi s vodenim ekstraktima očitavani su 24, 48, 72 i 192 sata nakon tretmana, dok su kod etanolnih ekstrakata očitavanja provedena nakon 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 i 100 sati, pri čemu je utvrđivan broj mrtvih jedinki u svakoj petrijevoj zdjelici. Ličinke su promatrane mikroskopom, a one mrtve su uklanjane iz petrijevih zdjelica. Mortalitet ličinki izračunat je na temelju broja mrtvih i živih ličinki u ponavljanju, a temeljem izračunatog mortaliteta na svim varijantama uključujući i netretiranu kontrolu izračunata je učinkovitost pomoću formule Schneider-Orelli (1947):

$$\% \text{ učinkovitosti} = \frac{(\text{mortalitet na tretmanu}(\%) - \text{mortalitet na kontroli}(\%))}{100 - \text{mortalitet na kontroli}(\%)} \times 100$$

Jednosmjerna analiza varijance je provedena u svrhu utvrđivanja signifikantnih razlika između tretmana. Izračun je proveden pomoću naredbe PROC GLM u programu SAS (SAS Institute, 2004). Razlike između prosječnih vrijednosti kvantitativnih svojstava između tretmana utvrđene su pomoću Tukeyjevog testa ($P < 0,05$).

4. Rezultati

4.1. Učinkovitost vodenih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara

Učinkovitost vodenih ekstrakata na ličinke malog brašnara kroz 24, 48, 72 i 192 sata prikazana je u Tablici 5. Dvadeset četiri, 48 i 72 sata nakon tretiranja nije utvrđena statistički značajna razlika između tretmana. Nakon 192 h najbolja učinkovitost od 27,5 % utvrđena je kod tretmana s ekstraktom đumbira (T2) i pelina (T4), međutim između njih i tretmana s ekstraktom kadulje (T1), klinčića (T3) i rajčice (T5) nije utvrđena značajna razlika. Najslabiji učinak su pokazali kontrolni tretman (T7), tretmani s dalmatinskim buhačem (T6) i kaduljom (T8).

Tablica 5. Učinkovitost vodenog ekstrakta na malog brašnara (*Tribolium confusum* L.) (srednja vrijednost \pm standardna devijacija)

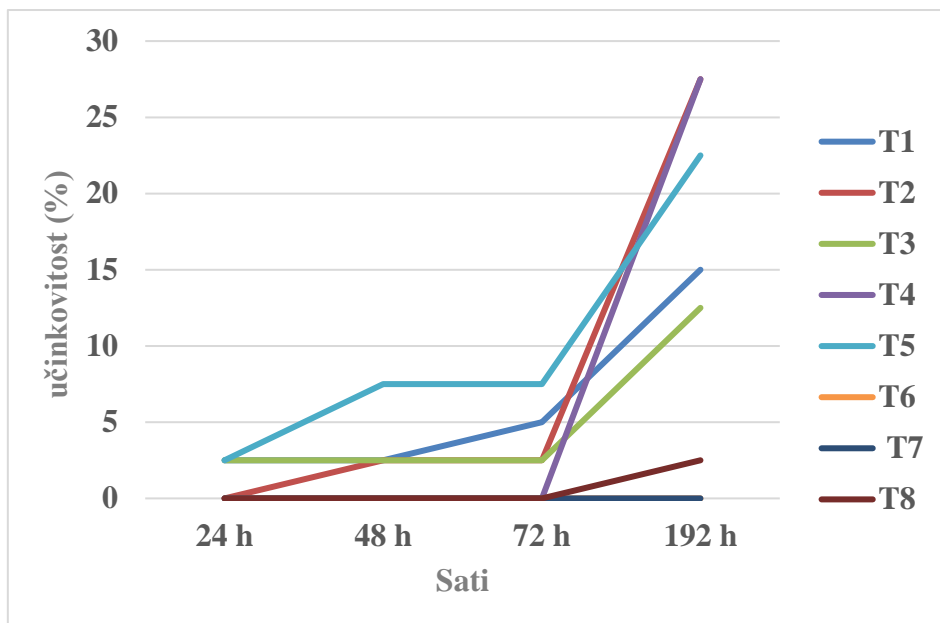
Tretman	24 h		48 h		72 h		192 h	
T1	2,50 \pm 5,00	a	2,50 \pm 5,00	a	5,00 \pm 10,00	a	15,00 \pm 12,91	ab
T2	0,00 \pm 0,00	a	2,50 \pm 5,00	a	2,50 \pm 5,00	a	27,50 \pm 9,57	a
T3	2,50 \pm 5,00	a	2,50 \pm 5,00	a	2,50 \pm 5,00	a	12,50 \pm 9,57	ab
T4	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	27,50 \pm 9,57	a
T5	2,50 \pm 5,00	a	7,50 \pm 5,00	a	7,50 \pm 5,00	a	22,50 \pm 20,62	ab
T6	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	b
T7	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	b
T8	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	0,00 \pm 0,00	a	2,50 \pm 5,00	b
<i>P(F)</i>	n. s.		n. s.		n. s.		**	

T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač; T7- kontrola; T8- kadulja prskano

P(F) - signifikantnost F-testa: n.s. $P > 0.05$, $0.05 > P > 0.01$, $0.01 > P > 0.001$, $***P < 0.001$

*Vrijednosti u stupcima označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Kod tretmana kaduljom (T1) nakon 24 sata utvrđena je učinkovitost od 2,5 %, koja je ostala nepromijenjena do 72 sata kada je porasla na 5 %. Nakon 192 sata utvrđena je konačna učinkovitost od 15 %. Kod tretmana đumbirom (T2) učinak od 2,5 % utvrđen je nakon 48 h. Nakon 192 h utvrđena je učinkovitost od 27,5 %. Sličan trend imao je i tretman klinčićem (T3) s time da je konačna učinkovitost iznosila 12,5 %. Učinkovitost tretmana pelinom (T4) od 27,5 % zabilježena je tek nakon 192 h, a kod tretmana kaduljom prskano (T8) neznatna učinkovitost od 2,5 % također nakon 192h. Kod tretmana rajčicom (T5) nakon 24 sata zabilježena je učinkovitost od 2,5 %, nakon 72 sata 7,5 % a nakon 192 sata učinkovitost od 22,5 % (Grafikon 1).

