Učinkovitost piretrina, eteričnog ulja čajevca i limunskog eukaliptusa u suzbijanju ličinki Tribolium castaneum

Pejić, Petra

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:941405

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

UČINKOVITOST PIRETRINA, ETERIČNOG ULJA ČAJEVCA I LIMUNSKOG EUKALIPTUSA U SUZBIJANJU LIČINKI *Tribolium castaneum*

DIPLOMSKI RAD

Petra Pejić

Zagreb, svibanj, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Ekološka poljoprivreda i agroturizam

UČINKOVITOST PIRETRINA, ETERIČNOG ULJA ČAJEVCA I LIMUNSKOG EUKALIPTUSA U SUZBIJANJU LIČINKI *Tribolium castaneum*

DIPLOMSKI RAD

Petra Pejić

Mentor: doc. dr. sc. Martina Grdiša

Zagreb, svibanj, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Petra Pejić**, JMBAG 0178102697, rođena dana 07. 03. 1996. u Splitu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

UČINKOVITOST PIRETRINA, ETERIČNOG ULJA ČAJEVCA I LIMUNSKOG EUKALIPTUSA U SUZBIJANJU LIČINKI *Tribolium castaneum*

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica 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 s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Petra Pejić**, JMBAG 0178102697, naslova

UČINKOVITOST PIRETRINA, ETERIČNOG ULJA ČAJEVCA I LIMUNSKOG EUKALIPTUSA U SUZBIJANJU LIČINKI *Tribolium castaneum*

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

Ovime posebno zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Martini Grdiša na pomoći, strpljenju, razumijevanju i ukazanom povjerenju pri izradi ovog rada. Zahvaljujem dr. sc. Kristini Gršić i dr. sc. Darki Hamel na pomoći pri provedbi pokusa u laboratoriju Centra za zaštitu bilja, Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu. Posebnu zahvalu izražavam svojim roditeljima i Matiji koji su mi bili podrška tijekom cijelog studija i omogućili bezbrižno studiranje. Zahvaljujem im na strpljenju i iscrpnom višebrojnom čitanju ovoga rada.

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Petra Pejić**, naslova

UČINKOVITOST PIRETRINA, ETERIČNOG ULJA ČAJEVCA I LIMUNSKOG EUKALIPTUSA U SUZBIJANJU LIČINKI *Tribolium castaneum*

Kako bi se očuvao ekosustav i biološka raznolikost, zaštita bilja od bolesti i štetnika upotrebom prirodnih sredstava danas privlači veliku pozornosti. Kao poželjna alternativa kemijskim pesticidima nameću se eterična ulja i biljni ekstrakti koji predstavljaju botaničke, odnosno prirodne pesticide. Veliki broj biljnih vrsta sintetizira aktivne tvari insekticidnog djelovanja kao dio vlastitog obrambenog mehanizma od napada štetnika. U ovu se skupinu ubraja dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.), koji sintetizira prirodni insekticid piretrin, te čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.) i limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* /Hook./ K. D. Hill & L. A. S. Johnson), koji sintetiziraju eterična ulja za koje je dokazano insekticidno djelovanje. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinkovitost piretrinskog ekstrakta, eteričnog ulja čajevca i limunskog eukaliptusa u suzbijanju ličinki kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst.). Laboratorijsko je istraživanje uključivalo tretmane sa četiri različite koncentracije ekstrakta piretrina, te tri različite koncentracije eteričnog ulja čajevca i limunskog eukaliptusa. Svi tretmani su postavljeni u četiri ponavljanja, a svaki tretman primijenjen je na 10 ličinki kestenjastog brašnara. Ponašanje ličinki praćeno je kroz 24, 48, 72 i 96 sati. Mortalitet ličinki izračunat je na temelju utvrđenog broja mrtvih i živih jedinki u ponavljanjima, dok je učinkovitost tretmana izračunata na temelju mortaliteta pomoću formule Schneider-Orelli (1947). Najveća učinkovitost postignuta je s 2%-tnim piretrinskim ekstraktom (40%), dok tretman limunskim eukaliptusom nije pokazao učinkovitost.

Ključne riječi: prirodni insekticidi, piretrin, eterična ulja, kestenjasti brašnar

Summary

Of the master's thesis – student **Petra Pejić,** entitled

EFFICIENCY OF PYRETHRIN, TEA TREE AND LEMON EUCALYPTUS ESSENTIAL OILS AGAINST *Tribolium castaneum* LARVAE

Protecting plants from diseases and pests using natural resources attracts great attention nowadays to preserve an ecosystem and biodiversity. Use of essential oils and herbal extracts as botanical or natural pesticides is a preferred alternative to chemical pesticides. A large number of plants synthesize chemical substances with insecticidal activity as a part of their own defense mechanism against pests. This particular group includes Dalmatian pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.), that synthesizes natural insecticide pyrethrin, as well as tea tree (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.) and lemon eucalyptus (*Corymbia citriodora* /Hook./ K. D. Hill & L. A. S. Johnson), that synthesize essential oils. The aim of this study was to determine efficiency of the pyrethrin extract, essential oil of tea tree and lemon eucalyptus in suppressing larvae of Red Flour Beetle (*Tribolium castaneum* Herbst.). The laboratory study included treatments with pyrethrin extracts applied in four different concentrations, and tea tree essential oil and lemon eucalyptus essential oil applied in three different concentrations. Each treatment consisted of four replicates and each replicate of 10 red flour beetle larvae. The experiments were monitored 24, 48, 72 and 96 hours after the treatment. Mortality rate of larvae was established by the calculating the number of dead and live larvae in repeats, and the efficiency of each treatments was calculated by using the formula of Schneider-Orelli (1947). The highest efficiency was achieved with the treatment of 2% pyrethrin extract (40%). The treatment with lemon eucalyptus did not show any efficiency.

Keywords: natural insecticides, pyrethrin, essential oils, red flour beetle

SADRŽAJ

1. Uvod 1
1.1. Cilj istraživanja 2
2. Pregled literature 3
2.1. Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) 3
2.2. Limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* /Hook./ K.D. Hill & L. A. S. Johnson) 7
2.3. Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.) 10
2.4. Kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst.) 12
3. Materijali i metode 15
3.1. Laboratorijski pokus 15
3.1.1. Uzgoj kestenjastog brašnara 15
3.1.2. Primijenjeni tretmani 16
3.2. Očitavanje pokusa i statistička obrada podataka 18
4. Rezultati 19
5. Rasprava 22
6. Zaključak 24
7. Popis literature 25
Životopis 30

1. Uvod

U posljednjih nekoliko desetljeća poljoprivreda je u mnogočemu ostvarila zadivljujući uspjeh, ali je istovremeno uzrokovala i mnogobrojne negativne pojave. Najznačajnije su vezane uz poremećaj ravnoteže ekosustava i onečišćenje okoliša – najviše površinskih i podzemnih voda i tla te smanjenje raznolikosti i gubitka biljnih i životinjskih vrsta. Jedan od glavnih uzroka je neracionalna i intenzivna upotreba agrokemikalija, ponajviše pesticida. Iako su sintetičke organske kemikalije korištene kao učinkovita sredstva suzbijanja štetnika već dugi niz godina, njihova neracionalna upotreba negativno je utjecala na populacije prirodnih neprijatelja te dovela do pojave rezistentnost štetnika na sintetičke pesticide.Problem stvaraju i ostatci pesticida koji, osim što se ispiru iz tla u podzemne vode, uvelike utječu na kakvoću konačnog poljoprivrednog proizvoda. Negativne posljedice poljoprivredne proizvodnje dovele su i do sve strožih zakona u pogledu očuvanja okoliša. Upravo se zbog toga sve više poljoprivrednika okreće ekološkoj poljoprivredi i upotrebi bioloških sredstava za zaštitu bilja te insekticidnog i repelentnog bilja kako bi se očuvao ekosustav i biološka raznolikost (Kolak i sur., 1999; Ebadollahi, 2013; Znaor i Karoglan Todorović, 2016).

Ekološka poljoprivreda kao sustav poljoprivredne proizvodnje strogo zabranjuje upotrebu sintetičkih pesticida, a kao poželjna alternativa nameću se botanički, odnosno prirodni pesticidi. Botanički pesticidi su prirodne tvari ekstrahirane iz biljaka. Među njima, značajno mjesto zauzimaju botanički insekticidi. Praksa korištenja biljnih derivata ili prirodnih insekticida, kakve mi danas poznajemo u poljoprivredi datira dva tisućljeća unatrag iz drevne Kine, Egipta, Grčke i Indije. Upotreba prirodnih insekticida u Europi i Sjevernoj Americi spominje se u zapisima od prije više od 150 godina što prethodi otkrićima glavnih sintetskih insekticida (organoklorida, organofosfata, karbamata i piretroida) sredinom tridesetih godina prošlog stoljeća (Isman, 2006). Dev i Koul (1997) navode da su se u prošlosti različite biljke koristile u agronomske svrhe za zaštitu bilja. Na primjer, listovi indijskog neema (*Azadirachta indica* A. Juss.) korišteni su za suzbijanje kukaca u žitaricama i odjeći, prah osušenog sjemena ljuskaste anone (*Annona squamosa* Linn.) korišten je kao insekticid u Indiji i mnogim tropskim zemljama, cvjetovi buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) korišteni su kao insekticid u Iranu i bivšoj Jugoslaviji. Insekticidna svojstva duhana (*Nicotiana tabacum* L.) bila su poznata već američkim Indijancima, a europski poljoprivrednici su ekstrakt duhana u obliku spreja počeli primjenjivati za zaštitu bilja u 17. stoljeću. Biljke iz rodova *Derris sp*. i *Lonchocarpus sp*. su korištene kao otrov za ribe, a poslije i kao insekticidi u južnoj Aziji i Južnoj Americi. Također, tu je još puno drugih biljnih vrsta za koje se smatralo da sadrže insekticidna svojstva i koje su korištene u isto ili različito vrijeme od različitih ljudi u različitim dijelovima svijeta. Ono što je jasno iz nedavne povijesti je da su se prirodni insekticidi značajnije koristili dok ih sintetski insekticidi nisu degradirali od važne uloge u zaštiti poljoprivrednih proizvoda. Jedini prirodni insekticid korišten u SAD-u u periodu od 1945. do 1970. godine bio je piretrin izoliran iz buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) Prirodni insekticidi s dugom poviješću tradicionalnog korištenja osim piretrina i neema, uključuju rotenon i sabadilu (Isman, 2006; Liška, 2011; Grdiša i Gršić, 2013).

Eterična ulja su prirodni složeni sekundarni metaboliti karakterističnog i jakog mirisa, s insekticidnim i repelentnim svojstvima i njihova upotreba u zaštiti bilja je stara kao i

poljoprivredna praksa. Isman (2006) navodi da u posljednjih 25 godina mnogobrojna znanstvena literatura opisuje stotine izoliranih metabolita koji pokazuju repelentno ili insekticidno djelovanje na kukce, međutim, prirodni insekticidi na bazi eteričnih ulja su predmet tek nedavnih istraživanja. Eterična ulja, dobivena parnom destilacijom biljnih listova, pa čak i sami listovi određenih biljaka (posebno iz porodica *Myrtaceae* i *Lamiaceae*) tradicionalno su korišteni u zaštiti uskladištenih žitarica i mahunarki, ali i kao repelenti za kukce u kućanstvu. Biološka aktivnost eteričnih ulja ovisi o kemijskom sastavu, koji varira ovisno o biljnim dijelovima koji se koriste za ekstrakciju, metodi ekstrakcije, fenološkoj fazi, starosti biljke, kvaliteti tla i okolišnim uvjetima.

