Repelentni učinak insekticida dimetoata, pirimifos-metila i deltametrina na vrstu Tribolium castaneum (Herbst) primjenom različitih metoda izlaganja

Dragojević, Jelena

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:438094

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA BIOLOGIJU

Diplomski znanstveni studij biologije

Jelena Dragojević

Repelentni učinak insekticida dimetoata, pirimifos-metila i deltametrina na vrstu *Tribolium castaneum* (Herbst) primjenom različitih metoda izlaganja

Diplomski rad

Osijek, 2014.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**
Odjel za biologiju
Diplomski znanstveni studij biologije
Znanstveno područje: prirodne znanosti
Znanstveno polje: biologija

Repelentni učinak insekticida dimetoata, pirimifos-metila i deltametrina na vrstu *Tribolium castaneum* (Herbst) primjenom različitih metoda izlaganja

Jelena Dragojević

Rad je izrađen: Zavod za kvantitativnu ekologiju, Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Mentor: izv.prof.dr.sc. Branimir K. Hackenberger
Neposredni voditelj: dr.sc. Mirna Velki

Vrsta *Tribolium castaneum* (Herbst), kestenjasti brašnar, predstavlja jednog od najčešćih uzročnika štete u skladištima žitarica i njihovih prerađevina. Infestacija prehrambenih proizvoda ovom vrstom kukca može se kontrolirati insekticidima. U ovom je radu istražen mogući repelentni učinak triju široko korištenih insekticida na odrasle jedinke kestenjastog brašnara *T. castaneum* (Herbst). Repelencija je mjerena koristeći metodu prostorne preferencije (eng. area preference method) koju je prvi opisao McDonald 1970. godine. Metoda podrazumijeva utvrđivanje repelentnog učinka koristeći filter papir podijeljen na dva dijela. S obzirom da ovakvo izlaganje kukaca na filter papiru slabo nalikuje stvarnom izlaganju u skladištima, korištena je i modificirana metoda u kojoj je korišteno brašno kao supstrat. Značajna repelentna aktivnost utvrđena je samo za deltametrin i to primjenom modificirane metode. Rezultati su pokazali da je repelentni učinak ovisan o metodi izlaganja, odnosno korštenju brašna kao supstrata.

Broj stranica: 32
Broj slika: 15
Broj tablica: 4
Broj literaturnih navoda: 36
Broj priloga: 0
Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: *Tribolium castaneum*, deltametrin, dimetoat, pirimifos-metl, repelencija

Datum obrane: 29.09.2014.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. **izv. prof. dr. sc. Branimir K. Hackenberger**, izvanredni profesor Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, mentor, član.
2. **doc. dr. sc. Sandra Ečimović**, docent Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, predsjednik.
3. **doc. dr. sc. Dubravka Čerba,** docent Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, član.

Rad je pohranjen u: Knjižnici Odjela za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek **Master Thesis**
Department of Biology
Graduate Study of Biology
Scientific area: Natural science
Scientific field: Biology

Repellent effect of insecticides dimethoate, pirimiphos-methyl and deltamethrin against *Tribolium castaneum* (Herbst) using different exposure methods

Jelena Dragojević

Thesis performed at: Subdepartment of Quantitative Ecology, Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Supervisor: Branimir K. Hackenberger, PhD, Associate Professor
Assistant in charge: Mirna Velki, PhD

Tribolium castaneum (Herbst), the red flour beetle, is one of the major pests of cereal grains and their products. Infestation of food products with *T. castaneum* can be controlled with the usage of insecticides. In the present study, repellency of three widely used insecticides on adult red flour beetles was assessed using the area preference method (McDonald 1970). The method involves determining a repellent effect using filter paper divided into two parts. Since the conditions of exposure (filter paper surface as exposure substrate) in original method are quite different compared to the exposure carried out in stored-product protection, in modified method flour was used as an exposure substrate. The repellency of investigated insecticides was recorded only in case of exposure to deltamethrin using flour as a substrate, whereas using the filter paper surface (original method) repellency was not obtained. The results showed repellency was dependent on the exposure method, i.e. substrate that was used.

Number of pages: 32
Number of figures: 15
Number of tables: 4
Number of references: 36
Original in: Croatian

Key words: *Tribolium castaneum*, deltamethrin, dimethoate, pirimiphos-methyl, repellency

Date of the thesis defence: 29.09.2014.

Reviewers:

1. **Branimir K. Hackenberger, PhD, Associate Professor,** Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek.
2. **Sandra Ečimović, PhD, Assistant Professor,** Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek.
3. **Dubravka Čerba, PhD, Assistant Professor,** Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek.

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek.

Posebno se zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Branimiru K. Hackenbergeru na korisnim savjetima te znanju i iskustvu koje mi je prenio prilikom pisanja ovog rada i tijekom cijelog studija. Hvala i dr. sc. Mirni Velki na pomoći pri ostvarenju ovoga rada.

Najviše se zahvaljujem mojoj obitelji na podršci, žrtvi i potpori koju su mi pružali tijekom cijeloga školovanja. Zahvaljujem se i svom dečku Bartolu na podršci i pomoći tijekom izrade ovog rada.