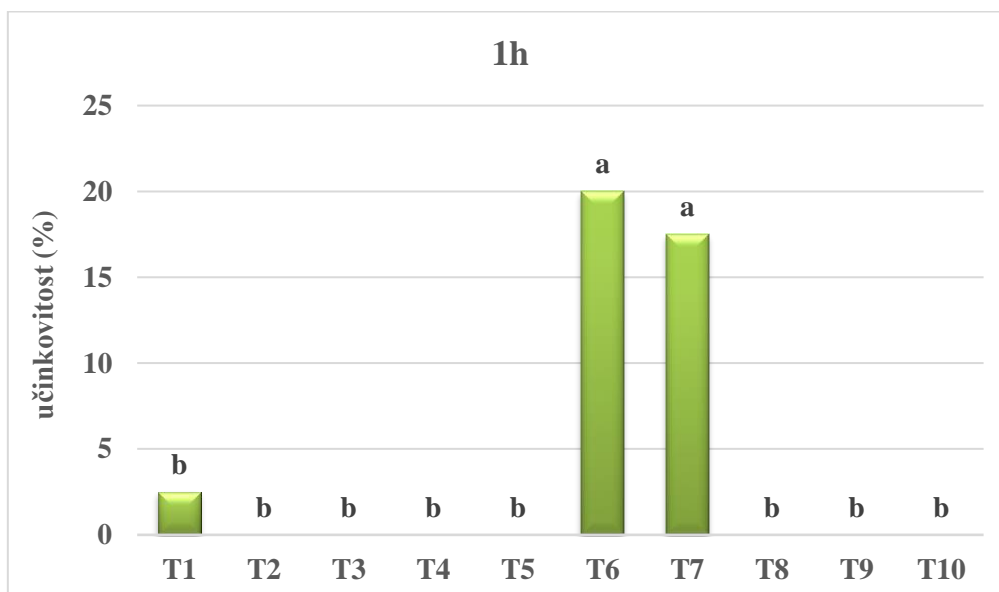


T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač; T7- kontrola; T8- kadulja prskano

Grafikon 1. Učinkovitosti vodenih ekstrakata nakon 24, 48, 72 i 192 sata

4.2. Učinkovitost etanolnih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara

Kod primjene etanolnih ekstrakata broj mrtvih kukaca utvrđivan je nakon 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 i 100 sati.



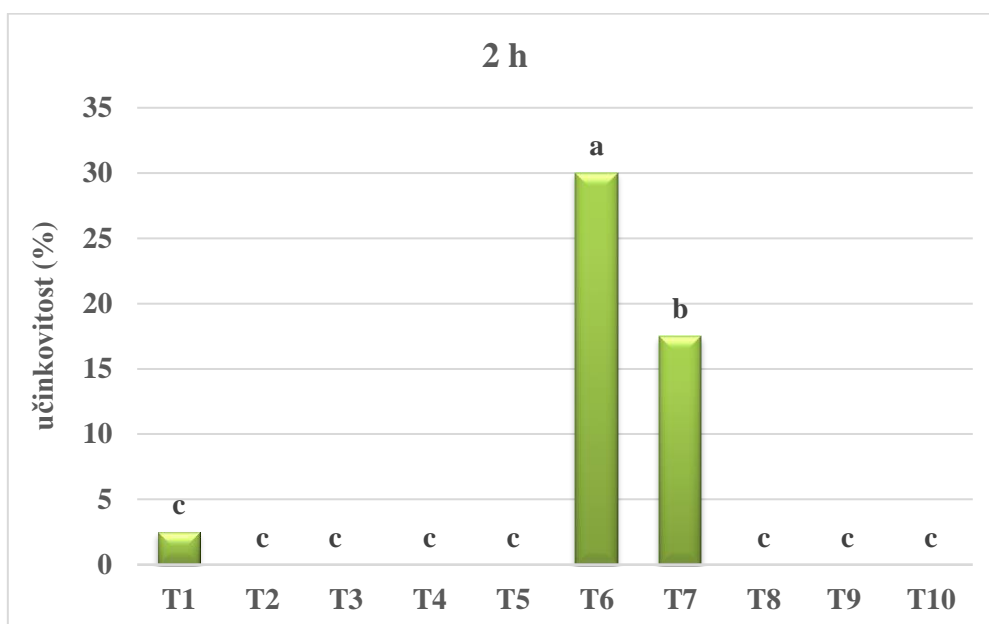
T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1**; T7- dalmatinski buhač2**; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se značajno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

** dalmatinski buhač 1 – ekstrakt dobiven močenjem cvatova u etanolu, dalmatinski buhač 2 - ekstrakt dobiven metodom ultrazvučne ekstrakcije s etanolom

Grafikon 2. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 1 sat nakon tretiranja

Sat vremena nakon tretiranja ličinki malog brašnara, tretman dalmatinskim buhačem dobivenim močenjem cvatnih glavica u etanolu kroz 24 sata (T6) i ekstrakt dalmatinskog buhača dobiven metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7) pokazali su značajno veću učinkovitost (20 % i 17,5 %) u odnosu na kontrolu (T8) i ostale tretmane (Grafikon 2). Nakon dva sata značajno najveća učinkovitost (30 %) postignuta je kod tretmana dalmatinskim buhačem dobivenog močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6). Kod tretmana s ekstraktom dalmatinskog buhača dobivenog metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7) utvrđena je značajno manja učinkovitost od 17,5 % u odnosu na tretman dalmatinskim buhačem dobivenog močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6) (Grafikon 3).

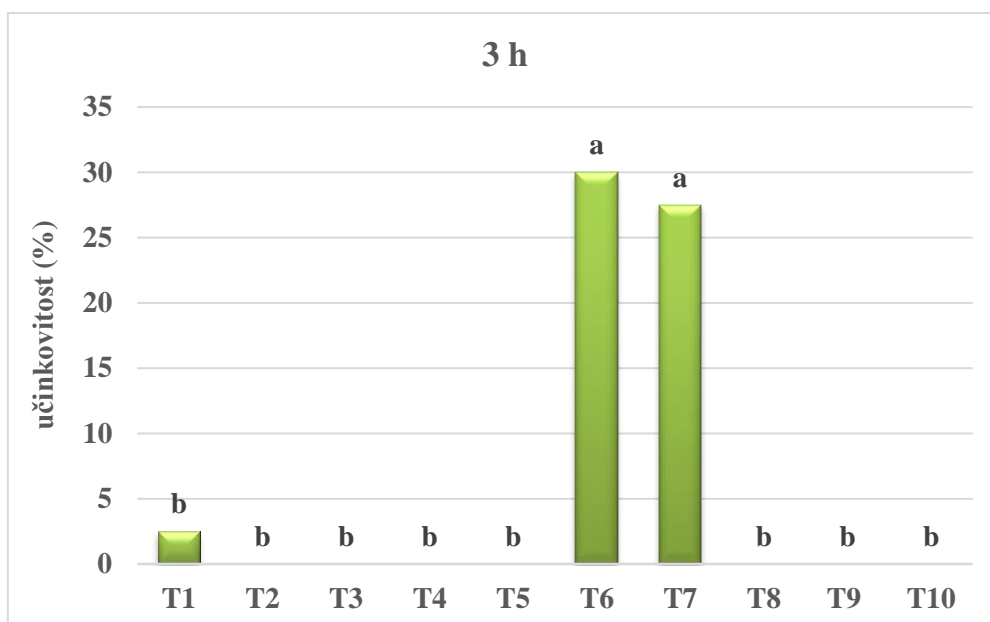


T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Grafikon 3. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 2 sata nakon tretiranja