Postrojenja za mljevenje brašna obično se sastoje od različitih dijelova kao što su stanice za primanje i skladištenje žitarica, predčistača ili čistača, sustava za mljevenje i obradu, ambalažiranje i skladištenje. Stalna dostupnost cjelovite žitarice i mljevenog proizvoda pruža izvrsne uvjete za hranjenje i ovipoziciju mnogim skladišnim štetnicima. Jedan od važnijih štetnika uskladištenih proizvoda je kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst.) To je vrsta koja može uspješno iskoristiti već načinjena oštećenja koja su nastala tijekom različitih operacija u postrojenju kao što su gnječenje, mljevenje, prosijavanje i transport prerađenih prehrambenih proizvoda. Štetnik uzrokuju velike ekonomske štete hranjenjem tako što oštećuje sirovinu i prenosi zarazu. Sve to rezultira vraćanjem i odbijanjem robe, gubitkom dobre volje kupca i neuspjehom u ispunjenju regulatornih zahtjeva za uskladištenu hranu. Gubitci nakon žetve uništeni štetnicima su značajan prehrambeni i gospodarski problem poljoprivrednika u razvijenim zemljama. Osim na brašnu, kestenjasti brašnar čini štete na svim uskladištenim proizvodima, sušenom voću, začinima i čokoladi (Theou i sur., 2013; Hamzavi i Moharramipour, 2017; Said-Al Ahl i sur., 2017). Dokazano je da insekticidi na bazi eteričnih ulja djeluju na mnogobrojne skladišne štetnike, bilo kao repelenti, antifidanti, inhibitori rasta, inhibitori ovipozicije ili uzrokuju sterilnost (Said-Al Ahl i sur., 2017).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je utvrditi učinkovitost piretrinskog ekstrakta, eteričnog ulja čajevca i limunskog eukaliptusa u suzbijanju ličinki kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst).

2. Pregled literature

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

Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) je višegodišnja zeljasta biljka koja raste u obliku polugrma. Za istu biljku koriste se sinonimi *Chrysanthemum cinerariifolium* (/Trevir./Vis.) i *Pyrethrum cinerariifolium* (Trevir.), a u narodu je još poznata kao: buhac, buhar, bùhara, buharika, buhôc, buhôč, bujar, buvač, buvijak, divji pelin, gluhôč, koren studeni, matrikolda, matrikovo zelje, osjenać (vratič buhač) (Šugar, 2008). Pripada jednoj od najvećih porodica kritosjemenjača – porodici glavočika (*Asteraceae*) koja broji oko 1300 rodova te 25 000 vrsta (Bremer, 1994). Jedan od rodova je rod *Tanacetum* L. kojemu pripada Dalmatinski buhač. Njegovo se prirodno stanište proteže od Italije do sjeverne Albanije, pa sve do planinskih područja Hrvatske, Bosne i Hercegovine te Crne Gore (Grdiša i sur., 2009). Endemična je vrsta istočne obale Jadranskog mora sa staništem od obale mora do najčešće 200 metara nadmorske visine, a prisutan je i u višim planinskim mediteranskim područjima iznad 500 metara nadmorske visine. U Hrvatskoj se u najvećem broju može naći na kvarnerskim otocima (Krk, Cres, Lošinj), Velebitu i Biokovu te duž dalmatinske obale i dalmatinskih otoka (Brač, Hvar, Biševo, Vis, Korčula, Lastovo i Mljet) (Grdiša i sur., 2014) (Slika 1). U prirodi je dio vegetacije kamenjarskih pašnjaka, kamenitih, skeletnih, jako degradiranih staništa, a može se naći i u svijetlim šumama alepskog bora, u vegetaciji bušika, maslinicima i vinogradima (Kovačić i sur., 2008). Ne podnosi zasjenjenosti, zbijena, suviše vlažna tla izložena vjetru i zahtjeva puno sunčeve svjetlosti. Prema FAOSTAT (2019) podacima, u 2017. godini Tanzanija je najveći proizvođač dalmatinskog buhača (6 472 t), slijedi Ruanda (5 082 t) te Papua Nova Gvineja (1209 t), a uzgaja se još i u Italiji, Keniji, Maroku, Tunisu i Ekvadoru.

Slika 1.Geografska rasprostranjenost dalmatinskog buhača
(Izvor: Flora Croatica Database, 2016)

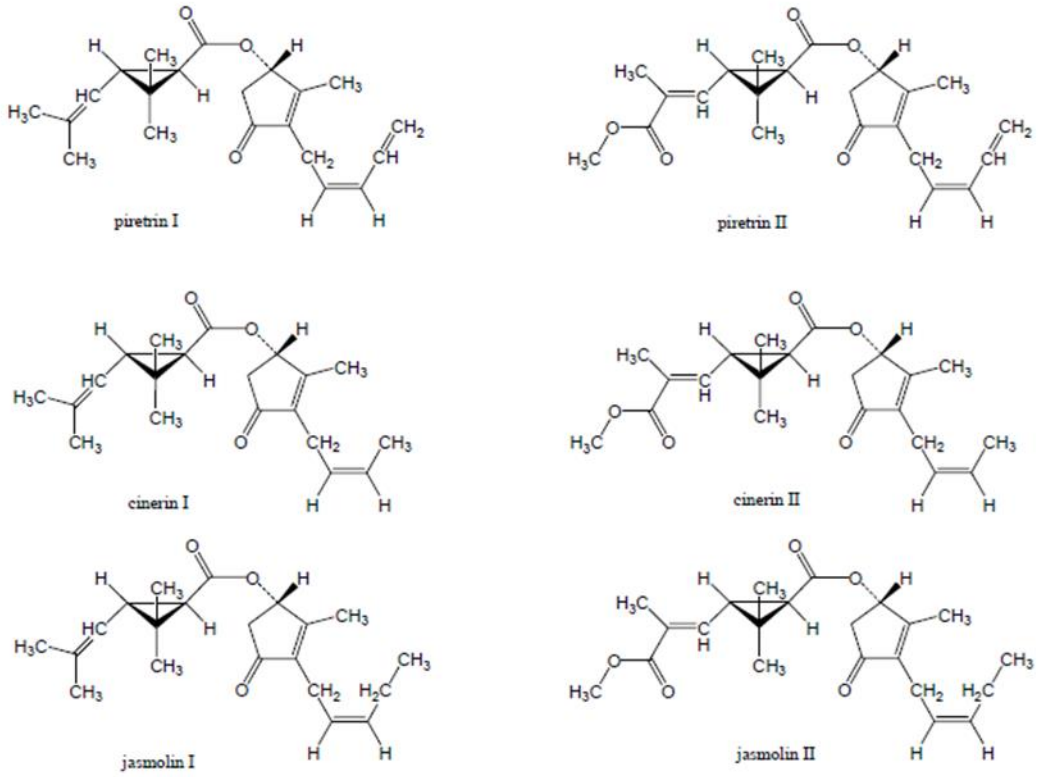
Biljka dalmatinskog buhača naraste 30 do 100 cm visine i do 50 cm širine. Razvija razgranat i dubok korijenov sustav koji ovisno od staništu prodire i do tri metra dubine. Stabljike

su brazdaste prekrivene sivozelenim dlačicama, a listovi duguljasti, perasto sastavljeni i dvostruko urezani, smješteni na prvoj trećini stabljike, tako da formiraju polugrm (Slika 2). Iz pazuha ovih listova razvijaju se cvjetne stabljike nejednake dužine (do 25 cm). Na svakoj stabljici je po jedan glavičasti cvat. Cvatovi dalmatinskog buhača promjera su 3 do 5 cm i sastoje se od dvaju tipova cvjetova – žutih cjevastih i bijelih jezičastih. Cvjetovi su smješteni na cvjetnim stabljikama na način da su bijeli jezičasti na rubovima ili krajevima, a žuti cjevasti u unutrašnjosti cvijeta. Jedna biljka buhača starosti jednu do dvije godine može formirati 200 do 400 cvjetova na glavnoj i sekundarnim stabljikama, dok biljke starosti tri do šest godina formiraju 800 do 900 cvjetova. U našim uvjetima cvatnja započinje početkom svibnja i traje sve do kraja lipnja (Kolak i sur., 1999; Marisavljević, 2010; Grdiša, 2011). Plodovi su jednosjemene, svijetlosmeđe roške, cilindrične ili klinaste s 5 do 7 brazda (Bojnanský and Fargašová, 2007).

Slika 2. Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)
(Izvor: Flora Croatica Database, 2018)

Dalmatinski buhač je jedina vrsta roda *Tanacetum* koja ima značajnu agronomsku vrijednost, iako se rod sastoji od nekoliko biljnih vrsta koje proizvode bioaktivne sekundarne metabolite (Abad i sur., 1995). Biljke dalmatinskog buhača proizvode insekticid piretrin, koji je trenutno najvažniji biljni insekticid prirodnog podrijetla (Hedayat i sur., 2009). U prošlosti, osušeni i smrvljeni cvjetovi buhača, tradicionalno su se koristili u kućanstvima kao sredstvo protiv buha i ušiju te su spaljivani služili kao repelent za leteće insekte. Dubrovački ljekarnik Antun Drobac (1810-1882) prvi je dokazao njegovu insekticidnu aktivnost (Bakarić, 2005). Oko 1854. godine proizvodnja dalmatinskog buhača proširila se duž dalmatinske obale. Bila je to vrlo profitabilna proizvodnja za lokalne proizvođače koja je utjecala na poljoprivredni razvoj dalmatinske obale. Smrvljeni cvjetovi buhača bili su u prodaji pod imenom "dalmatinski insekticidni prah" u većini europskih ljekarni. Godine 1924. njemački kemičar Herman Staudinger (1881-1965) i hrvatski znanstvenik Lavoslav Ružička (1887-1976), identificirali su kemijsku strukturu dalmatinskog buhača, piretrin I i piretrin II (Coomber, 1948).

Piretrin je smjesa šest aktivnih sastavnica (Slika 3) koje su podijeljene u dvije skupine; piretrini I (piretrin I, cinerin I, jasmolin I) i piretrini II (piretrin II, cinerin II, jasmolin II). Piretrini I su esteri krizantemske kiseline (piretrini I) dok su piretrini II esteri piretrinske kiseline. Najaktivnije i najzastupljenije sastavnice su piretrin I i piretrin II. Ekstrat buhača mora sadržavati najmanje 45,0 % do najviše 55,0 % sume piretrina I i piretrina II. Gledano kroz omjer piretrina I i piretrina II u ekstraktu on iznosi minimalno 0,8, a maksimalno 2,8. (Kolak i sur., 1999; Schleier and Peterson, 2011).



Slika 3. Strukturne formule piretrina I, cinerina I, jasmolina I, piretrina II, cinerina II i jasmolina II

Najveće količine piretrina nalaze se u cvjetnim glavicama (93,7%) u obliku uljno-smolaste tvari, gdje su izolirani i zaštićeni od svjetla. U ostalim biljnim dijelovima mogu se pronaći manje količine – 2,0% u cjevastim cvjetovima te 2,6% u jezičastim cvjetovima i u cvjetištu (Grdiša i sur., 2009). Najmanje piretrina nalazi se u listovima i to samo u tragovima. Suha stabljika ovisno o genotipu može imati 1,15 % piretrina. Suhe cvjetne glavice samoniklog hrvatskog buhača sadrže 0,7 %, a suhe cvjetne glavnice kultiviranog kenijskog buhača imaju 2,8 % piretrina. U jezičastim listićima nalazi se 0,2 – 0,4 % piretrina, a u plodnici sa sjemenom čak 2,2 – 4,5 %. Kod novokreiranih kultivara s povećanim sadržajem piretrina, u sjemenu može biti i do 4,8 % piretrina (Kolak i sur., 1999).