Hvala i svima drugima koji su posredno ili neposredno pomogli u ostvarivanju ovog rada.

SADRŽAJ

1.UVOD 1
1.1. INFESTACIJA ŠTETNIM KUKCIMA U SKLADIŠTIMA PŠENICE 1
1.1.1. Kontrola štetnika 3
1.1.2. Kontrola kukaca koji prolaze kroz potpunu preobrazbu 4
1.2. PESTICIDI 5
1.2.1. Organofosforni pesticidi 6
1.2.2. Piretroidni pesticidi 6
1.3. REPELENTI 7
1.3.1. Povijest korištenja repelenata 8
1.3.2. Mehanizam djelovanja repelenata 9
1.4. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 10
2. MATERIJALI I METODE 11
2.1. KEMIKALIJE 11
2.2. INSTRUMENTI I PRIBOR 11
2.3. EKSPERIMENTALNI KUKCI 12
2.3.1. Sistematika kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst) 12
2.3.2. Biologija kestenjastog brašnara 13
2.3.3. Održavanje kultura u laboratoriju 14
2.4. KARAKTERISTIKE INSEKTICIDA 15
2.4.1. Dimetoat (Chromgor 40) 15
2.4.2. Pirimifos-metil (Actellic 50 EC) 16
2.4.3. Deltametrin (Rotor 1,25 EC) 17
2.5. METODE ZA TESTIRANJE REPELENTOG DJELOVANJA 18
2.5.1. Originalna metoda 18
2.5.2. Modificirana metoda 19
2.6. ANALIZA PODATAKA 20
3. REZULTATI 21
4. RASPRAVA 26
5. ZAKLJUČCI 28
6. LITERATURA 29

1.UVOD

1.1. INFESTACIJA ŠTETNIM KUKCIMA U SKLADIŠTIMA PŠENICE

U proizvodnji žitarica može doći do infestacije kukcima koji čine štetu, tzv. štetnicima, a pod štetnošću se podrazumijeva ekonomska šteta ljudskoj poljoprivredi i industriji – smanjenje prinosa ili količine i kvalitete proizvedene hrane. Najjednostavnije rečeno, štetnik je bilo koji neželjeni organizam (Kraft i Pinto, 1985). Ovaj problem u velikoj mjeri utječe na ekonomiju diljem svijeta, s obzirom da gubitci koje uzrokuje prisutnost ovakvih kukaca mogu doseći do 475 milijuna dolara godišnje (Dominguez i Marrero, 2010). Svrha skladištenja je pravilnim postupkom sačuvati sva prirodna svojstva pšenice. Prostor u kojem se čuva kultura (podna skladišta, silosi) mora biti čist, suh, zaštićen od prodora podzemnih voda i oborina. Skladište mora imati mogućnost kvalitetnog provjetravanja, a potrebna je i dobro organizirana služba zaštite protiv skladišnih štetnika – kukaca i glodavaca, kao i protiv požara. Da bi se u potpunosti održala dobra kakvoća uskladištene pšenice, moraju biti ispunjena dva osnovna uvjeta: pšenica mora biti suha i hladna te se stoga mora prozračivati (provjetravati). Pored toga, vrlo je važno praćenje ostalih uvjeta za sigurno skladištenje: izmjena vlage i temperature zrna i okolnoga zraka, kao i moguća prisutnost štetnika. Izvori zaraze kukcima su različiti. Proizvodi koji se skladište mogu biti zaraženi u svakom trenutku, od žetve do konačne uporabe: pšenica može biti zaražena na polju, u vrijeme vršidbe, u mlinovima, nečistim vrećama, skladištima, prodavaonicama te kućnim ormarima ili smočnicama, a najčešće dolazi do zaraze u nečistim i nepripremljenim skladištima (Ćosić i sur., 2008; Kraft i Pinto, 1985).

Skladišni štetnici kontaminiraju više hrane nego što konzumiraju, a kontaminirani proizvodi smatraju se neprikladnima za potrošnju. Gotovo su svi sušeni prehrambeni proizvodi podložni infestaciji kukcima. Proizvodi koji su najpodložniji zarazi štetnim kukcima su žitarice, začini i orašasti plodovi. Manje podložni su sušeno voće, slatkiši, hrana za glodavce, suha hrana za pse, suho dekorativno cvijeće te razni materijali poput muzejskih artefakata, kozmetike i lijekova. Stari zanemareni ili teško dostupni proizvodi pružaju najveći potencijal za infestaciju i reinfestaciju. Najčešći štetni kukci u uskladištenoj pšenici su: žitni kukuljičar (*Rhizopertha dominica*), žišci (*Sitophilus spp.),* surinamski brašnar (*Oryzephilus*

surinamensis), kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum*), a od pripadnika leptira: žitni moljac (*Sitotroga cerealella*), hambarski moljac (*Nemapogon granella*) te bakrenasti moljac (*Plodia interpunctella*) (Ćosić i sur., 2008; Kraft i Pinto, 1985).