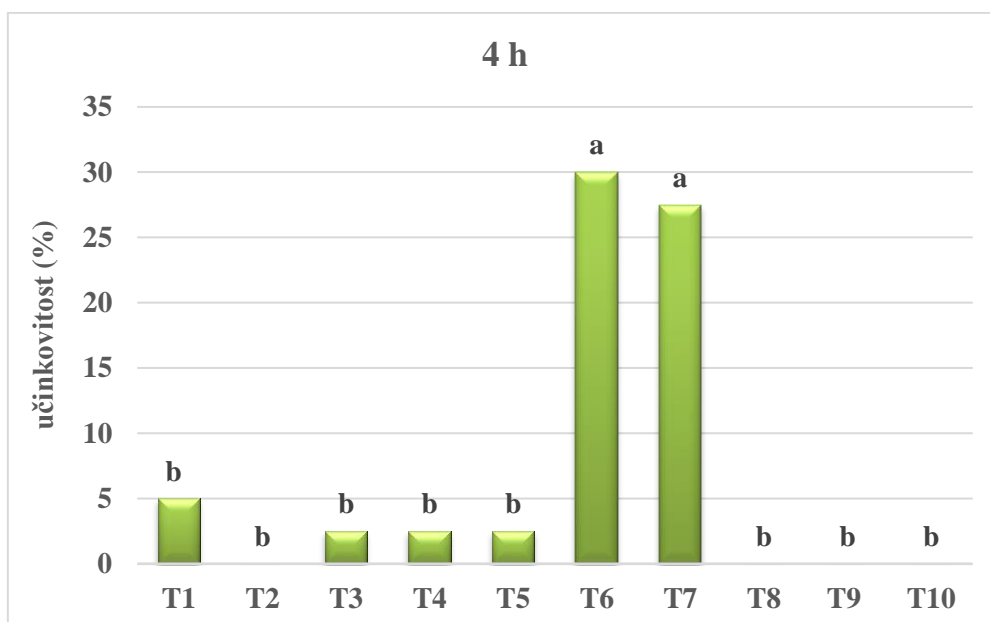
Nakon tri sata utvrđena je značajno najveća učinkovitost kod tretmana dalmatinskim buhačem dobivenog močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6) i ekstraktom dalmatinskog buhača dobivenog metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7) od 30 i 27,5 % (Grafikon 4), a isti trend učinkovitosti zabilježen je i nakon 4 sata (Grafikon 5), 5 sati (Grafikon 6), 10 (Grafikon 7) i 22 sata (Grafikon 8).



T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

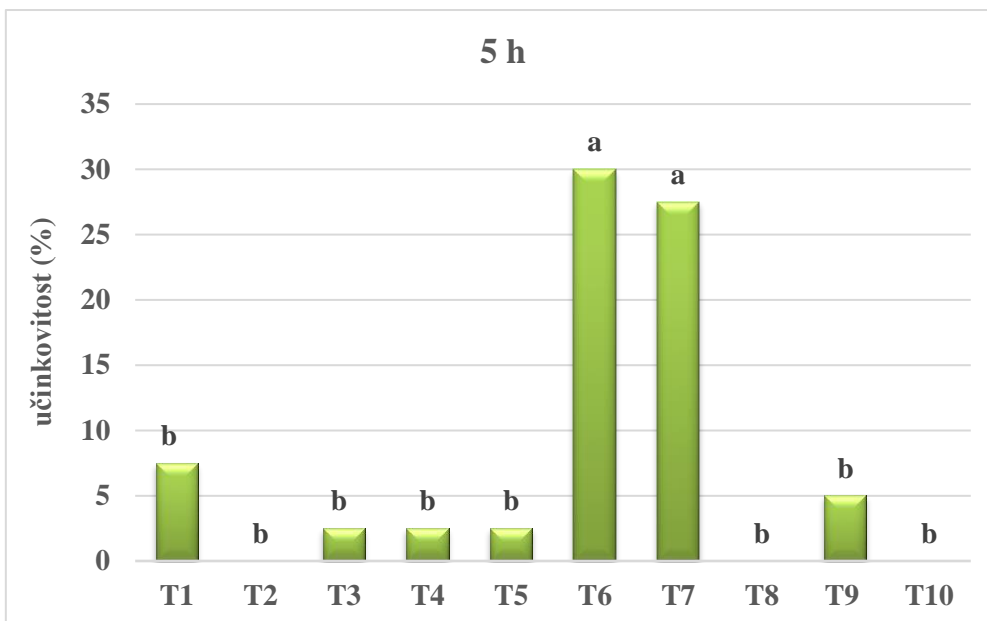
Grafikon 4. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 3 sata nakon tretiranja



T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

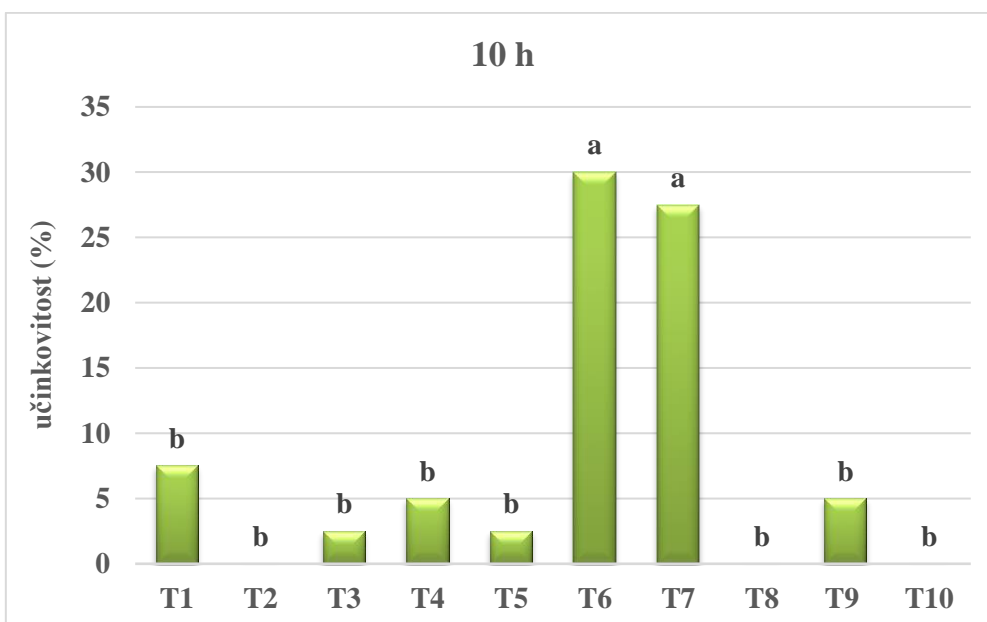
Grafikon 5. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 4 sata nakon tretiranja