Ekstrakt buhača dobiva se usitnjavanjem cvjetova u prah te ekstrahiranjem heksanom, etanolom, acetonom, metanolom, itd. Uklanjanjem otapala, dobiva se tekućina žute do narančaste boje koja sadrži aktivne tvari (Isman, 2006). Određivanje količine piretrina u

ekstraktu cvjetova buhača predstavlja jedan od najkompliciranijih zadataka u proizvodnji buhača. Tijekom šezdesetih godina prošlog stoljeća najčešća metoda za određivanje piretrina bila je acidometrijska metoda koja je i danas službena metoda A.O.A.C. (*The Association of Offical Analytical Chemists*). Sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća za određivanje i korištenje spektrofotometrije i kolorimetrije usavršeno je nekoliko metoda. Spektrofotometrija i kolorimetrija korištene su za gruba i masovna određivanja piretrina u cvjetovima. Pored ovih metoda primjenjivana je i tankoslojna kromatografija. U zadnjih desetak godina u kvantitativnom i kvalitativnom određivanju piretrina koristi se tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC – *High-performance Liquid Chromatography*) (Marisavljević, 2010).

Piretrin je od posebnog interesa zbog niske toksičnosti na sisavce i dobrog učinka na širok raspon skladišnih štetnika. Osim jedinstvenog insekticidnog i repelentnog djelovanja ima mali ili gotovo neprimjetan utjecaj na okoliš. Brzo djeluje, izaziva takozvani *knock-down* učinak na veliki broj kukaca uzrokujući paralizu u roku od nekoliko minuta. Djeluje kao kontaktni otrov i ima neurotoksično djelovanje na kukce. Blokira njihove živčane funkcije zatvarajući natrijeve kanale u živčanim aksonima. Posljedica toga je prestanak funkcioniranja živčanih stanica i smrt kukaca. U niskim koncentracijama djeluje repelentno na način da odbija kukca od izvora kemikalije. Piretrin I je samostalno otrovan i djeluje kroz samo nekoliko minuta, dok je piretrin II sastavnica koja izaziva *knock-down* učinak. Relativna količina svakog sastojka ovisi o genotipu, geografskom porijeklu i vremenu berbe. Kvaliteta piretrinskog ekstrakta ovisi o omjeru piretrina I i piretrina II (Isman, 2006; Grdiša i sur., 2009).

Piretrin nije toksičan za ljude jer se u ljudskom organizmu slabo apsorbira putem kože te u probavnom i dišnom traktu. U slučaju apsorpcije hidrolizira se u crijevima i tkivima te brzo izlučuje iz tijela u obliku fekalija ili urina, bez nakupljanja u organizmu (Isman, 2006; Grdiša i sur., 2009). Kukci imaju sposobnost razgradnje malih količina piretrina u svome tijelu i oporaviti se u nekoliko sati. Zato se danas preparatima na bazi piretrina i komercijalnim formulacijama, koje se upotrebljavaju na uskladištenim proizvodima, dodaju sinergisti koji sprečavaju razgradnju i omogućuju primjenu manjih količina piretrina. Jedan od najčešće korištenih je piperonil butoksid jer poboljšava i produžuje biološku i insekticidnu aktivnosti piretrina (Kharel i sur., 2014). Piperonil butoksid je prirodna tvar koja se ekstrahira iz brazilskog drveta i koristi kao standardni piretrinski sinergist. Tehnološka klasa buhača koja se koristi u formulacijama komercijalnih insekticida obično sadrži od 20% do 25% piretrina (Isman, 2006). Čuvanje preparata na bazi piretrina u otvorenom okruženju je otežano s obzirom da su piretrini nestabilni na svjetlu i višim temperaturama te svih šest estera lako oksidira. Toplina uzrokuje transformaciju piretrina u manje aktivne izopiretrine (Marisavljević, 2010). Istraživanja prirodnog piretrina izazvala su otkriće i razvoj sintetičkih piretroida – skupine kemijskih spojeva vrlo slične kemijske strukture piretrinima, ali za razliku od piretrina stabilniji su na svjetlu i daleko više toksični za ljude i toplokrvne životinje Također, dobro djeluju na veliki broj vrsta kukaca, predmet su mnogih istraživanja i njihova proizvodnja je jeftinija. Piretroidi ipak nisu u potpunosti uspjeli zamijeniti prirodne piretrine u djelovanju na određene kukce i nemaju tako visok stupanj sinergizma kao prirodni piretrini (Grdiša i sur., 2009; Marisavljević, 2010). Iako su u konvencionalnoj poljoprivredi u širokoj primjeni za tretiranje kukaca iz redova Lepidoptera, Diptera, Hemiptera, Coleoptera i porodice Aphididae, sintetski piretroidi su zabranjeni u ekološkoj proizvodnji (Juran i sur., 2012). Prema pravilniku o

ekološkoj proizvodnji u uzgoju bilja i u proizvodnji biljnih proizvoda (Narodne novine, 2017) jedini piretroidi koje je dopušteno rabiti, samo u zamkama sa specifičnim mamcima protiv maslinine muhe (*Batrocera olae*) i voćne muhe (*Ceratitis capitata*), su Deltametrin i Lambda-Cyhalothrin. Njihova upotreba je dopuštena samo za prijelazno razdoblje s konvencionalne na ekološku poljoprivredu te je za to potrebno odobrenje nadzorne stanice ili nadzornog tijela.

Kharel i suradnici (2014) su testirali učinkovitost piretrina primijenjenog u obliku aerosola na sve razvojne stadije *T. castaneum* i *T. confusum*. Testirali su izravnu i neizravnu izloženost razvojnih stadija aerosolu, a zatim tretirane kukce prenosili u netretirano brašno, odnosno netretirane kukce u tretirano brašno. Nakon provedenog istraživanja kod obje vrste je zabilježen mortalitet od 88% u svim razvojnim stadijima prilikom direktnog tretiranja kukaca koji su poslije premješteni u tretirano ili netretirano brašno. Smrtnost je značajno smanjena kada su kukci tretirani zajedno s brašnom i kada su netretirani kukci preneseni u tretirano brašno (neizravno izlaganje aerosolu). Zaključeno je da su ličinke i odrasli kukci obje vrste puno otporniji u odnosu na jaja i kukuljice.

U istraživanju autora Tucker i sur. (2014) provedenom na jajima i odraslim kukcima vrste *T. castaneum* utvrđeno je da su svi tretmani koji su sadržavali piretrin izazvali *knock-down* učinak na svim odraslim kukcima 24 sata nakon tretmana. Iako, nakon nekog vremena, odrasli su se oporavili. Tretmani koji nisu sadržavali piretrin nisu pokazivali nikakve promjene. Nakon oporavka odrasli su proizveli sličan broj potomaka bez obzira na izloženost piretrinu .

2.2. Limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* /Hook./ K.D. Hill & L. A. S. Johnson)

Limunski eukaliptus latinskog naziva *Corymbia citriodora* (Hook. K. D. Hill & L. A. S. Johnson) ili *Eucalyptus citriodora* (Hook.) pripada porodici mirtovki (*Myrtaceae*). Porodica se sastoji od 133 roda i više od 3 800 vrsta grmova i visokih stabala i ima veliki potencijal u zaštiti bilja kao prirodni pesticid. Rasprostranjena je duž Australije, jugoistočne Azije i Amerike, a u manjim količinama može se pronaći i u Africi. Ovu vrstu odlikuje kombinacija različitih značajki: aromatični listovi s uljnim žlijezdama, cvjetni dijelovi od 5 ili 6 latica, mnoštvo jarkih boja, upadljivi prašnici, unutarnji floem i jame na ksilemu. Neki od značajnijih rodova ove porodice su *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Leptospermum*, *Melaleuca*, *Myrtus*, *Pimenta*, *Psidium* i *Syzygium* (Ebadollahi, 2013). Limunski eukaliptus pripada rodu *Eucalyptus* (grč. *eu* – dobro i *kalypto* – pokrivač) koji je dobio ime po karakterističnom poklopcu koji pokriva neotvorene cvjetove. Zastupljen je s oko 700 vrsta visokog, zimzelenog i veličanstvenog drveća koje se uzgaja u svijetu za ekstrakciju ulja, gume, pulpe, za korištenje u drvnoj industriji, medicini i u krajobrazne svrhe. Rod *Eucalyptusa* 'otkriven' je 1960-tih godina tijekom masovnih istraživanja biljaka korištenih u kineskoj tradicionalnoj medicini. Izvorno stanište ovog roda je Australija (gdje čini 95% populacije šumskih stabala i susjednih otoka Nove Gvineje, Jave, Timora i Filipina) (Muralidharan i Mascarenhas, 1995; Batish i sur., 2008; Maia i Moore, 2011). Limunski eukaliptus je jedan od najpoznatijih eukaliptusa i važna je komponenta tropske i suptropske šume i šumske flore sjeverne Australije. Komercijalno je vrlo važna i najčešće uzgajana autohtona vrsta tvrdog drva u australskim državama Queensland i New South Wales (Brooker, 2002; Dickinson i sur., 2012). Kao egzotična biljka, uvedena je već sredinom

devetnaestog stoljeća u Europu, Afriku i Aziju kao izvor drva za ogrjev, celuloze i drva za građu. Osim u Australiji, u velikoj mjeri se uzgaja u Brazilu, Kongu, Javi, Indiji i Kini, kako zbog drva tako i zbog eteričnog ulja. Kada se uzgaja za ulje, drveće se skraćuje kako bi se potaknulo stvaranje bočnih grana i listova (Muralidharan i Mascarenhas, 1995).

Stablo limunskog eukaliptusa je visoko i uspravno, može narasti do 35 metara visine i ima potpuno glatku koru jednolične boje (Slika 4). Zahtjeva puno vode pa se koristi za isušivanje močvarnih terena. Mladi listovi su veliki, naizmjenični i nazubljeni na vrhu, dok su stariji listovi uski, do 20 cm dugi s kratkom uvijenom peteljkom (Slika 5).

Slika 4. Stablo limunskog eukaliptusa (*Corymbia citriodora* /Hook./ K. D. Hill & L. A. S. Johnson)
(Izvor: Plants For a Future, 2012)

Limunski miris svježih listova je intenzivan dok suhi listovi ne mirišu osim ako se slome ili zgnječe. Za listove je karakterističan velik broj sekundarnih (bočnih) žilica i njihov kut prema središnjoj žili koji iznosi 85 stupnjeva. Sljedeći stupanj žilica pojavljuje se u 2-4 reda čineći vrlo jasan i gust mrežasti uzorak. Površina lista je debela i prilično gola, a brojne uljne žlijezde nalaze se u mezofilu u prostoru između žilica, i pojedinačno su prostorno izolirane (Brooker, 2002; Taybelassma, 2005). Cvjetovi su dvospolni, a oprašivanje je ovisno o kukcima ili životinjskom vektoru. Plodovi su zreli, mesnati, drvenasti tobolci (Slika 5) koji sadrže nekoliko sjemenki (Muralidharan i Mascarenhas, 1995).

Uz primjenu u drvnoj industriji, eterično ulje iz listova limunskog eukaliptusa najznačajniji je proizvod i nalazi se u širokoj upotrebi u prehrambenoj, parfemskoj i farmaceutskoj industriji. Osim toga, eterično ulje ima širok spektar biološke aktivnosti uključujući antimikrobno, fungicidno, insekticidno, repelentno, herbicidno, akaricidno i nematocidno djelovanje. Među eteričnim uljima, ulje eukaliptusa je osobito korisno jer se komercijalno može lako ekstrahirati i posjeduje širok raspon poželjnih svojstava vrijednih u suzbijanju štetnika. Pesticidna aktivnost ulja eukaliptusa dolazi od sastojaka kao što su 1,8-

cineol, citronelal, citronelol, citronelil acetat, p-cimen, eukamalol, limonen, linalool, a-pinen, g-terpinen, a-terpineol, alozocimen, i aromadendren. Glavna sastavnica je citronelal koji daje karakterističan limunski miris zbog kojeg se široko koristi u kozmetičkoj industriji. Seyoum i sur. (2003) navode da spaljivanje listova limunskog eukaliptusa pruža ekonomičnu metodu zaštite kućanstava od komaraca u Africi. U posljednje vrijeme CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*, SAD) preporučuje upotrebu ulja limunskog eukaliptusa, koji sadrži p-mentan-3,8-diolo (PMD), za indirektnu zaštitu od virusa zapadnog Nila koji uzrokuje neurološku bolest ili dovodi do smrti, a prenose je komarci. PMD ima niži tlak isparavanja pa sporije hlapi i pruža zaštitu nekoliko sati, što je velika prednost, s obzirom da veliki broj sastavnica različitih eteričnih ulja koja se koriste kao repelenti, brzo hlape te stoga imaju i kraće djelovanje. PMD je jedini repelent na biljnoj bazi koju CDC koristi u područjima endemskih bolesti, zbog dokazane učinkovitosti u suzbijanju malarije, odnosno komaraca koji prenose malariju. Korišten je na ljudskoj odjeći i koži za odbijanje kukaca kao što su komarci i muhe. Ne predstavlja rizik za ljude i životinje i ima vrlo nisku toksičnosti za okoliš. U 2000. godini Agencija za zaštitu okološa (EPA- *Environmental Protection Agency*) registrirala je ulje limunskog eukaliptusa/PMD kao prirodni insekticid/repelent te je te se komercijalno koristi kao repelent za komarce (Brooker, 2002; Taybelassma, 2005; Batish i sur., 2008; Maia i Moore, 2011).