Kestenjasti brašnar *Tribolium castaneum* (Herbst) (Slika 1) je polifagna, kozmopolitska vrsta kukca iz porodice Tenebrionidae, odnosno reda Coleoptera. Koristi se kao modelni organizam za razvoj i testiranje važnih ekoloških i evolucijskih koncepata te je također jedan od glavnih štetnika na žitaricama i općenito proizvodima od žitarica na globalnoj razini. Ovaj kukac se smatra dobrim kolonizatorom skladišta žitarica, a kolonizaciju postiže antropogenim prometom žitarica, dok se aktivno širenje letom smatra manje vjerojatnim (Ridley i sur., 2011). Stvaraju velike gubitke i štetu u skladištima. Osim fizičke štete, mirisne žlijezde odraslih kukaca također izlučuju karcinogene kvinone koji mogu prouzročiti alergijske bolesti (Lu i sur., 2010). Infestacija prehrambenih proizvoda kestenjastim brašnarom može se kontrolirati upotrebom insekticida koji se smatraju brzom i efektivnom metodom kontrole različitih štetnih kukaca.



Slika 1. *Tribolium castaneum* na zrnju pšenice (Web 1).

1.1.1. Kontrola štetnika

Kontrola štetnika predstavlja smanjenje njihove populacije mijenjanjem navika, promjenom staništa te pažljivom primjenom pesticida. U kontroli štetnika koriste se mnoge varijacije i kombinacije metoda, ali njihov redoslijed uglavnom slijedi ovaj uzorak:

1) inspekcija, 2) izmjena staništa, 3) primjena pesticida te 4) praćenje.

Inspekcija

Štetnici ne infestiraju ravnomjerno već se fokusiraju na određena područja. Ovakva mjesta koja štetnici preferiraju moraju se locirati i razumjeti. Praksa i iskustvo u provođenju inspekcija vrlo su važni za uspješno otkrivanje infestiranih područja.

Izmjena staništa

Infestirana mjesta pružaju utočište (tj. mjesto koje organizmu služi kao izvor hrane i vode te kao sklonište) pa stoga izmjena ili uklanjanje nekog od ovih povoljnih elemenata čini preživljavanje manje uspješnim. Ovakve izmjene najčešće uključuju provođenje zdravstvenih mjera (sanitaciju), smanjenje vlažnosti i uklanjanje nereda.

Primjena pesticida

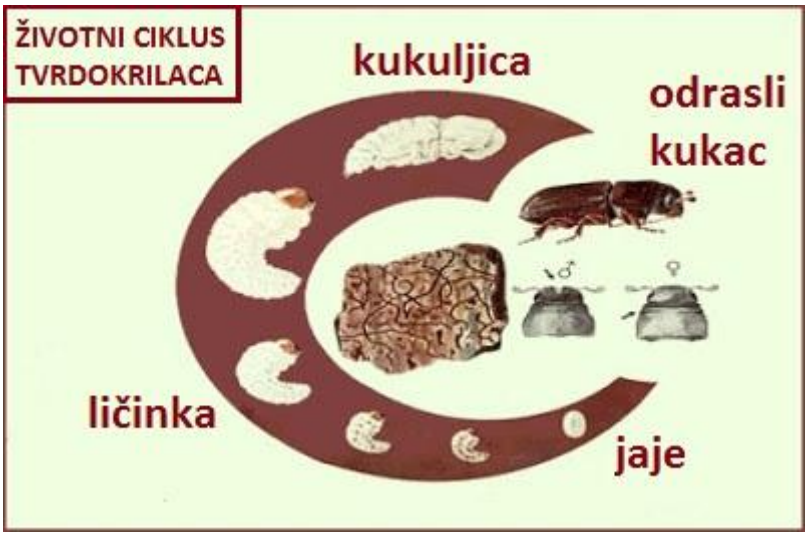
Iako uspješna izmjena staništa može smanjiti ili eliminirati populacije, to će često biti nepotpuno te će primjena pesticida biti neophodna. U kontroli štetnika ključna je uspješna kombinacija ovih metoda.

Praćenje

Neki programi za kontrolu štetnika ne uključuju više od minimalnog praćenja propisanog zakonom. Međutim, neke prakse praćenja poput detaljnog vođenja evidencije, nadzora i provođenja programa kvalitete kontrole može napraviti razliku između uspješnog i neuspješnog programa kontrole štetnika (Randall,1998).

1.1.2. Kontrola kukaca koji prolaze kroz potpunu preobrazbu

Pri provođenju kontrole štetnih kukaca vrlo je važno poznavati pojedine razvojne stadije kukaca da bi se mogle primijeniti prikladne metode. Kukci koji prolaze kroz potpunu preobrazbu izlažu se iz jaja kao ličinke čiji je glavni zadatak da se hrane i rastu. Ličinke se tijekom svog razvoja nekoliko puta presvlače te, kada sazriju, prelaze u stadij kukuljice. Svrha inaktivnog stadija kukuljice je preoblikovanje ili preuređenje tijela koje rezultira potpunom promjenom u odrasli stadij koji je tada sposoban za razmnožavanje.



Slika 2. Potpuna preobrazba tvrdokrilaca (Coleoptera) (Web 2).