T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

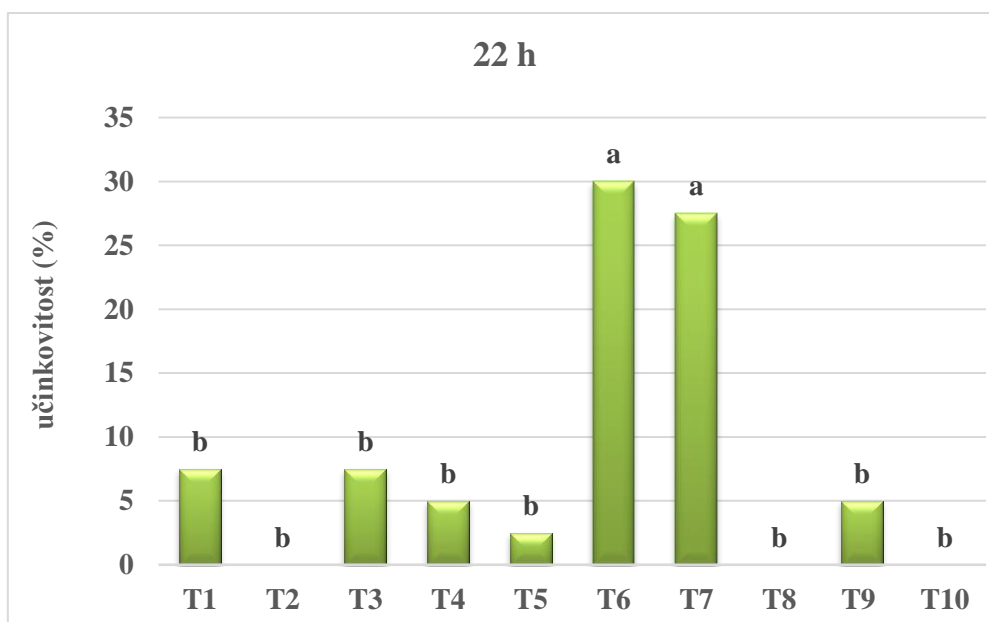
Grafikon 6. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 5 sati nakon tretiranja



T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Grafikon 7. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 10 sati nakon tretiranja

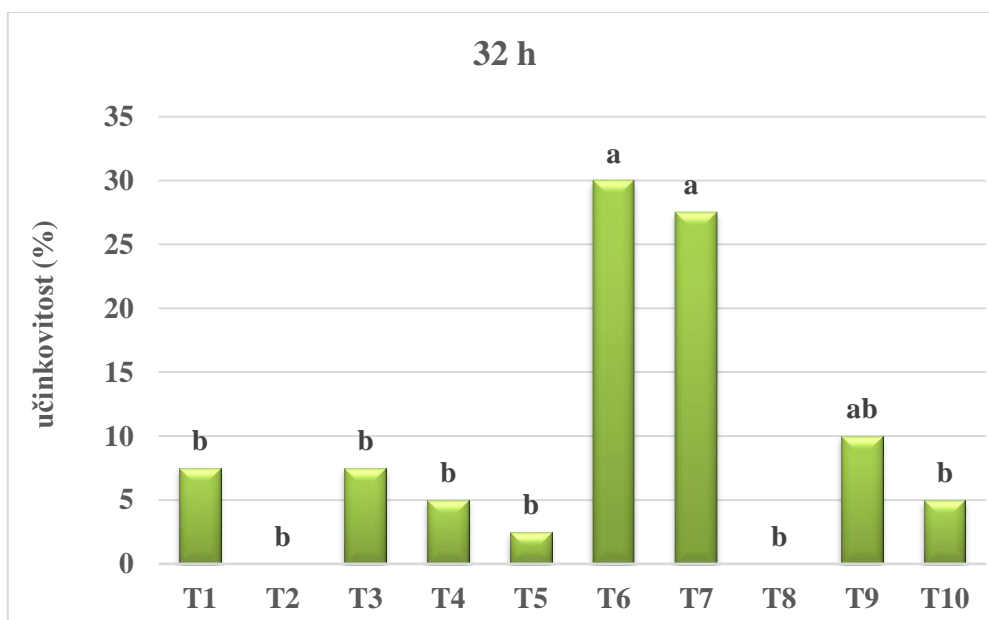


T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7 dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Grafikon 8. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 22 sata nakon tretiranja

Tretmani (T6) i (T7) i nakon 32 sata imaju značajno najveću učinkovitost u usporedbi s kontrolom i ostalim tretmanima, uz izuzetak tretmana češnjakom (T9) kod kojeg je zabilježena učinkovitost od 10 % (Grafikon 9).

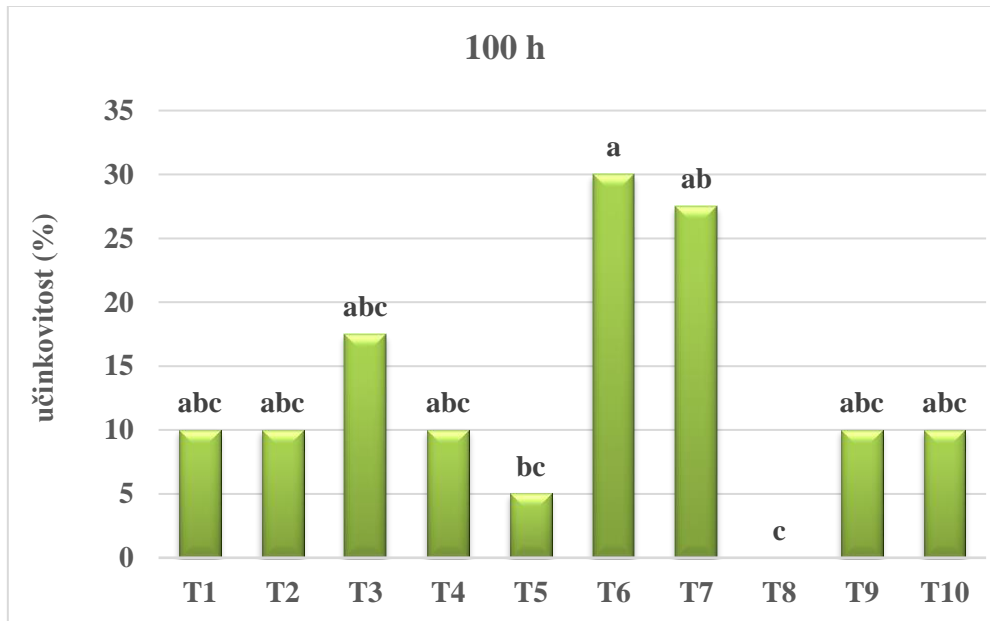


T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Grafikon 9. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 32 sata nakon tretiranja

Sto sati nakon tretiranja značajno najveću učinkovitost imao je tretman dalmatinskim buhačem dobivenim močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6). Tretmani T6 i ekstrakt dalmatinskog buhača dobivenog metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7) značajno su se razlikovali od kontrole (T8). Kod ostalih tretmana utvrđene su razlike u odnosu na kontrolu, međutim, one nisu bile značajne (Grafikon 10).