Provedena su razna istraživanja insekticidnog djelovanja limunskog eukaliptusa na kestenjastog brašnara i druge štetne kukce. Jedno od istraživanja je ono u kojemu Nebras (2016) testira insekticidnu aktivnost metanolnog ekstrakta listova limunskog eukaliptusa na ličinkama i odraslim kukcima kestenjastog brašnara. Prema provedenom istraživanju zabilježena je smrtnost odraslih kukaca od 92%, 35 dana nakon tretiranja, dok je puno manja smrtnost zabilježena na ličinkama. Na temelju toga zaključuje da metanolni ekstrakt limunskog eukaliptusa, u kojemu je pronašao 31 aktivnu sastavnicu, ima značajan insekticidni učinak i može biti potencijalno sredstvo za zaštitu zrna od odraslih kukaca *T. castaneum* (Herbst.).

Prema istraživanju Jeyasankar i sur. (2016) provedenom na ličinkama kestenjastog brašnara tretiranih s pet eteričnih ulja (eterično ulje limunskog eukaliptusa, klinčića, kanadskog zimzelena i limunske trave) u četiri različite koncentracije (5, 10, 15 i 20 µL/mL) utvrđeno je da najveću smrtnost od 81,86% izaziva upravo eterično ulje limunskog eukaliptusa, 24 sata nakon tretiranja. Smrtnost ličinki je bila veća kako se povećavala koncentracija eteričnog ulja.

Maciel i suradnici (2009) navode da eterično ulje limunskog eukaliptusa kojeg su testirali sarži glavnu aktivnu sastavnicu β-citronelal (71.77%) koja je učinkovita na *Lutzomyia longipalpis.* Različite koncentracije uzrokovale su promjene kod različitih stadija *Lutzomyie longipalpis*. Učinkovitost od 100% pokazao je tretman eteričnim uljem limunskog eukaliptusa, kojm su tretirane ličinke, u koncentraciji od 6,5 mg/mL.

Batish i sur. (2008) su istraživali aktivne sastavnice eteričnog ulja limunskog eukaliptusa u svrhu dokazivanja njegovog potencijala kao prirodnog pesticida. Kroz istraživanje zaključuju da eterično ulje limunskog eukaliptusa posjeduje širok spektar biološki aktivnih tvari koje djeluju na gljivice, bakterije, kukce, mikroorganizme te korove i pruža jeftinu, a ekološki prihvatljivu alternativu sintetičkim pesticidima kao prirodni pesticid.

Slika 5. Listovi i plodovi limunskog eukaliptusa
(*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson)
(Izvor: Diversity Native Seeds, 2019)

2.3. Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)

Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.), u svijetu poznatiji kao *"tea-tree"* pripada porodici mirtovki (*Myrtaceae*). Australska flora je bogata biljkama i drvećem baš iz te porodice. U istoimenoj porodici rodovi *Eucalyptus* i *Melaleuca* poznati su po uljnim žlijezdama na listu koje sadrže mnoštvo vrijednih sastavnica. Čajevac je zimzeleno endemsko, suptropsko stablo ili grm koje ima prirodno stanište na području istočne Australije i ne pojavljuje se izvan nje osim u plantažnom uzgoju (Slika 6). Iako čajevac prirodno nije toliko raširen, osim u Australiji, plantaže čajevca postoje i u Sjedinjenim Američkim Državama, Zimbabveu, Novom Zelandu, Kini, Indiji i drugim zemljama (Southwell, 1999).

Slika 6. Plantaža čajevca
(Izvor: Condrigton, 2014)

Plantaže se osnivaju iz presadnica koje se prethodno uzgajaju u staklenicima. Vrijeme od prve berbe varira od jedne do tri godine ovisno o klimi. Prirodno rastuće stablo naraste od

pet do osam metara, a tijekom listopada i studenoga drveće starije od tri godine obično cvate malim, pahuljastim, bijelim do bež cvjetovima skupljenim u 3-5 cm dugačak otvoreni klas (Slika 7). Plod je suhi, drvenasti, kožasti tobolac s puno sjemenki. Izduženi igličasti listovi, u kojima se nalaze uljne žlijezde s eteričnim uljem, naizmjenično su raspoređeni duž stabljike (Carson i sur., 2006; Maleš i sur., 2016). Znanstveni naziv vrste *M. alternifolia* dobio je upravo po tim karakterističnim naizmjeničnim, uskim listovima, po kojima su ih Maiden & Betche razlikovali od ranije otkrivene srodne vrste *M. linariifolia* (Craven, 1999). Suprotno tome, naziv ″tea tree″ nastao je kada su pomorci kapetana Jamesa Cook-a bili na istraživačkom putovanju u Australiju 1770. godine i koristili listove čajevca kao zamjenu za čaj (Southwell, 1999).

Slika 7. List i klas čajevca (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)
(Izvor: Albert and Brown Supply Company, 2018)

U prošlosti su australski Aboridžini koristili listove za liječenje prehlade, gripe i kašlja tako što su se inhalirali nad parama zdrobljenog lišća u kipućoj vodi. Carson i suradnici (2006) navode da se popularnost komercijalne industrije eteričnog ulja čajevca razvila tek kada je 1920. godine Penfold, u svojim istraživanjima australskih eteričnih ulja s ekonomskim potencijalom, naveo ljekovita, antimikrobna i antibakterijska svojstva eteričnog ulja čajevca. Danas je najznačajniji proizvod ljekovito eterično ulje koje je uvršteno u sastav mnogih lijekova za kožne infekcije i kozmetike za vanjsku upotrebu kao što su šamponi, kreme za lice, gelovi za akne i sredstva za njegu kože zbog svojih protuupalnih i antikancerogenih svojstava (Southwell, 1999; Cox i sur., 2001; Hammer i sur., 2006). Eterično ulje čajevca dobiva se parnom destilacijom listova i vrhova grančica biljke. Najvažnije sastavnice ulja su monoterpeni i seskviterpeni koji čine 80 – 90% njegovog sastava. Od toga se izdvajaju najvažnije aktivne sastavnice: monoterpenski alkohol 4-terpineol, kojeg ima više od 30%, te 1,8-cineol, γ-terpinen, α-terpinen i p-cimen koje nose snažna ljekovita svojstva ulja (Cox i sur., 2001; Carson i sur., 2006; Maleš i sur., 2016).

Drvo čajevca se također koristi kao građevinski materijal u obliku ograda ili izolacije i kao drvo za ogrijev (Southwell, 1999). Osim opisanih dobrobiti za liječenje i korištenje samog drva čajevca, mnoga istraživanja su dokazala i njegovo djelovanje na štetne kukce. Jedno od takvih istraživanja je i ono u kojem su Liao i suradnici (2018) dokazali insekticidni učinak na malog brašnara (*Tribolium confusum* L.) koji je blisko povezan sa kestenjastim brašnarom

(*Tribolium castaneum* Herbst.). Proučavali su toksičnost eteričnog ulja čajevca i njegovih kemijskih spojeva na mitohondrijski respiratorni lanac tog skladišnog štetnika. Izmjene mitohondrija potvrdile su insekticidni učinak i promjene u mitohondrijskoj funkciji.

Prema Edris i sur. (2016) eterično ulje čajevca je učinkovito repelentno i insekticidno sredstvo za *Tribolium castaneum* i *Solenopsis invicta*. Rezultati su pokazali da ulje čajevca odbija imaga kukaca vrste *Tribolium castaneum* čak i pri vrlo niskim koncentracijama. Testovi toksičnosti također su dali pozitivan rezultat gdje ulje čajevca ima toksična svojstva na *Solenopsis invicta*. Vrijednost LD_{50} za *S. invicta* iznosila je 23,52 µL/mL. Navode da je glavni sastojak koji je odgovoran za odbojna i insekticidna djelovanja 1,8-cineol.

Lee i suradnici (2002) su u svom istraživanju testirali 19 eteričnih ulja ekstrahiranih iz biljaka i testirali toksičnost njihovih glavnih komponenata na skladišnom štetniku kestenjastom brašnaru. Rezultati su pokazali da LD_{50} za *T. castaneum* iznosi 36,0 µl/L zraka, dok je za smrtnost 95% skupine potrebna doza od 48,3 µl/L zraka.

Slično istraživanje su proveli i Siddique i sur. (2013). Oni su testirali toksičnost eteričnih ulja biljaka iz porodice *Myrtaceae*, između ostaloga i eteričnog ulja čajevca. Rezultati su pokazali da su odabrana eterična ulja imala repelentnu, fumigantnu i kontaktnu toksičnost na kestenjastog brašnara. Sva ulja su pokazala repelentno djelovanje 24 sata nakon tretmana. Eterično ulje čajevca je pokazalo 100%-tnu učinkovitost u koncentraciji od 0,0003 µl/mL.

2.4. Kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst.)

Kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbs.) je jedan od najznačajnijih štetnika uskladištenih proizvoda. Pripada u porodicu mračnjaka (Tenebrionidae), red tvrdokrilaca (Coleoptera). U porodici mračnjaka zabilježeno je oko 1858 vrsta od kojih su dvije najbrojnije *Tribolium castaneum* Herbst. i mali brašnar (*Tribolium confusum* L.) (Taybelassma I. M. 2005; Theou i sur. 2013). Naziv *Tribolium*, dobio je od latinske riječi za vršidbu (runjenje), *tribulo*, jer je otkriven na mjestu gdje se zrnje različitih poljoprivrednih kultura, nakon žetve, odvajalo od ostalih dijelova biljaka (Pai, 2010).

Tijelo odraslog kukca je dužine 3-4 mm sa izraženim uzdužnim prugama na pokrilju, kestenjaste, crvenkasto smeđe boje (Slika 8). Ticala su sastavljena od 11 članaka s tim da posljednja tri čine jedan sastavljeni segment sa izraženim udubljenjima. Ima usni ustroj za žvakanje, pa nije u stanju ubosti, ali odrasli oblici mogu izazvati alergijske reakcije, jer izlučuju kancerogene kemikalije – kinine, te prenijeti različite bolesti.

Slika 8. *Tribolium castaneum* (Herbst.), imago
(Autor: Pejić, 2019)

Pripada skupini kukaca s potpunom preobrazbom, sa sva četiri razvojna stadija (jaje, ličinka, kukuljica – pupa, odrasli – imago) i jedan je od najdugovječnijih štetnika – živi do tri godine. Ženka u prosjeku odlaže 450 jaja u razdoblju od 5 do 8 mjeseci. Odlaže ih direktno u hranu na kojoj prebivaju. Jaja su mala, prozirna ili bijela, prekrivena sluzavom izlučevinom koja ih pričvršćuje za jedno mjesto. Ličinka ima žućkasto tijelo sa smeđom glavom dugo do 6 mm (Slika 9). Pod optimalnim uvjetima ličinke izlazi iz jaja nakon tri dana. Presvlače se 7 do 8 puta do stadija kukuljice. Kukuljice su bijele boje i sazrijevanjem postaju tamnije (Slika 10). Razvoj od jaja do odraslog kukca traje od 20 do 28 dana. Kestenjasti brašnar spada u leteće kukce, iako nije dobar letač (Maceljski, 1999; Calvin, 2001; Taybelassma, 2005; Liška, 2011; Malik i Chaudhri, 2016).