Između ovih razvojnih stadija kukaca sa potpunom preobrazbom ne dolazi do kompeticije, već naprotiv, oni pružaju potporu jedni drugima. Različiti stadiji djeluju kao pripadnici sasvim različitih vrsta sa različitim potrebama i navikama. Ličinke žive i hrane se u jednom staništu te ponekad napuštaju to područje i odlaze malo dalje da bi se zakukuljile. Odrasle jedinke, kada izađu iz kukuljice, hrane se drukčijom hranom i obično žive na drugom području te se vraćaju u stanište ličinaka samo kako bi položile jaja. Iz tog se razloga prilikom provođenja mjera kontrole štetnih kukaca drukčije tretiraju kukci koji prolaze kroz potpunu preobrazbu te se mora uzeti u obzir gdje koji razvojni stadij živi i koje su mu navike (Randall, 1998).

1.2. PESTICIDI

Prema Organizaciji za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih naroda (FAO, eng. Food and Agriculture Organization of the United Nations) pesticid je svaka tvar ili mješavina tvari namijenjena prevenciji, uništavanju ili kontroli bilo kojih štetnika, uključujući vektore ljudskih ili životinjskih bolesti, neželjenih vrsta biljaka ili životinja, koje uzrokuju štetu prilikom proizvodnje hrane ili na bilo koji način ometaju proizvodnju, obradu, skladištenje, transport ili marketing hrane, poljoprivrednih proizvoda, drva ili drvnih proizvoda te stočne hrane, odnosno tvari koje se mogu primijeniti na životinjama za kontrolu kukaca, paučnjaka i ostalih štetnika na ili u njihovim tijelima. Pesticidi su otrovi sintetičkog ili biološkog porijekla koji se koriste za kontrolu populacija različitih vrsta organizama koji mogu uzrokovati štete. Osim toksičnog, primarno u smislu mortaliteta ciljnih organizama, pesticidi mogu imati razne druge učinke, uključujući repelentni učinak. Ovisno o ciljnim skupinama na koje djeluju pesticidi se mogu podijeliti na insekticide, herbicide, akaricide, rodenticide, nematocide, limacide, avicide, fungicide. Kao insekticidi najčešće se koriste klorirani ugljikovodici, organofosforni spojevi, karbamati, piretrin i piretroidi te dinitrofenoli. Nešto složenija podjela je na temelju kemijske strukture i mehanizma toksičnog djelovanja. Najvažnije skupine pesticida (obzirom na kemijsku građu i mehanizam toksičnog djelovanja) obuhvaćaju organofosfate, karbamate, piretroide i organoklorne spojeve (Hayes i Laws, 1991).

Mnogi pesticidi su toksični i za neciljne organizme, tako da njihova primjena može imati negativne učinke na ekološke sustave. Toksični učinak podrazumijeva nepovoljne promjene u strukturi ili funkciji organizma kao posljedica izloženosti kemijskoj tvari. Da bi se utvrdila toksičnost neke tvari koriste se testovi toksičnosti, odnosno eksperimenti koji određuju toksični učinak jedne ili nekoliko kemikalija na grupu odabranih organizama (ili stanica) iste vrste u određenim i strogo kontroliranim uvjetima koji omogućavaju usporedbu i ekstrapolaciju dobivenih rezultata na uvjete u prirodnom okolišu. Na taj način se može pratiti određeni mjerljiv toksični učinak kemikalije, a taj učinak može biti letalan odnosno smrtonosan ili subletalan (svi učinci toksikanta na organizam osim smrti, primjerice promjene u rastu i razvoju, razmnožavanju, ponašanju, histološke, biokemijske, fiziološke promjene) (Gallagher, 2003).

1.2.1. Organofosforni pesticidi

Organofosfati su široko korišteni pesticidi sintetičkog porijekla, a mogu biti esteri, amidi ili tioli fosfatne, fosfonske, ili fosfinske kiseline. Mogu biti apsorbirani inhalacijom, gutanjem te dermalnim kontaktom. Toksikološki učinci se temelje na inhibiciji enzima acetilkolinesteraze (AChE), ključnog enzima za hidrolizu acetilkolina, čijom inhibicijom dolazi do nakupljanja acetilkolina i prekomjerne stimulacije kolinergičkih receptora i remećenja neuroloških aktivnosti u organizmu (Stenersen, 2004). Ciljni organi su živčani sustav, respiratorni putevi i kardiovaskularni sustav. U većini slučajeva koriste se kao insekticidi – za kontrolu vektora koji se nalaze u hrani i komercijalnim žitaricama, kontrolu nametnika u kućama i zgradama i slično. Ovoj skupini pripadaju acefat, klorpirifos, diazinon, dimetoat, malation, paration, pirimifos-metil, temefos i razni drugi.