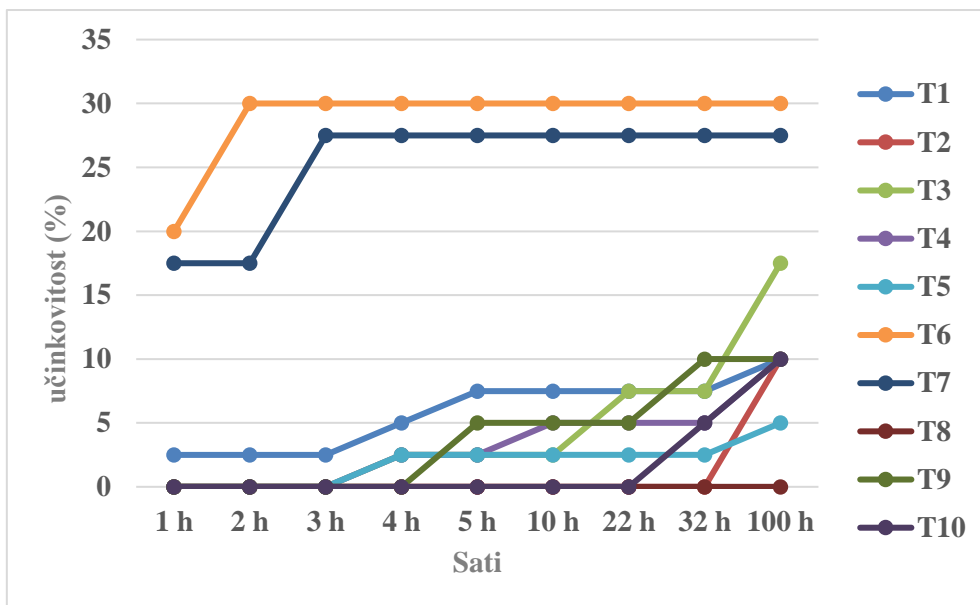


T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

*Vrijednosti označene istim slovom se signifikantno ne razlikuju na temelju Tukeyjevog testa

Grafikon 10. Učinkovitost etanolnih ekstrakata na malog brašnara 100 sati nakon tretiranja

Kod tretmana kaduljom (T1) sat vremena nakon tretiranja utvrđena je učinkovitost od 2,5 %, a do porasta na 5 % dolazi 4 sata nakon tretiranja. Nakon 5 sati učinkovitost je porasla na 7,5 % i ostaje nepromijenjena do 100 sati kada je zabilježena konačna učinkovitost od 10 %. Učinkovitost od 10 % kod tretmana đumbirom (T2) utvrđena je tek 100 sati nakon tretiranja. Kod tretmana klinčićem (T3), pelinom (T4) i rajčicom (T5) mrtve ličinke zabilježene su tek 4 sata nakon tretiranja i tada je zabilježena učinkovitost od 2,5 %. Sto sati nakon tretiranja kod tretmana klinčićem (T3) učinkovitost je porasla na 17,5 %, kod tretmana pelinom (T4) na 10 % te 5 % kod tretmana rajčicom (T5). Kod tretmana dalmatinskim buhačem dobivenim močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6) utvrđena je najviša učinkovitost od 20 % već jedan sat nakon tretiranja, nakon dva sata porasla je na 30 % i ostaje nepromijenjena do kraja pokusa. Sličan trend zabilježen je i kod tretmana ekstraktom dalmatinskog buhača dobivenog metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7) s time da je zabilježena nešto niža konačna učinkovitosti, odnosno 27,5 %. Učinkovitost od 5 % kod tretmana češnjakom (T9) utvrđena je pet sati nakon tretiranja, da bi u konačnici iznosila 10 %. Nakon 32 sata utvrđena je 5 %-tna učinkovitost kod tretmana bijelim borom (T1), a nakon 100 sati iznosila je 10 % (Grafikon 11).



T1- kadulja; T2- đumbir; T3- klinčić; T4- pelin; T5- rajčica; T6- dalmatinski buhač1; T7- dalmatinski buhač2; T8- kontrola; T9- češnjak; T10- bijeli bor

Grafikon 11. Učinkovitosti etanolnih ekstrakata nakon 1, 2, 3, 4, 5, 10, 22, 32 i 100 sata.

5. Rasprava

Veliki broj biljnih vrsta sintetizira sekundarne metabolite (aktivne tvari) insekticidnog djelovanja. U navedene sekundarne metabolite spadaju eterična ulja, alkaloidi, glikozidi, itd., a samoj biljci služe u obrani od napada različitih štetnika. Navedene vrste, odnosno njihove aktivne tvari predstavljaju alternativu u programima suzbijanja brojnih štetnika, pa tako i onih skladišnih, kao što je mali brašnar (*Tribolium confusum* L.). U današnje vrijeme primjena biljnih ekstrakata ili eteričnih ulja u zaštiti od štetnika ima sve veći značaj. Njihova primjena ima niz prednosti i nedostataka u odnosu na kemijske insekticide. Neke od prednosti su niska toksičnost za ljude i životinje, ukoliko se koriste u preporučenoj dozi, brza razgradnja pod utjecajem okolišnih uvjeta, široki spektar djelovanja i selektivnost, odnosno neškodljivost za korisne kukce. Nedostaci su brza razgradnja odnosno, kratko vrijeme zaštite, što zahtjeva ponovno tretiranje i povećava troškove, neinformiranost potrošača, kao i spoznaja da većina monoterpena u čistom obliku djeluje citotoksično na biljna i životinjska tkiva, tako da i pri njihovoj primjeni valja biti oprezan.

Iako se u današnje vrijeme provode brojna istraživanja vezana uz učinkovitost biljnih ekstrakata na razne štetnike, uključujući i malog brašnara, još uvijek postoje brojna neodgovorena pitanja, donosno nedovoljno podataka o njihovoj učinkovitosti. Stoga je ovo istraživanje provedeno sa ciljem da se utvrdi insekticidno djelovanje vodenih i etanolnih ekstrakata kadulje, pelina, dalmatinskog buhača, rajčice, češnjaka, bora, đumbira i klinčića na ličinke zadnje stadija malog brašnara (*Tribolium confusum* L.). Mnoge od ovih biljnih vrsta samoniklo rastu na našim područjima te su lako dostupne, a priprema njihovih ekstrakata na poljoprivrednim gospodarstvima je moguća.

Kod primijenjenih vodenih ekstrakata nakon 192 h zabilježena je najbolja učinkovitost od 27,5 % kod tretmana s ekstraktom đumbira (T2) i pelina (T4), dok je nakon istog vremenskog perioda kod tretmana s ekstraktom rajčice (T5) ona iznosila 22,5 %, kod tretmana s ekstraktom kadulje (T1) 15 %, kod tretmana s ekstraktom klinčića (T3) 12,5 %, a kod tretmana s ekstraktom kadulje prskano (T8) 2,5 %. Etanolni ekstrakti pokazali su veću učinkovitost i brže djelovanje, posebice ekstrakti dalmatinskog buhača (T6 i T7) koji su već nakon tri sata pokazali učinkovitost od 30 % (T6) i 27,5 % (T7).