Prema načinu šteta koje čini pri ishrani, kestenjasti brašnari pripadaju među najčešće sekundarne štetnike žitarica u Hrvatskoj. Rasprostranjeni su u cijelome svijetu, a srodne mu vrste samo u ponekim zemljama tropskog područja. Smatra se da je njihovo izvorno stanište bilo ispod kore drveta ili trulih panjeva. Najradije oštećuju klicu zrna, ali napadaju i druge proizvode kao što su lomljena i oštećena zrna, brašnene prerađevine i smjese, sjeme suncokreta. Mogu se naći u skladištima tjestenine, orašastih plodova, čokolade, začina i suhog voća (Maceljski, 1999; Rozman, 2005; Liška, 2012; Malik i Chaudhri, 2016). Uvijek se javljaju u masovnom broju i njihova prisutnost u uskladištenoj hrani izravno utječe na količinu i kvalitetu robe, jer osim što oštećuju, proizvod onečišćuju svojim ekskrementima i fragmentima tijela (Rozman, 2005; Said-Al Ahl i sur., 2017). Iako je prema načinu ishrane sekundarni štetnik, u uvjetima relativne vlažnosti više od 13 %, sposoban je vršiti primarnu zarazu, odnosno oštećivati i zdrava zrna (Liška, 2011).

Slika 9. *Tribolium castaneum* (Herbst.), ličinka
(Autor: Pejić, 2019)

Slika 10.*Tribolium castaneum* (Herbst.), kukuljica
(Autor: Pejić, 2019)

Kestenjasti brašnari pripadaju među prve kukce koji su se koristili u laboratorijima kao model u istraživanjima o ekologiji, genetici, ponašanju i evoluciji kukaca. Njihov afinitet prema uskladištenim proizvodima olakšava prikupljanje iz skladišta, silosa ili smočnica. U laboratoriju ne zahtijevaju mnogo prostora zbog svoje veličine pa se mogu pohraniti u manjim staklenkama ili bočicama. Uzgajaju se na jeftinoj podlozi – brašno i kvasac, te se neograničeno mogu držati u mračnim prostorijama. Svi ti uvjeti ih čine idealnim modelom za laboratorijska istraživanja. U posljednja tri desetljeća pokazali su se od neprocjenjive vrijednosti i kao modeli za istraživanja spolne selekcije evolucijsko-razvojne biologije (Pai, 2010).

Kako bi zaštitili proizvode od napada kestenjastog brašnara važno je kvalitetno uskladištiti sami proizvod. Prvenstveno treba ukloniti stare ostatke zrna i prašine. Pregledati novo uskladišteni proizvod i ukloniti oštećenu robu te ne miješati staru i novu robu. Omogućiti čistu i prozračnu prostoriju i posude u koje će se skladištiti. Nadalje, potrebno je pregledavati proizvod koliko je češće moguće, pogotovo tijekom ljetnih mjeseci i osigurati niže temperature i vlagu zraka kako bi proizvod ostao nepromijenjene kakvoće (Calvin, 2001).

3. Materijali i metode

3.1. Laboratorijski pokus

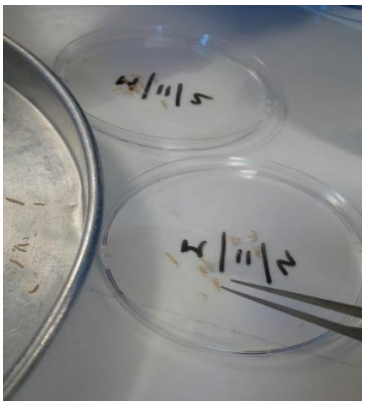
Eksperimentalni dio istraživanja s ciljem utvrđivanja učinkovitosti ekstrakta piretrina i eteričnih ulja čajevca i limunskog eukaliptusa na ličinke kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst.) proveden je u Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu, u laboratoriju Zavoda za zaštitu bilja. Eksperimentalni dio proveden je tijekom veljače i ožujka 2019. godine. Prije postavljanja pokusa uzgojene su ličinke kestenjastog brašnara koje su nakon razvoja čuvane u staklenkama s brašnom.

3.1.1. Uzgoj kestenjastog brašnara

Ličinke kestenjastog brašnara uzgojene su prema USDA – ARS (U. S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service, 1969). Brašno za uzgoj ličinki prvo je sterilizirano na 150 °C kroz period od 20 minuta. 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 kestenjastog brašnara te prekriveno pamučnom tkaninom (datum izvođenja: 18. 02. 2019.) (Slika 11). Staklenke su čuvane u klima komori pri temperaturi od 27 ± 1 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 65 ± 5 % u potpunoj i stalnoj tami. Nakon tjedan dana brašno je prosijano i vraćeno u staklenke i klima komoru. Ličinke 4. stadija razvijene su u brašnu nakon 5 tjedana (25. 03. 2019.). Prije postavljanja pokusa brašno je prosijano (Slika 12) i na petrijeve zdjelice je stavljen filter papir. Iz sita je izdvojeno po 10 ličinki na svaku petrijevu zdjelicu s filter papirom (Slika 13).

Slika 11. Staklenke prekrivene pamučnom tkaninom
(Autor: Pejić, 2019)

Slika 12. Prosijavanje brašna
(Autor: Pejić, 2019)



Slika 13. Izdvajanje ličinki na petrijevu zdjelicu
(Autor: Pejić, 2019)

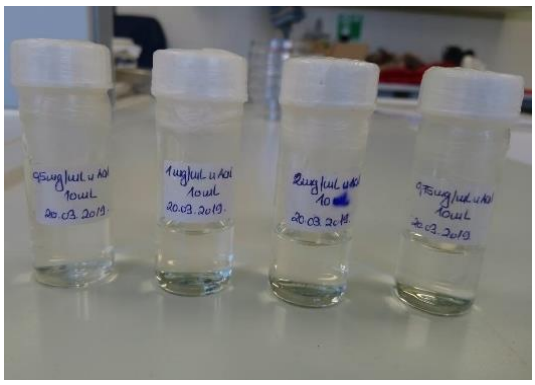
3.1.2. Primijenjeni tretmani

Kao izvor piretrina korišten je piretrinski standard Pestanal (Sigma-Aldrich®) (Slika 14), dok su eterična ulja (Slika 15), proizvođača Pranarom kupljena u trgovini Kemig d.o.o..

U ovom dijelu istraživanja postavljene su ukupno 44 petrijeve zdjelice, odnosno jedanaest tretmana (uključujući i kontrolu) u četiri ponavljanja. Svako ponavljanje uključivalo je 10 ličinki kestenjastog brašnara. Tretmani eteričnim uljem čajevca (T1-T3), ekstraktom piretrina (T4-T7), kontrola (T8) i eteričnim uljem limunskog eukaliptusa (T9-T11) prikazani su u tablici 1. Kao što je vidljivo iz tablice 1, od svakog eteričnog ulja primijenjene su tri koncentracije, dobivene otapanjem odgovarajućeg volumena eteričnog ulja u acetonu, dok je piretrin primijenjen u četiri koncentracije. U svaku petrijevu zdjelicu stavljen je filter papir i dodan je 1 mL otopine odgovarajuće koncentracije. Prije polaganja ličinki filter papir je ostavljen da se posuši (Slika 17). Zatim je u svaku petrijevu zdjelicu stavljeno 10 ličinki kestenjastog brašnara, zdjelica je poklopljena i bilježene su promjene (Slika 18). U petrijevu zdjelicu s kontrolnim uzorkom stavljen je 1 mL destilirane vode.

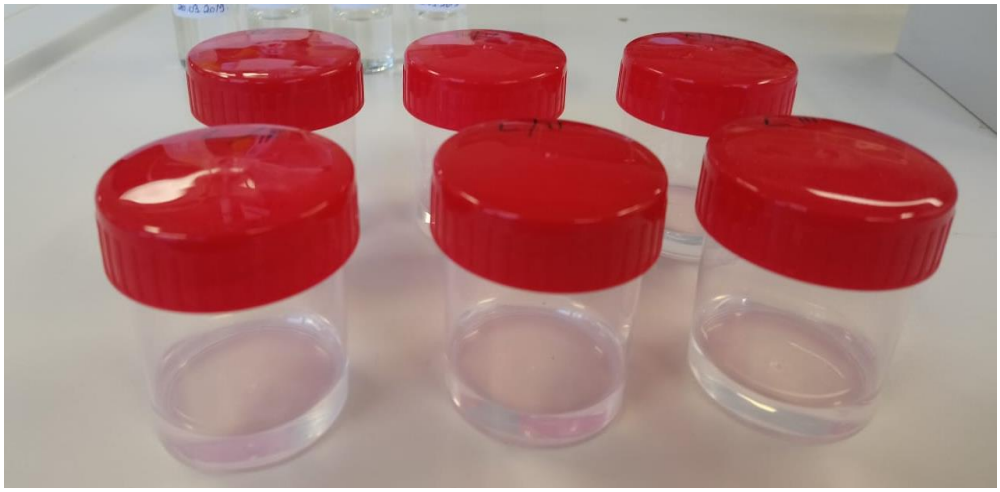
Tablica 1. Popis tretmana primijenjenih u istraživanju

Tretman	Biljna vrsta	Konc.
T1	Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)	0.5%
T2	Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)	1%
T3	Čajevac (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)	2%
T4	Piretrin (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)	0.5%
T5	Piretrin (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)	0.75%
T6	Piretrin (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)	1%
T7	Piretrin (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.)	2%
T8	Kontrola (netretirano)	
T9	Limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson)	0.5%
T10	Limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson)	1%
T11	Limunski eukaliptus (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson)	2%

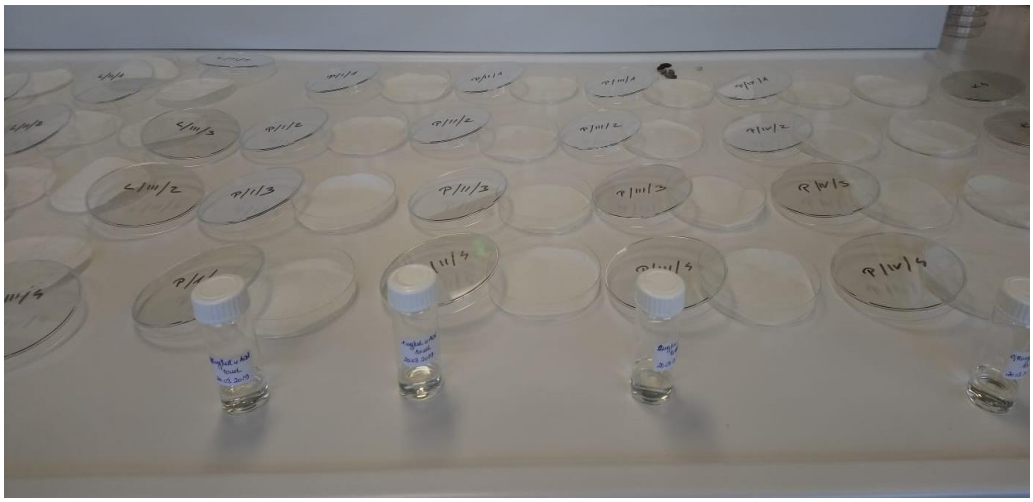


Slika 14. Različite koncentracije piretrina
(Autor: Pejić, 2019)