1.2.2. Piretroidni pesticidi

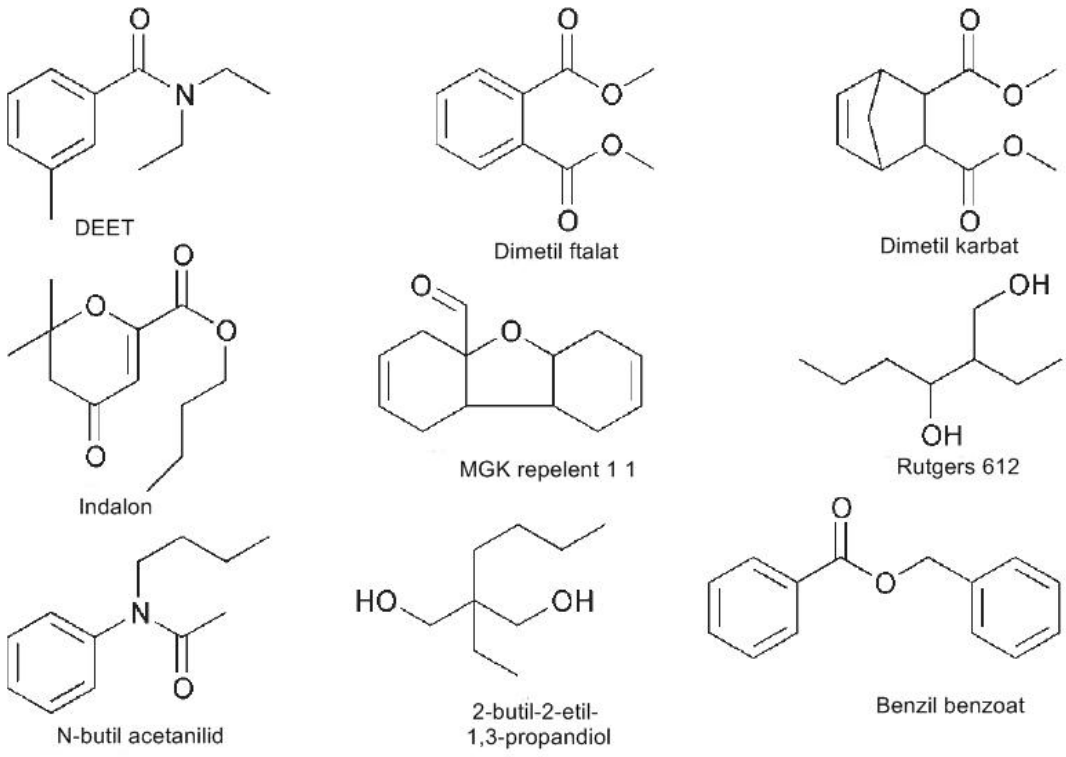
Piretroidni pesticidi su sintetički insekticidi slični prirodnim piretrinima, odnosno sintetički analozi i derivati piretrina sadržanih u piretrumu, ekstraktu cvjetova biljaka *Chrysanthemum cinerariefolium* i *Chrysanthemum cocineum*. Njihov glavni učinak je ometanje živčanog sustava kukca koje uzrokuje oslabljeno stanje često popraćeno smrću. Ovi spojevi su u širokoj upotrebi kao insekticidi u poljoprivredi, šumarstvu, komunalnoj higijeni i kućanstvu. Također se primjenjuju i u stočarstvu za kontrolu nametnika. Mehanizam djelovanja ovih spojeva temelji se na neurotoksičnom djelovanju i to pobuđivanjem natrijevih i kalijevih kanala neurona i usporavanja njihova zatvaranja tijekom faze depolarizacije (Stenersen, 2004). Pored toga, u organizmu uzrokuju oksidativni stres i pojačanu produkciju slobodnih radikala, a pokazalo se i da pojačavaju estrogenu aktivnost. U okolišu nisu perzistentni već se relativno brzo razgrađuju (od nekoliko dana do nekoliko mjeseci). U ovu skupinu se ubrajaju cipermetrin, deltametrin, permetrin, rezmetrin, tetrametrin i brojni drugi.