Vodeni ekstrakt dalmatinskog buhača nije pokazao učinkovitost, a za pretpostaviti je da maceracija cvatova u vodi kroz 24 sata nije dovoljna za ekstrakciju piretrina. U znanstvenoj literaturi su nedostupna istraživanja vezana uz djelovanje ekstrakata dalmatinskog buhača na ličinke malog brašnara s kojima bi bilo moguće usporediti rezultate dobivene u ovom istraživanju. Dostupna istraživanja se uglavnom temelje na utvrđivanju učinkovitosti gotovih formulacija koje sadrže čiste ekstrahirane piretrine. Jedno od takvih istraživanja je ono autora Vayias i sur. (2006) koji su istraživali učinkovitost dijatomejske zemlje i formulacija s 1,2 % piretrina na kukuljice *T. confusum* i utvrdili da su kukuljice stare pet dana manje osjetljive od kukuljica starih jedan dan. Kharel i sur. (2014) u svom su istraživanju ispitivali učinkovitost piretrina primijenjenog u obliku aerosola te zaključuju da izravno tretiranje svih stadija malog brašnara značajno utječe na povećanje mortaliteta.

Kod ostalih tretmana s etanolnim ekstraktima utvrđene su razlike u odnosu na kontrolu, međutim one nisu bile značajne. Učinkovitost etanolnog ekstrakata kadulje iznosila je 7,5 %

nakon pet sati te 10 % nakon 100 sati. Mathur i sur (2007) su proveli slično istraživanje s ekstraktom kadulje, gdje je utvrđena veća učinkovitost (21,66 %) na malog brašnara. Učinkovitost eteričnog ulja kadulje različitih koncentracija (od 2 do 32 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$) na malog brašnara istraživali su Sener i sur. (2009). Nakon 72 sata izloženosti koncentraciji od 2 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$ eteričnog ulja utvrđen je mortalitet od 12,5 %, a pri najvišoj koncentraciji od 32 $\mu\text{L}/100\text{ ml}$ iznosio je 100 %, što je daleko više od rezultata dobivenih u ovom istraživanju. Autori su istraživali djelovanje eteričnog ulja, koje sadrži daleko veće koncentracije aktivnih sastavnica, stoga je i za očekivati veću učinkovitost.

Učinkovitost eteričnog ulja kadulje istraživali su i Khemais i sur (2017) pri čemu su utvrdili da su glavne sastavnice eteričnog ulja kadulje β -tujon (20,1 %), 1,8-cineol (15,91 %), kamfor (14,79 %) i viridiflorol (9,06 %). Pri srednjim letalnim koncentracijama od 0,13 i 0,16 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ eterično ulje je pokazalo kontaktnu toksičnost na ličinke i odrasle oblike malog brašnara nakon sedam dana ekspozicije. Rezultati su pokazali da eterično ulje inhibira aktivnost acetilkolin-esteraze, a da jačina inhibicije ovisi o primijenjenoj dozi. Najveća primijenjena koncentracija (0,5 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) uzrokovala je najintenzivniju inhibiciju acetilkolin-esteraze (59,88 \pm 4,71 %) i to nakon 72 sata ekspozicije malog brašnara eteričnom ulju.

Kod vodenog ekstrakta đumbira utvrđena je učinkovitost od 27,5 % nakon 192 h, a 100 % kod etanolnog ekstrakta. Ismal (2018) u svom radu navodi učinkovitost ekstrakta đumbira od 83,3 % nakon 20 dana na odrasle oblike *T. confusum*. Učinkovitost ekstrakta đumbira na *T. confusum* istraživali su i Ali i Mohammed (2013) pri čemu je postignuta učinkovitost od 93,33 % nakon 30 minuta, a 100 % nakon 2 sata.

Grainge i Ahmed (1988) navode da eterično ulje pelina posjeduje insekticidna svojstva. I prije nego li su ona znanstveno dokazana, pelin je stoljećima korišten u zaštiti usjeva i uskladištenih proizvoda. Zbog gorkog okusa posjeduje i antifidantno djelovanje. Prema Bano (2014), β -tujon (17,25 %), kamfor (12,42 %), α -terpineol (12,27 %), eugenol (12,20 %), terpin-4-ol (10,10 %), α -pinen (9,90 %), farnesol (5,80 %), mircen (4,54 %), α -tujon (1,62 %) i β -pinen (0,54 %) su glavne aktivne sastavnice eteričnog ulja. Mnogi autori navode izvanredan potencijal eteričnog ulja pelina u zaštiti od različitih štetnika, uključujući i one skladišne (Zahra i sur. 2010; Bano, 2014; Bachrouch i sur., 2015; Chaieb i sur., 2018). U ovom istraživanju ekstrakt pelina imao je učinkovitost od 27,5 % nakon 192 h, dok je kod etanolnog ekstrakta pelina nakon 100 sati ona iznosila svega 10 %.

Iako je u ovom istraživanju etanolni ekstrakt češnjaka pokazao nisku učinkovitost od svega 10 % nakon 100 h, brojna istraživanja su dokazala znatno veću učinkovitost. Rezultati nisu izravno usporedivi s obzirom da je kod njih korišteno eterično ulje ili pojedinačne sastavnice eteričnog ulja, ali ukazuju na insekticidni potencijal češnjaka uz odgovarajuću primjenu i pripremu. Tako je u istraživanju Gözek (2007) utvrđivana učinkovitost eteričnog ulja češnjaka i izoliranih pojedinačnih sastavnica eteričnog ulja (alil sulfid, alil disulfid) na jaja, kukuljice i odrasle oblike malog brašnara. Dokazano je da su jaja i kukuljice znatno osjetljivije i na eterično ulje i na pojedinačne sastavnice. Pri koncentraciji od 1 μL postignut je mortalitet jaja od 90 %, dok je mortalitet kukuljica od 90 % postignut pri većim koncentracijama od 6,4 to 23,3 μL .

6. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata moguće je donijeti sljedeće zaključke:

1. Kod vodenih ekstrakata najviša učinkovitost utvrđena je kod tretmana s ekstraktom đumbira (T2) i pelina (T4) i iznosila je 27,5 % nakon 192 h.
2. Kod etanolnih ekstrakata najviša učinkovitost je zabilježena kod tretmana s dalmatinskim buhačem dobivenog močenjem cvatnih glavica u etanolu (T6) i kod tretmana s ekstraktom dalmatinskog buhača dobivenog metodom ultrazvučne ekstrakcije iz cvatnih glavica (T7).
3. Kod tretmana T6 zabilježena je učinkovitost od 20 % jedan sat nakon tretiranja, a konačnu učinkovitost od 30 % postignuta je nakon dva sata.
4. Kod tretmana T7 zabilježena je učinkovitost od 17,5 % jedan sat nakon tretiranja, a konačna učinkovitost od 27,5 % postignuta je nakon tri sata.
5. Iako u ovom radu nije dokazana visoka insekticidna učinkovitost biljnih ekstrakata dokazano je da ispitane biljne vrste posjeduju određeni potencijal u suzbijanju malog brašnara.
6. Etanolni ekstrakti su pokazali višu učinkovitost zbog veće ekstrakcijske sposobnosti etanola u odnosu na vodu. U budućim istraživanjima kod pripreme ekstrakata potrebno je produžiti vrijeme izlaganja biljnog materijala ekstrakcijskom sredstvu, što bi moglo rezultirati ekstrakcijom viših koncentracija aktivnih tvari.
7. Potrebna su daljnja istraživanja u svrhu identifikacije kemijskog sastava dobivenih ekstrakata.

7. Popis literature

1. Ahmad F., Iqbal N., Zaka S. M., Qureshi M. K., Saeed Q., Khan K. A., Ghramh H. A., Ansari M. H., Jaleel W., Aasim M., Awar A. B. (2018). Comparative insecticidal activity of different plant materials from six common plant species against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Saudi Journal of Biological Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.018>
2. Ali W. K., Mohammed H. H. (2013). Toxic Effect of Some Plant Extracts on the Mortality of Flour Beetle *Tribolium confusum* (Duval) (Coleoptera: Tenebrionidae). Entomol Ornithol Herpetol. 2(115).
3. Amos T. G., Williams P., Du Guesclin P. B., Schwarz M. (1974). Compounds related to juvenile hormone: activity of selected terpenoids on *Tribolium castaneum* and *T. confusum*. Journal of Economic Entomology. 67(4): 74 – 476.
4. Awang D. V. C. (1992). Ginger. Can. Pharm. J. 125: 309 – 311.
5. Bachrouch O., Ferjani N., Haouel S., BenJemaa J. M. (2015). Major compounds and insecticidal activities of two Tunisian *Artemisia* essential oils toward two major coleopteran pests. Industrial Crops and Products. 65: 127 – 133.
6. Bano P. (2014). Extraction and Characterization of Essential Oil from *Artemisia absinthium* and *Juglans regia* and their Bioefficacy against Insect Pests of Stored Products. Division of Entomology, Faculty of Horticulture Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences & Technology of Kashmir.
7. Bloem K. A., Kelley K. C., Duffey S. S. (1989). Differential effect of tomatine and its alleviation by cholesterol on larval growth and efficiency of food utilization in *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. J. Chem. Ecol. 15: 387 – 398.
8. Boussaasa O., Halima Kamel M. B., Ammar S., Haouas D., Mighri Z., Helal A. N. (2008). Insecticidal activity of some Asteraceae plant extracts against *Tribolium confusum*. Bulletin of Insectology. 61(2): 283 – 289.
9. Bowers W. S. (1969). Juvenile hormone: activity of aromatic terpenoid ethers. Science. 164: 323 – 325.
10. Chaieb I., Hamouda A. B., Tayeb W., Zarrad K., Bouslema T., Laarif A. (2018). The Tunisian *Artemisia* Essential Oil for Reducing Contamination of Stored Cereals by *Tribolium castaneum*. Food Technology & Biotechnology. 56(2): 247 – 256.
11. Choudhari S. S., Kareppa B. M. (2013). Identification of bioactive compounds of *Zingiber officinale Roscoe* rhizomes through gas chromatography and mass spectrometry. International Journal of Pharmaceutical Research and Development (IJPRD). 5(08): 16 – 20.
12. Dent M., Dragović-Uzelac V., Penić M., Brnčić M., Bosiljkov T., Levaj B. (2013). The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts. Food Technology and Biotechnology. 51(1): 84 – 91.
13. Duke S. O. (1990). Natural Pesticides from Plants. In: J. Janick and J. E Simon (eds), Advances in new crops. Timber Press, Portland, Oregon. 511 – 517.

14. Ebadollahi A. (2013). Essential Oils Isolated from Myrtaceae Family as Natural Insecticides. *Annual Review & Research in Biology*. 3(3): 148 – 175.
15. Emekci M., Navarro S., Donahaye E., Rinder M., Azrieli A. (2002). Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. *Journal of Stored Products Research*. 38(5): 413 – 425.
16. Essig K., Zhao Z. J. (2001). Preparation and characterization of a Pyrethrum extract standard. *LC/GC*. 19(7): 722 – 730.
17. Ghada E. A., Manal E. A. Elshaier, Amal E. M., Hala E. M. (2017). Application of tomato leaves extract as pesticide *Againststaphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Internacional Journal od advanced research (IJAR)*. 5(4): 286 – 290.
18. Gözek N. (2007). Fumigant toxicity of garlic and onion essential oils and their active components against life stages of Confused flour beetle, *Tribolium confusum* du Val. Master thesis, University of Kahramanmaraş, Sütçü Imam Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Plant Protection: 46.
19. Grainge M., Ahmed S. (1988). *Handbook of Plants with Pest-Control Properties*. New York: Wiley: 35 – 36.
20. Grdiša M., Carović-Stanko K., Kolak I., Šatović Z. (2009). Morphological and Biochemical Diversity of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevir.) Sch. Bip.). *Agriculturae Conspectus Scientifi cus*. 74(2): 73 – 80.
21. Hamel D. (1993). Problem skladišnih štetnika na uskladištenim sastojcima u tvornicama stočne hrane. *Krmiva*. 35: 27 – 32.
22. Howe R. W. (1960). The effects of temperature and humidity on the rate of development and the mortality of *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera, Tenebrionidae). *Annals of Applied Biology*. 48: 363 – 376.
23. Ismal E. H. (2018). Toxicity, repellency and latent effects of some medicinal oils against *Tribolium confusum* and *T. castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(3): 1337 – 1347.
24. Isman M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19(8-10): 603 – 608.
25. Kalinović I., Korunić Z., Rozman V., Liška A. (2011). Djelotvornost dijatomejske zemlje i mješavina dijatomejske zemlje i piretrina. *Poljoprivreda*. 17(2): 13 – 17.
26. Kharel K., Arthur F. H., Zhu K. Y., Campbell J. F., Subramanyam B. (2014). Evaluation of Synergized Pyrethrin Aerosol for Control of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). 107(1): 462 – 468.
27. Khemais A., Miladi M., Boughattas I., Acheuk F., Chaira N., Halima-Kamel M. B. (2017). Chemical composition, toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Salvia officinalis* essential oils against *Tribolium confusum*. *Journal of Entomology and Zoology studies* 5(4): 1761 – 1768.
28. Kolak I., Carović K., Šatović Z., Rozić I. (2004). Gorski pelin (*Artemisia absinthium* L.). *Sjemenarstvo*. 21(5-6): 275 – 282.
29. Kolak I., Šatović Z., Rukavina H., Filipaj B. (1999). Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerarifolium* (Trevir.) Sch. Bip.). *Sjemenarstvo*. 16(5): 425 – 440.