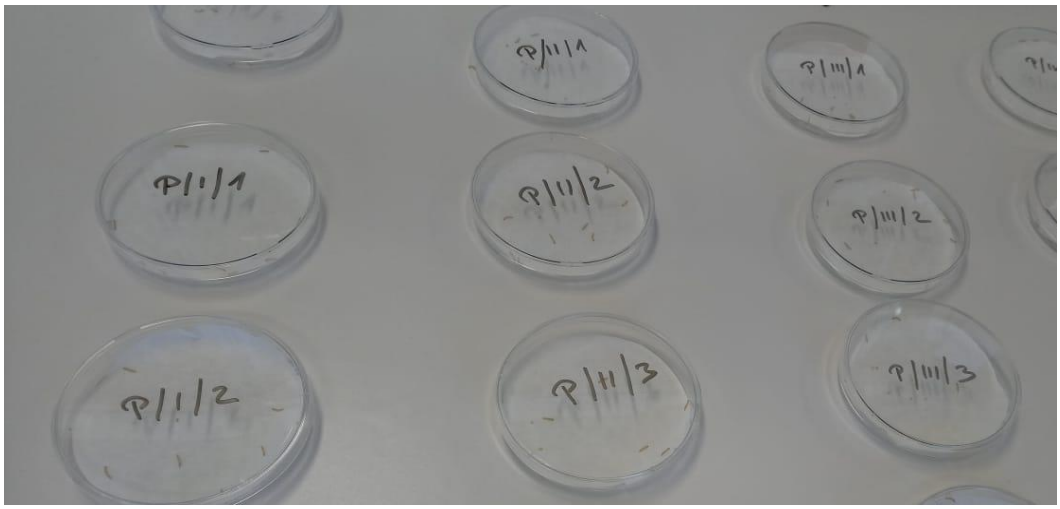
Slika 15. Eterična ulja čajevca i limunskog eukaliptusa
(Autor: Pejić, 2019)



Slika 16. Različite koncentracije eteričnih ulja
(Autor: Pejić, 2019)



Slika 17. Sušenje filter papira
(Autor: Pejić, 2019)



Slika 18. Tretirane petrijeve zdjelice s ličinkama kestenjastog brašnara
(Autor: Pejić, 2019)

3.2. Očitavanje pokusa i statistička obrada podataka

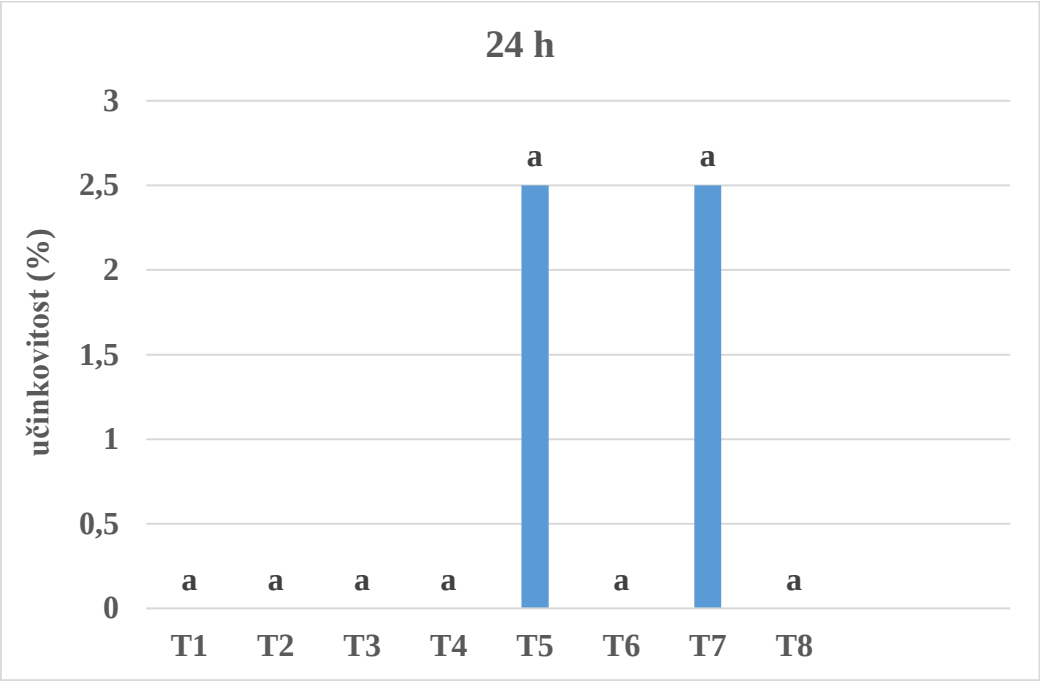
Pokusi s piretrinom i eteričnim uljima očitavani su 24, 48, 72 i 96 sati nakon tretmana, pri čemu je utvrđivan broj mrtvih jedinki u svakoj petrijevoj zdjelici. Ličinke su promatrane pod binokularnom lupom, a one mrtve su uklanjane iz petrijevih zdjelica. Mortalitet ličinki izračunat je na temelju broja 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):

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

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

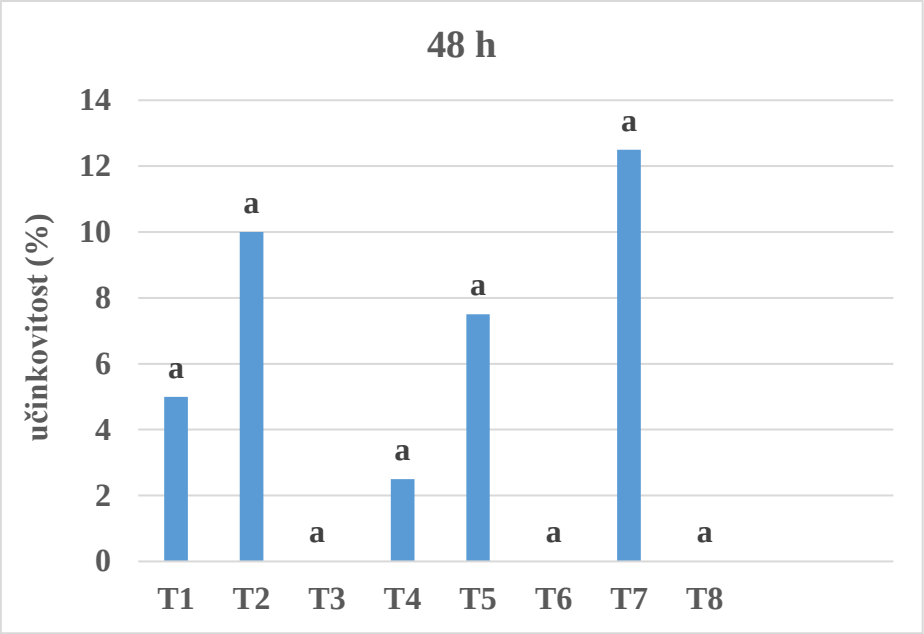
U daljnjem tekstu su prikazani rezultati učinkovitosti primijenjenih tretmana na ličinke kestenjastog brašnara u razdobljima od 24, 48, 72 i 96 sati nakon tretiranja. Tretmani limunskim eukaliptusom (T9-T11) izbačeni su iz statističke analize jer nisu ispoljavali nikakav učinak.



T1- čajevac 0,5%; T2- čajevac 1%; T3- čajevac 2%; T4- piretrin 0,5%; T5- piretrin 0,75%; T6- piretrin 1%; T7- piretrin 2%; T8- kontrola
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

Grafikon 1. Učinkovitost tretmana na kestenjastog brašnara 24 sata nakon tretiranja

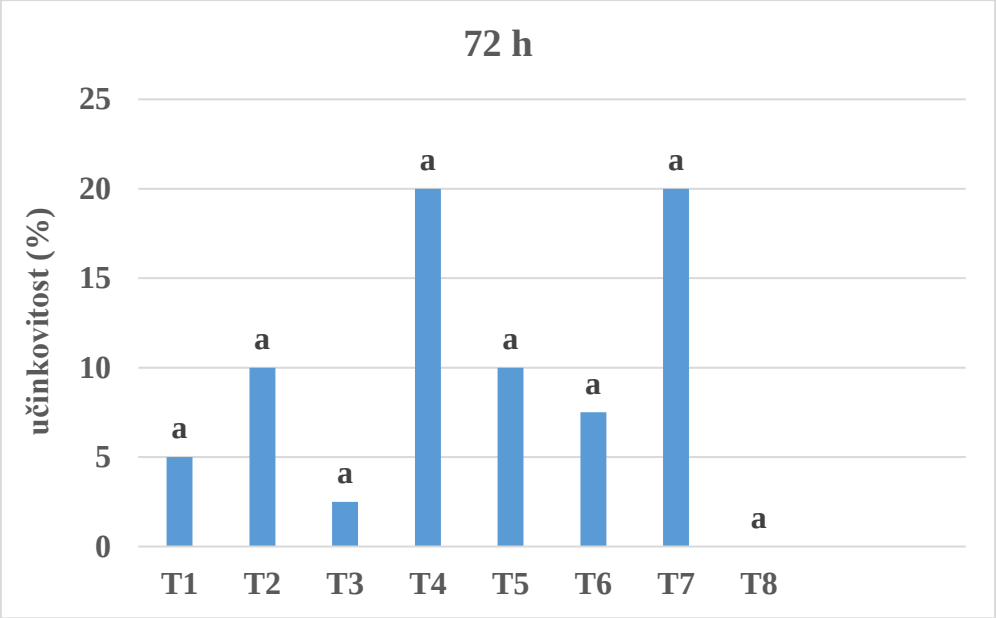
Tretmani s 0,75%-tnim piretrinom (T5) i 2%-tnim piretrinom (T7) pokazali su učinkovitost od 2,5% već 24 sata nakon tretiranja ličinki kestenjastog brašnara, međutim između ovih tretmana i kontrole nije utvrđena statistički značajna razlika (Grafikon 1).



T1- čajevac 0,5%; T2- čajevac 1%; T3- čajevac 2%; T4- piretrin 0,5%; T5- piretrin 0,75%; T6- piretrin 1%; T7- piretrin 2%; T8- kontrola
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

Grafikon 2. Učinkovitost tretmana na kestenjastog brašnara 48 sati nakon tretiranja

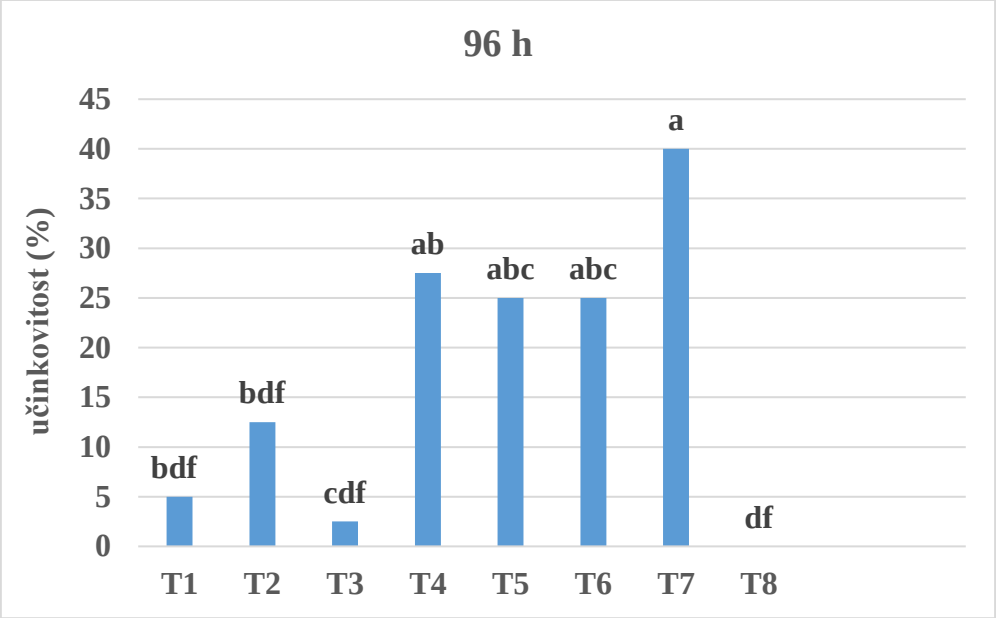
Nakon 48 h, najveću učinkovitost pokazao je tretman 2%-tnim piretrinom (T7) i ona je iznosila 12,5%. Učinkovitost od 10% postignuta je s tretmanom 1%-tnim čajevcem (T2), 7,5% s 0,75%-tnim piretrinom (T5), dok je učinkovitost od 5% postignuta s 0,5%-tnim čajevcem (T1) i 2,5% s 0,5%-tnim piretrinom (T4). Statistički značajna razlika između tretmana, kao i između tretmana i kontrole nije utvrđena (Grafikon 2).