1.3. REPELENTI

Repelenti su kemijska sredstva koja se koriste za odbijanje i odvraćanje organizama sa površina koje želimo zaštititi (poljoprivredne površine, vrtovi, ljudska koža itd.). Oni ne djeluju štetno na ciljane organizme (ne ubijaju ih niti ih ozljeđuju na bilo koji način), nego djeluju na način da štićene površine učine odbojnima zbog nekog karakterističnog svojstva repelenta. Ako je repelent djelotvoran, onda organizam jednostavno zaobilazi površine na kojima se primjenjuje. Repelenti koji odbijaju kukce predstavljaju alternativu uporabi insekticida. Njihova primjena u skladišnim prostorijama sa ciljem eliminacije kukaca je puno rjeđa i nedovoljno iskorištena u današnje vrijeme (Peterson i Coats, 2001). Repelentni učinak neke tvari može se testirati korištenjem različitih metoda, ovisno o vrsti oganizma. Potrebno je uzeti u obzir način kretanja životinje, ishranu te ostale životne navike. Tako se na primjer kod kukaca koji lete (komarci, pčele) koriste metode drukčije od onih koje se primjenjuju kod kukaca koji ne lete i dulje se zadržavaju na nekoj površini (žohari, brašnari, razne ličinke). Kod komaraca se primjerice koriste tzv. ljudski mamci, gdje se površina ljudske kože tretira nekom potencijalno repelentnom tvari ili se na kožu nalijepe tretirane naljepnice, odnosno na podlakticu stave tretirane narukvice te se nakon određenog vremena određuje broj ugriza (Tawatsin i sur., 2001; Chattopadhyay i sur, 2013). Kod pčela se pri procjeni repelencije neke tvari koriste olfaktometri u obliku Y cijevi gdje pčele mogu birati između čistog zraka i zraka onečišćenog potencijalno repelentnom tvari (Danka i Collison, 1987), dok se kod žohara koriste tretirani mamci koje žohari odbijaju pojesti ukoliko su repelentni (Robinson i Barlow, 1999). Na sličan način se procjenjuje repelencija neke tvari kod ličinaka leptira. Dio listova biljaka kojima se ličinke hrane tretira se potencijalno repelentnom tvari te se nakon određenog vremena prebrojava broj ličinaka na tretiranim i kontrolnim listovima (Wambua i sur., 2011). Kod brašnara se najčešće primjenjuje tzv. metoda prostorne preferencije (McDonald, 1970). Metoda podrazumjeva utvrđivanje repelentnog učinka koristeći filter papir podijeljen na dva dijela. Jedna polovica je tretirana potencijalno repelentnom tvari, dok je druga ne-tretirana i služi kao kontrola. Nakon određenog vremena vrši se prebrojavanje kukaca na objema polovicama filter papira (Adarkwah i sur., 2010; Watson i Barson, 1995; Caballero-Gallardo i sur., 2011, Tapondjou i sur., 2005).

1.3.1. Povijest korištenja repelenata

Uporaba repelenata za odbijanje kukaca datira još iz antičkih vremena, kada su se koristila razna biljna ulja te dim i katran da bi se otjeralo ili ubilo neželjene kukce. Prije drugog svjetskog rata u uporabi su bila četiri osnovna repelenta: ulje citronele (korišteno za suzbijanje uši), dimetil ftalat (otkriven 1929.), Indalon (patentiran 1937.) te Rutgers 612 (u uporabi od 1939.). Kasnije su se koristili razni repelenti nastali kombinacijom posljednja tri navedena repelenta u omjeru 6:2:2. Američka je vlada do 1956. godine istražila preko 20 000 potencijalnih repelenata za odbijanje komaraca radi zaštite svog vojnog osoblja širom svijeta. Tada je otkrivena učinkovitost N,N-dietil-m-toluamida (DEET), koji je i danas najšire korišteni repelent protiv komaraca. Utvrđeno je repelentno djelovanje još nekolicine spojeva, ali niti jedan nije nadmašio komercijalni uspjeh DEET-a. Neki od njih prikazani su na Slici 3. Danas postoji tendencija da se sintetički repelenti i pesticidi sve više zamjenjuju tvarima prirodnog porijekla, kao što su esencijalna ulja nekih biljaka (Peterson i Coats, 2001).



Slika 3. Struktura nekih repelenata za odbijanje kukaca (Peterson i Coats, 2001).

1.3.2. Mehanizam djelovanja repelenata

Mnoga su istraživanja pokazala da ponašanje koje može biti shvaćeno kao repelencija može biti rezultat brojnih fizioloških ili biokemijskih reakcija. Smatra se da je repelentno djelovanje DEET-a posljedica blokiranja receptora mliječne kiseline, zbog čega kukac "gubi" domaćina (mliječna kiselina je prisutna u tjelesnom mirisu i znoju toplokrvnih životinja i privlači ženke komaraca) (Davis i Sokolove, 1976). Prema Rollo i sur. (1995) oleinska i linolenska kiselina se povezuju sa repelentnim ponašanjem žohara. Različiti kukci pokazuju različitu osjetljivost na repelente. Hlapljivost aktivnih sastojaka repelenata smatra se esencijalnim za njihovu repelentnu aktivost, iako će i tvari koje iritiraju stopala kukaca također uzrokovati izbjegavanje tretiranih površina, odnosno što kraće zadržavanje na njima. Mehanizam djelovanja većine korištenih repelenata je još uvijek nepoznat i premalo je istraživanja do sada provedeno (Peterson i Coats, 2001).

1.4. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

S obzirom da je poznato da pojedini pesticidi mogu osim toksičnog djelovanja, primarno u smislu mortaliteta ciljnih organizama, imati i repelentni učinak u ovom eksperimentu ispitano je repelentno djelovanje triju učestalo korištenih insekticida na odrasle jedinke kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst).

Ciljevi istraživanja:

- Istražiti mogući repelentni učinak triju insekticida, organofosfata dimetoata i pirimifos-metila te piretroida deltametrina na odrasle jedinke kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst);
- Istražiti utjecaj supstrata na repelentni učinak insekticida, odnosno utvrditi razliku u repelenciji prilikom korištenja originalne metode prostorne preferencije te modificirane metode u kojoj je primijenjeno brašno kao supstrat;
- Utvrditi postoji li razlika u repelentnom djelovanju organofosfatnih insekticida (dimetoata i pirimifos-metila) te piretroida (deltametrina).