30. Korunić Z. (1990). Štetnici uskladištenih poljoprivrednih proizvoda: Biologija, ekologija i suzbijanje. *Gospodarski List – Novinsko izdavačko poduzeće Zagreb, Trg Republike 3.*
31. Kotan R., Kordali S., Cakir A., Kesdek M., Kaya Y., Kilic H. (2008). Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. *Biochemical Systematics and Ecology.* 36(5-6): 360 – 368.
32. Kuštrak D. (2005). *Farmakognozija: fitofarmacija.* Golden Marketing - Tehnička Knjiga.
33. Lee K. J., Lee G. A., Ma K. H., Raveender S., Cho Y.H., Lee J. R., Chung J. W. (2016). Chemical Constitutions and Antioxidant Activities of Tomato Leaf Extracts. *Plant Breeding and Biotechnology.* 4: 362 – 372.
34. Lešić R., Borović J., Buturac I., Čustić M., Poljak M., Romić D. (2002). *Povrćarstvo.* Zrinski d.d., Čakovec.
35. Liška A. (2011). Insekticidna toksičnost 1,8- cineola, kamfora i eugenola na *Tribolium Castaneum* (Herbst). Doktorska disertacija, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
36. Maceljki M. (1999). Poljoprivredna entomologija. Zrinski, Čakovec. 385 – 386.
37. Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Henriques M., Silva S., Ferreira I. C. F. (2014). Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry.*
38. Mathur M., Singhvi P. M., Gehlot L., Jain M. (2007). Effect of indigenous plant extracts on the survivality of *Tribolium confusum* (Jac du Val) infesting stored rice. *Journal of Applied Zoological Researches.* 18(2): 137 – 138.
39. Matthews G. A., Hislop E. C. (1993). *Application technology for crop protection.* CAB International, Wallingford, UK: 305 – 315.
40. Mishra B. B. (2016). Impact of *Syzygium aromaticum* (L.) essential oil as fumigant against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of entomology and zoology studies.* 4(6): 811 – 816.
41. Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R., Anthony S. (2009). *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perr. *Agroforestry Database 4.0.*
42. Papachristos D. P., Stamopoulos D. C. (2004). Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research.* 40(5): 517 – 525.
43. Picollo M. I., Toloza A. C., Mougabure Cueto G., Zygadlo J., Zerba E. (2008). Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. *Fitoterapia.* 79(4): 271 – 278.
44. Rozman V. (2010). Prepoznavanje insekata u skladištima prema nastalim štetama. *Zbornik predavanja / Korunić, Javorka (ur.). Korunić d.o.o., Zagreb.* str. 63 – 88.
45. SAS Institute 2004. *SAS SAS/STAT® 9.1 User's Guide.* Cary, NC, USA.
46. Schneider-Orelli O. (1947). *Entomologisches Praktikum – Einführung in die land- und forstwirtschaftliche Insektenkunde.* Sauerländer & Co., Aarau, Germany.
47. Schreiber K. (1958). Die Alkaloide von *Solanum dulcamara* L. *Planta Medica* 6: 94 – 97.

48. Sener O., Arslan M., Demirel N., Uremis I. (2009). Insecticidal Effects of Some Essential Oils Against the Confused Flour Beetle (*Tribolium confusum* du Val) (Col.: Tenebrionidae) in Stored Wheat. *Asian Journal of Chemistry*. 21(5).
49. Shojaei A., Talebi K., Sharifian I., Ahsaei S.M. (2015). Evaluation of detoxifying enzymes of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Col.: Tenebrionidae) exposed to essential oil of *Artemisia dracunculus* L. *Biharean Biologist*. 11(1): 5 – 9.
50. Stamopoulos D. C., Damos P., Karagianidou G. (2007). Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of stored products research*. 43: 571 – 577.
51. Trinajstić I. (1992) Endemi hrvatske flore – 4. ljekovita kadulja – *Salvia officinalis* L. endemična, ljekovita, medonosna i ukrasna biljka. *Priroda* 9-10(81): 34 – 36.
52. USDA – ARS (1969). Stored product laboratory Savannah, Georgia USA.
53. Vayias B. J., Athanassiou C. G., Buchelos C.T. (2006). Evaluation of three diatomaceous earth and one natural pyrethrum formulations against pupae of *Tribolium confusum* DuVal (Coleoptera: Tenebrionidae) on wheat and flour. *Crop Protection*. 25(8): 766 – 772.
54. Wang J., Zhou X. M., Niu C. Y., Lei C. L. (2006). Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 42(3): 339 – 347.
55. Winney R. (1979). Performance of pyrethroids as domestic insecticides. *Pyrethrum Post*. 13(4): 132 – 136.
56. Zahra R. K., Fatemeh S., Alireza R. (2010). Study on the fumigant insecticide effect of essential oil of five medicinal plants on three stored product pests. *Plant protection journal*. 2; 3(7): 197 – 207.
57. Znaor D. (1996). Ekološka poljoprivreda, Poljoprivreda sutrašnjice. Nakladni zavod Globus, Zagreb.
58. Židovec V., Vršek I., Kolak I., Liber Z., Šatović Z. (2006). Mirisava kadulja, potencijalna vrsta za uređenje krajobraza. *Sjemenarstvo* 23(7): 45 – 56.

Izvori s internetskih stranica:

1. Nikolić T. ur. (2018): Flora Croatica Database. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Dostupno na: <<http://hirc.botanic.hr/fcd>> Pristupljeno: 05. 12. 2018.
2. Edible Plant Guide (2012). Dostupno na: <<https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/ginger>> Pristupljeno: 12. 12. 2018.
3. Plantea (2016). Dostupno na: <<https://www.plantea.com.hr/dumbir/>> Pristupljeno: 03. 12. 2018.

ŽIVOTOPIS

Ana Josipović rođena je 29. listopada 1993. godine u Varaždinu. Srednjoškolsko obrazovanje stekla je u Elektrostrojarskoj školi u Varaždinu, smjer poštansko-telekomunikacijski tehničar, te maturirala na temu „Emocionalna inteligencija u poslu“. Preddiplomski studij Vinogradarstvo, vinarstvo i voćarstvo na Veleučilištu u Požegi upisuje 2014. godine te završava obranom završnog rada na temu „Određivanje mikotoksina u orašastim plodovima i žitaricama“, čime stječe akademski naziv sveučilišna prvostupnica inženjerka vinogradarstva-vinarstva-voćarstva. Za vrijeme trajanja studija bila je na Erasmus+ stručnoj praksi u Valenciji na Farmacijskom fakultetu u trajanju od 2 mjeseca. Nakon toga upisuje i diplomski studij Ekološka poljoprivreda i agroturizam.