T1- čajevac 0,5%; T2- čajevac 1%; T3- čajevac 2%; T4- piretrin 0,5%; T5- piretrin 0,75%; T6- piretrin 1%; T7- piretrin 2%; T8- kontrola
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

Grafikon 3. Učinkovitost tretmana na kestenjastog brašnara 72 sata nakon tretiranja

Nakon 72 sata, najveću učinkovitost od 20% pokazali su tretmani s 0,5%-tnim piretrinom (T4) i 2%-tnim piretrinom (T7). Tretmani 1%-tnim čajevcem (T2) i 0,75%-tnim piretrinom (T5) pokazali su učinkovitost od 10%, tretman 1%-tnim piretrinom (T6) učinkovitost od 7,5%. Kod tretmana 0,5%-tnim čajevcem (T1) utvrđena je učinkovitost od 5%, dok je 2%-tni čajevac (T3) pokazao učinkovitost od 2,5% (Grafikon 3). Statistički značajna razlika nije utvrđena između tretmana, kao ni između tretmana i kontrole.



T1- čajevac 0,5%; T2- čajevac 1%; T3- čajevac 2%; T4- piretrin 0,5%; T5- piretrin 0,75%; T6- piretrin 1%; T7- piretrin 2%; T8- kontrola
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

Grafikon 4. Učinkovitost tretmana na kestenjastog brašnara 96 sati nakon tretiranja

U grafikonu 4 vidljivo je da 96 sati nakon tretiranja, značajno najveću učinkovitost od 40% pokazao tretman s 2%-tnim piretrinom (T7). Značajno se razlikovao od kontrole (T8) i svih tretmana sa čajevcem (T1, T2, T3), ali ne i od tretmana s 0,5%-tnim piretrinom (T4), 0,75%-tnim (T5) i 1%-tnim piretrinom (T6), kod kojih je utvrđena učinkovitosti od 27,5% i 25%. Kod tretmana s eteričnim uljem čajevca (T1, T2 i T3) utvrđene su razlike u odnosu na kontrolu, međutim, one nisu bile značajne.

5. Rasprava

Kao posljedica sve većeg onečišćenja okoliša, opterećenja tla, povećane otpornosti štetnika na sintetske pesticide i povećanja svijesti, među potrošačima sve više raste interes za proizvodnjom i upotrebom prirodnih pesticida. Sekundarni metaboliti iz biljaka mogu zamijeniti sintetske pesticide i postati dio svakodnevne poljoprivredne prakse. Iako su mnoga istraživanja pokazala vrijednost prirodnih pesticida, ostalo je još puno neodgovorenih pitanja na tom području. Razvoj prirodnih pesticida može uvelike smanjiti negativne značajke sintetskih pesticida i zbog toga su potrebna daljnja istraživanja koji bi upotpunila dosadašnje spoznaje.

Kroz ovo istraživanje piretrinski ekstrakt je pokazao potencijalni insekticidni učinak na skladišnog štetnika, kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst.). Tijekom testiranja 2%-tni piretrinski ekstrakt (T7) pokazao je najveću učinkovitost od 40% nakon 96 sati. Tretman 0,5%-tnim piretrinom (T4) pokazao je učinkovitost od 27,5%, dok je kod druga dva tretmana, 0,75%-tnog piretrina (T5) i 1%-tnog piretrina (T6), utvrđena učinkovitost od 20%. Uspoređujući ove rezultate s rezultatima drugih istraživanja, u ovom su istraživanju dobiveni manje značajni rezultati. Sutton i sur. (2011) su u svom istraživanju istraživali učinkovitost piretrina s piperonil butoksidom i zaključuju da izravno tretiranje ličinki kestenjastog brašnara značajno utječe na daljnji razvoj ličinki ili uzrokuje smrt. Također, Kharel i sur. (2014) su u svom istraživanju tretirali različite stadije kestenjastog brašnara i malog brašnara piretrinom u obliku aerosola i utvrdili da direktno tretiranje značajno povećava mortalitet tretiranih kukaca. U njihovim rezultatima je zabilježen mortalitet od 88% kod obje vrste u svim razvojnim stadijima prilikom direktnog tretiranja kukaca koji su poslije premješteni u tretirano ili netretirano brašno. Tucker i sur. (2014) su u svom istraživanju zabilježili *knock-down* učinak na svim odraslim kukcima 24 sata nakon tretmana, međutim, nakon određenog vremena odrasli su se oporavili te tretman nije utjecao na njihovo daljnje razmnožavanje.

Tretmani čajevcem (T1, T2 i T3), korišteni u istraživanju, razlikovali su se od kontrole, međutim razlika nije bila značajna. Najveća učinkovitost zabilježena je kod tretmana s 1%-tnim čajevcem (T2) i ona je iznosila 12,5% 96 sati nakon tretmana. Dostupna istraživanja učinkovitosti eteričnog ulja čajevca navode puno bolje rezultate. Liao i suradnici (2018) su dokazali insekticidni učinak na malog brašnara (*Tribolium confusum* L.), koji je blisko povezan s kestenjastim brašnarom (*Tribolium castaneum* Herbst.). Proučavali su toksičnost eteričnog ulja čajevca i njegovih kemijskih spojeva na mitohondrijski respiratorni lanac skladišnog štetnika. Izmjene mitohondrija potvrdile su insekticidni učinak i promjene u mitohondrijskoj funkciji. Prema Edris i sur. (2016) eterično ulje čajevca je učinkovito repelentno i insekticidno sredstvo za *Tribolium castaneum*. Rezultati njihovog istraživanja pokazuju da eterično ulje čajevca sadrži aktivnu sastavnicu 1,8-cineol koja djeluje na testirane kukce u vrlo niskim koncentracijama. Lee i suradnici (2002) navode da LD_{50} za *T. castaneum* iznosi 36,0 µl/L zraka, dok je za 95% smrtnost potrebna doza od 48,3 µl/L zraka. Iznimno dobre rezultate su postigli Siddique i sur. (2013). Rezultati njihovog istraživanja pokazuju 100%-tnu učinkovitost eteričnog ulja čajevca 24 sata nakon tretmana. Koncentracija eteričnog ulja primjenjenog u njihovom istraživanju bila je 0,0003 µl/mL.

Iako u ovom istraživanju tretmani limunskim eukaliptusom (T9, T10 i T11) nisu ispoljili nikakav učinak, brojna istraživanja su dokazala toksičnost eteričnog ulja limunskog

eukaliptusa. Batish i sur. (2008) su u svom istraživanju istraživali toksičnost eteričnog ulja limunskog eukaliptusa i zaključili da posjeduje veliki spektar aktivnih sastavnica koje su toksične za gljivice, bakterije, kukce, mikroorganizme te korove. Nebras (2016) navodi da metanolni ekstrakt limunskog eukaliptusa djeluje s većom učinkovitošću na odrasle kukce kestenjastog brašnara, nego na ličinke. Prema provedenom istraživanju 35 dana nakon tretiranja zabilježio je 92%-tnu smrtnost odraslih kukaca. Na temelju navedenog zaključuje da metanolni ekstrakt limunskog eukaliptusa ima značajnu vrijednost u zaštiti sjemena od odraslih jedinki *T. castaneum*. Jeyasankar i sur. (2016) su proveli istraživanje na ličinkama kestenjastog brašnara tako što su ih tretirali s eteričnim uljem limunskog eukaliptusa u četiri različite koncentracije (5, 10, 15 i 20 µL/mL). Utvrđena je smrtnost od 81,86% 24 sata nakon tretiranja. Povećanjem koncentracije eteričnog ulja zabilježeno je i povećanje mortaliteta ličinki.

6. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata moguće je donijeti sljedeće zaključke:

1. Ekstrakt 2%-tnog piretrina (T7) pokazao je učinkovitost od 2,5% već nakon 24 sata. Učinkovitost je rasla postepeno te je najviša učinkovitost od 40 % utvrđena 96 sati nakon tretiranja.

2. Kod 0,75%-tnog (T5) i 1%-tnog (T6) piretrinskog ekstrakta zabilježena je učinkovitost od 25% 96 sati nakon tretiranja ličinki, dok je kod niže koncentracije ekstrakta piretrina (0,5%; T4) učinkovitost nakon 96 sati iznosila 27,5%.

3. Kod tretmana s eteričnim uljem čajevca najveća učinkovitost nakon 96 sati postignuta je kod srednje primijenjene koncentracije (T2; 1%) i iznosila je 12,5%, dok je kod najveće koncentracije od 2% (T3) postignuta najmanja učinkovitost od 2,5%. Kod tretmana s najmanjom koncentracijom eteričnog ulja čajevca (0,5%; T1), postignuta je učinkovitost od 5%.

4. Tretmani limunskim eukaliptusom (T9, T10 i T11) tijekom istraživanja nisu pokazali nikakve rezultate.

5. Iako u ovom radu nije dokazana visoka insekticidna učinkovitost piretrinskih ekstrakata i eteričnih ulja, dokazano je da istraživane biljne vrste posjeduju određeni potencijal u suzbijanju kestenjastog brašnara.

6. Potrebna su daljnja istraživanja u svrhu utvrđivanja aktivnosti pojedinih sastavnica eteričnih ulja u suzbijanju kestenjastog brašnara.

7. Daljnja istraživanja su potrebna i u svrhu utvrđivanja odgovarajućih koncentracija eteričnih ulja i piretrina u suzbijanju ličinki malog brašnara.