2. MATERIJALI I METODE

2.1. KEMIKALIJE

U ovom eksperimentu korištene su sljedeće kemikalije:

- Aceton (Kemig d.o.o. Sesvete-Soblinec)
- Chromgor 40 (Chromos Agro d.d., Zagreb) kao pripravak dimetoata (400 g/L aktivnog sastojka)
- Actellic 50 EC (Syngenta Agro d.o.o., Zagreb) kao pripravak pirimifos-metila (500 g/L aktivnog sastojka)
- Rotor 1,25 EC (Chromos Agro d.d., Zagreb) kao pripravak deltametrina (12.5 g/L aktivnog sastojka)

2.2. INSTRUMENTI I PRIBOR

Pri izradi ovog rada upotrebljeni su sljedeći instrumenti i pribor:

- Filter papir
- Klasično stakleno laboratorijsko posuđe
- Oštro brašno tip 400
- Petrijeve posudice, staklene
- Pincete
- Plastične posude
- Podesive mikropipete, Eppendorf
- Špatule
- Vaga, Kern

2.3. EKSPERIMENTALNI KUKCI

2.3.1. Sistematika kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst)

Carstvo: Animalia – životinje

Koljeno: Arthropoda – člankonošci

Razred: Insecta – kukci

Podrazred: Pterygota – krilati kukci

Nadred: Endopterygota

Red: Coleoptera – tvrdokrilci

Podred: Polyphaga

Porodica: Tenebrionidae – mračnjaci

Rod: *Tribolium*

Vrsta: *Tribolium castaneum* – kestenjasti brašnar



Slika 4. *Tribolium castaneum* (Herbst) (Web 3).

2.3.2. Biologija kestenjastog brašnara

Ovaj kukac pripada redu Coleoptera, čije je ime izvedeno iz grčkih riječi ″koleos″, što znači pokrivač/plašt i ″ptera″ odnosno krila, a što se odnosi na modificirana prednja krila koja služe kao zaštitni pokrivač za velika membranozna stražnja krila. Prolaze potpunu preobrazbu i obuhvaćaju četiri stadija: jaje, ličinku, kukuljicu i imago (odrasli kukac). Odrasle jedinke su dugoživuće i mogu doživjeti više od 3 godine. I ličinke i odrasli kukci posjeduju snažni mandibularni usni aparat koji im služi za žvakanje hrane. Karakteristika podreda Polyphaga je nepodijeljen prvi abdominalni sternum. Porodicu Tenebrionidae ili mračnjake karakterizira tamna boja tijela, ticala su im relativno kratka, nitasta ili glavičasta, dok je nadvratni štit krupan, više ili manje pravokutnog oblika. Noge su snažne, dugačke, često s bodljama ili nazubljene, a ličinke su izdužene, sjajnog i čvrstog egzoskeleta. Odrasle ženke polažu 300 do 400 jaja direktno u brašno ili drugi hranidbeni medij, tijekom 5 do 8 mjeseci (2 do 3 jaja na dan). Potpuno razvijene ličinke pretvaraju se u gole kukuljice bez ikakve zaštite. Pri optimalnoj temperaturi od 35ºC vrijeme razvoja za svaki stadij iznosi: 3.1 dan za jaja, 16 dana za ličinke i 4.5 dana za kukuljice pri relativnoj vlažnosti od 60 do 80%. Ličinke su aktivne, ali se uglavnom skrivaju unutar hranidbenog medija, daleko od svjetlosti. Odrasli kukci su veoma aktivni, brzo se kreću i skrivaju se kada ih se uznemiri. Mogu biti pronađeni na površini ili unutar hranidbenog materijala. Mužjaci pokazuju agregativno ponašanje, dok su ženke uglavnom jednolično raspršene (Meyer, 2014; NPIPM, 2014; PaDIL, 2014).



Slika 5. Jaja, ličinka, kukuljica i odrasla jedinka vrste *Tribolium castaneum* (Herbst) (Web 4).

2.3.3. Održavanje kultura u laboratoriju

Kestenjasti brašnar *Tribolium castaneum* (Herbst) korišten u ovom eksperimentu dobiven je iz kultura koje su uzgajane protekle dvije godine u laboratoriju (Slika 6). Kultura kukaca koja je korištena uzgajana je u staklenkama sa hranidbenim medijem na 30±1^{0}C pri relativnoj vlažnosti od 70-80%. Kao hranidbeni medij korištena je mješavina bijelog oštrog brašna i suhog pivskog kvasca u omjeru 10:1. U ovom eksperimentu korištene su odrasle jedinke kestenjastog brašnara.



Slika 6. Kultura kestenjastog brašnara.

2.4. KARAKTERISTIKE INSEKTICIDA

Formulacije insekticida upotrijebljenih u ovom istraživanju bile su za komercijalnu upotrebu. Osim aktivnog sastojka, insekticidi sadrže i tvari kao što su otapala, površinski aktivne tvari, nosači i antioksidansi koji poboljšavaju svojstva pesticida za skladištenje, rukovanje i primjenu. Aktivni sastojak je kemijski spoj koji ima specifičan učinak na ciljni organizam.