7. Popis literature

1. Abad M.J., Bermejo P., Villar A. (1995). An approach to the genus *Tanacetum* L. (Compositae): Phytochemical and pharmacological review. Phytotherapy Research 9: 79 – 92
2. Bakarić P. (2005). Buhač - prirodni insekticid. Gospodarski list 17: 41 – 45
3. Batish D. R., Singh H. P., Kohli R. K., Kaur S. (2008*). Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management 256: 2166 – 2174
4. Bojnanský V., Fargašová A. (2007). Atlas of Seeds and Fruits of Central and East-European Flora: The Carpathian Mountains Region. Springer, Netherlands
5. Bremer K. (1994). Asteraceae: Cladistics and Classification. Timber Press, Portland
6. Brooker I. (2002). *Eucalyptus*: the Genus *Eucalyptus* Edited by John J. W. Coppen (Natural Resources Institute, University of Greenwich, UK). Taylor and Francis, London. Part 1 (Botany of the Eucalyptus): 3 – 36
7. Calvin D. (2001). Confused flour beetle and red flour beetle. College of Agricultural Science. Cooperative Extension. Entomological notes. Department of Entomology. 3:1 – 2
8. Carson C. F., Hammer K. A., Riley T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 19(1): 50 – 62
9. Coomber H.E. (1948). The chemical evaluation of Pyrethrum flowers. Pyrethrum Post 1 (1): 16 – 19
10. Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L. (2001). Interactions between components of the essential oil of Melaleuca alternifolia. Journal of Applied Microbiology. 91: 492 – 497
11. Craven L. A. (1999). Tea Tree: The Genus *Melaleuca* Edited by Ian Southwell and Robert Lowe. Part 1 (Behind The Names: The Botany Of Tea Tree, Cajuput And Niaouli): 11 – 29
12. Dev S., Koul O. (1997). Insecticides of Natural Origin. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, London, New York 1 – 34
13. Dickinson G., Wallace H., Lee D. (2012). Reciprocal and advanced generation hybrids between *Corymbia citriodora* and *C. torelliana*: forestry breeding and the risk of gene flow. Annals of Forest Science, Springer Verlag/EDP Sciences, 70(1):1 – 10
14. Ebadollahi A. (2013). Essential Oils Isolated from Myrtaceae Family as Natural Insecticides. Annual Review & Research in Biology. 3(3): 148 – 175
15. Edris MAB, Mamat ASY, Aslam MS, Ahmad MS (2016). Insect repellent properties of *Melaleuca alternifolia*. Recent Advances in Biology and Medicine. 2:57 – 61
16. Grdiša M. (2011). Morfološka, kemijska i genetska raznolikost dalmatinskog buhača (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
17. Grdiša M., Carović-Stanko K., Kolak I., Šatović Z. (2009). Morphological and Biochemical Diversity of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). Agriculturae Conspectus Scientificus 74 (2): 73 – 80
18. Grdiša M., Gršić K. (2013). Botanical Insecticides in Plant Protection. Agriculturae Conspectus Scientificus. 78(2): 85 – 93

19. Grdiša M., Liber Z., Radosavljević I., Carović-Stanko K., Kolak I., Satovic Z. (2014) Genetic Diversity and Structure of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* Trevir. /Sch./ Bip., Asteraceae) within the Balkan Refugium. PLoS ONE 9(8): e105265. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105265
20. Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V., Nielsen J.B. (2006). A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. Food and Chemical Toxicology. 44: 616 – 625
21. Hamzavi F., Moharramipour S. (2017). Chemical composition and antifeedant activity of essential oils from Eucalyptus camaldulensis and *Callistemon viminalis* on *Tribolium confusum.* International Journal of Agriculture Technology 13(3): 413 – 424
22. Hedayat M., Abdi G., Khosh-Khui M. (2009). Regeneration via Direct Organogenesis from Leaf and Petiole Segments of Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Schultz- Bip.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 6(1): 81 – 87
23. Isman M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology. 51: 45 – 66
24. Jeyasankar A., Chennaiyan V., Chinnamani T. (2016). Evaluation of Five Essential Plant Oils as a Source of Repellent and Larvicidal Activities Against Larvae of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Entomology 13: 98 – 103
25. Juran I., Gotlin Čuljak T., Bažok R. (2012). Sintetski piretroidi. Glasilo biljne zaštite. 12(3): 196 – 210
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). Journal Of Economic Entomology. 107(1): 462 – 468
27. Kolak I., Šatović Z., Rukavina H., Filipaj B. (1999). Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerarifolium* (Trevir.) Sch. Bip.). Sjemenarstvo. 16(5): 425 – 440
28. Kovačić S., Nikolić T., Ruščić M., Milović M., Stamenković V., Mihelj D., Jasprica N., Bogdanović S., Topić J. (2008). Flora jadranske obale i otoka. 250 najčešćih vrsta. Školska knjiga, Zagreb, 206 – 207
29. Lee B-H, Lee S-E,. Annis P.C., Pratt S.J., Park B-S, Tumaalii F. (2002). Fumigant Toxicity of Essential Oils and Monoterpenes Against the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. J. Asia-Pacific Entomol. 5(2): 237 – 240
30. Liao M, Yang Q-Q, Xiao J-J, Huang Y, Zhou L-J, Hua R-M, Cao H-Q. (2018). Toxicity of Melaleuca alternifolia essential oil to the mitochondrion and NAD+/NADH dehydrogenase in *Tribolium confusum*. PeerJ 6:e5693 DOI 10.7717/peerj.5693
31. 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.
32. Maceljski M. (1999). Poljoprivredna entomologija. Zrinski, Čakovec. 385 – 386.
33. Maciel M.V., Morais S.M., Bevilaqua C.M.L., Silva R.A., Barros R.S., Sousa R.N., Sousa L.C., Brito E.S., Souza-Neto M.A. (2009). Chemical composition of *Eucalyptus*

spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. Veterinary Parasitology 167:1–7
34. Maia M. F., Moore S. J. (2011). Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. Malaria Journal, 10(Suppl 1):S11
35. Maleš Ž., Turčić P., Tušinec M., Šoić D. (2016). Biljni pripravci u samoliječenju virusnih bradavica. Farmaceutski glasnik 72(10): 671 – 686
36. Malik K., Chaudhri A.K. (2016). Electrophoretic Analysis of Tribolium castaneum After Combined Bioassay with Cinnamon (*Cinnamomum aromaticum*), Turmeric (Curcuma longa) and Onion Seed Powder (*Nigella sativa*). Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences. 5(4): 37 – 41
37. Marisavljević D. (2010). Ispitivanje osobina buhača (*Chrysanthenum cinerariaefolium* Vis.) sa prirodnih staništa Crne Gore. Zaštita bilja 61(4): 283 – 299
38. Muralidharan E. M., Mascarenhas A. F. (1995). Somatic embryogenesis in Eucalyptus. In: Jain S.M., Gupta P.K., Newton R.J. (eds) Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Forestry Sciences, vol 2: 23 – 40. Springer, Dordrecht
39. Nebras M. S. (2016). Evaluation of Insecticidal Activity of Bioactive Compounds from Eucalyptus citriodora Against *Tribolium castaneum*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 8(8): 1256 – 1270.
40. Pai A. (2010). Tribolium. Spelman College, Atlanta, GA, USA. Elsevier Ltd. 446 – 452
41. Rozman V. (2005). Prepoznavanje insekata u skladištima prema nastalim štetama. DDD radionica - štetnici hrane, uskladištenih poljoprivrednih proizvoda i predmeta opće uporabe te muzejski štetnici - zbornik predavanja / Javorka Korunić (ur.). - Zagreb : KORUNIĆ d.o.o. Zagreb. 93 – 120
42. Said-Al Ahl H. A. H., Hikal W. M., Tkachenko K. G. (2017). International Journal of Environmental Planning and Management Vol. 3(4): 23 – 33
43. SAS Institute (2004) SAS SAS/STAT® 9.1 User's Guide. Cary, NC, USA.
44. Schleier J.J., Peterson R.K.D. (2011). Pyrethrins and Pyrethroid Insecticides. Royal Society of Chemistry. RSC Green Chemistry 11(3): 94 – 131
45. Seyoum A., Killeen G.F., Kabiru E.W., Knols B.G.J., Hassanali A. (2003). Field efficacy of thermally expelled or live potted repellent plants against African malaria vectors in western Kenya. Trop. Med. Int. Health 8: 1005–1011.
46. Siddique S., Perveen Z., Chaudhry M.N. (2013). Repellency, fumigant and contact toxicities of essential oils of selected species from family Myrtaceae against *Tribolium castaneum*. Journal of Medicinal Plants Research. 7(3): 126 – 139
47. Southwell I. (1999). Tea Tree: The Genus *Melaleuca* Edited by Ian Southwell and Robert Lowe. Harwood Academic Publishers. 1 – 11
48. Sutton A.E., Arthur F.H., Zhu K.Y., Campbell J.F., Murray L.W. (2011). Residual efficacy of synergized pyrethrin + methoprene aerosol against larvae of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Stored Products Research. 47(4): 399 – 406
49. Šugar I. (2008). Hrvatski biljni imenoslov. Matica hrvatska, Zagreb
50. Taybelassma I. M. (2005). The Effects of Volatile Oils of the Leaves of Three *Eucalyptus* species on Two Pests of Stored Grains. A thesis submitted in partial

fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. in Crop Protection. Department of Crop Protection Faculty of Agriculture University of Khartoum

51. Theou G., Papachristos D.P., Stamopoulos D.C. (2013). Fumigant toxicity of six essential oils to the immature stages and adults of *Tribolium confusum.* Hellenic Plant Protection Journal 6: 29 – 39
52. Tucker A.M., Campbell J.F., Arthur F.H., Zhu KY. (2014). Efficacy of Aerosol Applications of Methoprene and Synergized Pyrethrin Against *Tribolium castaneum* Adults and Eggs. Journal Of Economic Entomology. 107(3): 1284 – 1291
53. U. S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service (1969). Rearing manual for stored-product insects used by USDA stored-product insects research and revelopment laboratory. Savannah,Georgia, USA. 26 – 27
54. Znaor D., Karoglan Todorović S. (2016). Ekološka poljoprivreda. Zagreb. 1 – 50

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: 23.02.2019.)
2. FAOSTAT (2019): Food and Agriculture Organization of the United Nations. Dostupno na: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (Pristupljeno: 23.04.2019.)
3. Narodne novine (2017): Pravilnik o ekološkoj proizvodnji u uzgoju bilja i u proizvodnji biljnih proizvoda (NN 91/2011)
   Dostupno na: <https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2001_10_91_1558.html> (Pristupljeno: 24.04.2019)

Izvori slika:

1. Slika 1. Dalmatinski buhač (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) (Izvor: Flora Croatica Database, 2018)
   Dostupno na:
   https://hirc.botanic.hr/fcd/DetaljiFrame.aspx?IdVrste=10617&taxon=Tanacetum+cinerariifolium+(Trevir.)+Sch.+Bip. (Pristupljeno: 01.03.2019.)

2. Slika 4. Stablo limunskog eukaliptusa (Eucalyptus citriodora)
   (Izvor: Plants For a Future 2012)
   Dostupno na:
   https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Eucalyptus+citriodora.(Pristupljeno: 07.03.2019.)

3. Slika 5. Listovi i plodovi limunskog eukaliptusa (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson syn. *Eucalyptus citriodora*) (Izvor: Diversity Native Seeds, 2019) Dostupno na: https://diversitynativeseeds.com.au/species/corymbia-citriodora-syn-eucalyptus-citriodora-lemon-scented-gum/ (Pristupljeno: 07.03.2019.)

4. Slika 6. List i klas čajevca (*Melaleuca alternifolia* /Maiden & Betche./ Cheel.)(Izvor: Albert and Brown Supply Company, 2018)
   Dostupno na: https://albertandbrown.com/shop/product/tea-tree-organic-melaleuca-alternifolia-australia/ (Pristupljeno: 15.03.2019.)

5. Slika 7. Plantaža čajevca (Izvor: Condrigton, 2014) Dostupno na: http://teatreetraders.com.au/processes/ (Pristupljeno: 15.03.2019.)

Životopis

Petra Pejić rođena je 7. ožujka 1996. godine u Splitu. Od 2003. godine živi u mjestu Voloder u Sisačko-moslavačkoj županiji. Srednjoškolsko obrazovanje u razdoblju od 2010. do 2014. godine završila je Srednjoj školi Tina Ujevića u Kutini, smjer prirodoslovno-matematička gimnazija. Agronomski fakultet u Zagrebu, smjer hortikultura, upisuje 2014. godine te isti završava 2017. godine kada upisuje diplomski studij Ekološka poljoprivreda i agroturizam. Engleski jezik razumije i aktivno koristi u govoru i pismu, a njemački jezik pasivno koristi. Aktivno i svakodnevno koristi MS Office paket, a pohađala je tečaj i ostvarila potvrdu za Microsoft Office Excell. Tijekom studija na Agronomskom fakultetu aktivno je sudjelovala u radu Studentskog zbora gdje je jednu godinu vršila dužnost predsjednice. Uz to sudjelovala je u radu Etičkog povjerenstva, Povjerenstva za izvannastavne aktivnosti i tijekom cjelokupnog studija djelovala kao student tutor. Tijekom studija paralelno je završila program Pedagoško psihološkog obrazovanja na Učiteljskom fakultetu u Zagrebu.