2.4.1. Dimetoat (Chromgor 40)

Dimetoat (Slika 7) djeluje kao sistemični i kontaktni insekticid te pripada skupini organofosfata. Chromgor 40 (proizvođač: Chromos Agro d.d.) je komercijalni naziv pripravka na bazi dimetoata koji je korišten u ovom istraživanju. Koristi se protiv širokog spektra kukaca i grinja. Inhibira acetilkolinesterazu, enzim koji hidrolizira acetilkolin u živčanom sustavu (EXTOXNET PIP, 1996).

KEMIJSKI NAZIV: O,O-dimetil S-metilkarbamoilmetil ditiofosfat

KOMERCIJALNI NAZIV: Chromgor 40

KEMIJSKA SKUPINA: organofosfat

MOLEKULARNA FORMULA: $C_5H_{12}NO_3PS_2$

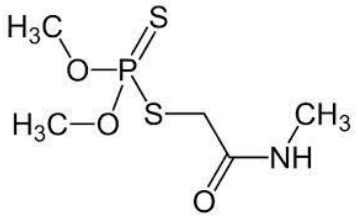
RELATIVNA MOLEKULARNA MASA: 229.28

FIZIKALNO STANJE: čisti dimetoat je sivo-bijeli kristal na sobnoj temperaturi

TEMPERATURA TALJENJA: 43-45°C

TOPIVOST U VODI: 25 g/L pri 21°C

TOPIVOST U DRUGIM OTAPALIMA: topiv u metanolu i cikloheksanu



Slika 7. Struktura dimetoata (Web 5).

2.4.2. Pirimifos-metil (Actellic 50 EC)

Pirimifos-metil (Slika 8) je kontaktni, želučani i volatilni insekticid, izraženog brzog i fumigantnog djelovanja. Actellic 50 EC (proizvođač: Syngenta Agro d.o.o.) je komercijalni naziv pripravka na bazi pirimifos-metila koji je korišten u ovom istraživanju. Najčešće se koristi protiv štitastih i lisnih ušiju, tripsa, lisnih buha, voćne mušice i nekih drugih štetnika te grinja. Kao i dimetoat, inhibira enzim acetilkolinesterazu.

KEMIJSKI NAZIV: O-(2-dietilamino-6-metilpirimidin- 4-il) O,O-dimetil tiofosfat

KOMERCIJALNI NAZIV: Actellic 50 EC

KEMIJSKA SKUPINA: organofosfat

MOLEKULARNA FORMULA: $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$

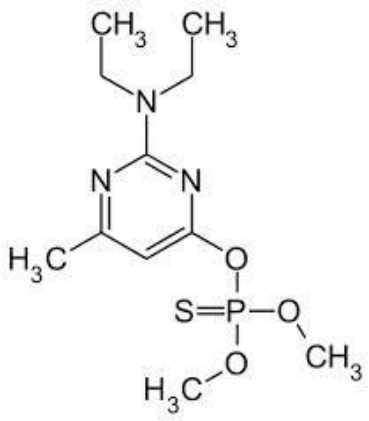
RELATIVNA MOLEKULARNA MASA: 305.33

FIZIKALNO STANJE: žuta tekućina

TEMPERATURA TALJENJA: 15-18°C

TOPIVOST U VODI: 5.0 mg/L pri 30 °C

TOPIVOST U DRUGIM OTAPALIMA: topiv u većini organskih otapala



Slika 8. Struktura pirimifos-metila (Web 6).

2.4.3. Deltametrin (Rotor 1,25 EC)

Deltametrin (Slika 9) djeluje kao kontaktni i želučani insekticid i pripada skupini piretroida. Širokog je spektra djelovanja te je učinkovit u vrlo niskim dozama, a rezidualno djelovanje je dugotrajno. Ima neurotoksično djelovanje na način da pobuđuje natrijeve i kalijeve kanale neurona i usporava njihovo zatvaranje tijekom faze depolarizacije.

KEMIJSKI NAZIV: (S)-α-cijano-3-fenoksibenzil (1R, 3R)-3-(2,2-dibromvinil)- 2,2-dimetil-ciklopropan karboksilat

KOMERCIJALNI NAZIV: Rotor 1,25 EC

KEMIJSKA SKUPINA: piretroid

MOLEKULARNA FORMULA: $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$

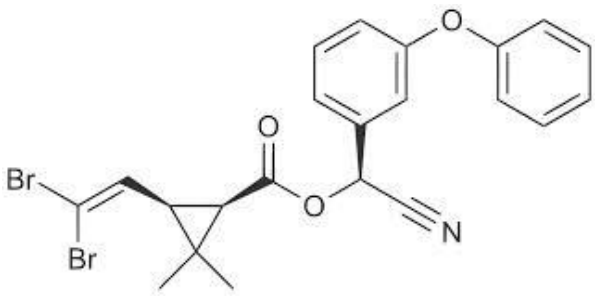
RELATIVNA MOLEKULARNA MASA: 505.24

FIZIKALNO STANJE: bezbojni kristalni prah

TEMPERATURA TALJENJA: 98-101°C

TOPIVOST U VODI: manje od 0.1 mg/L

TOPIVOST U DRUGIM OTAPALIMA: topiv u kerozinu i izoalkanima



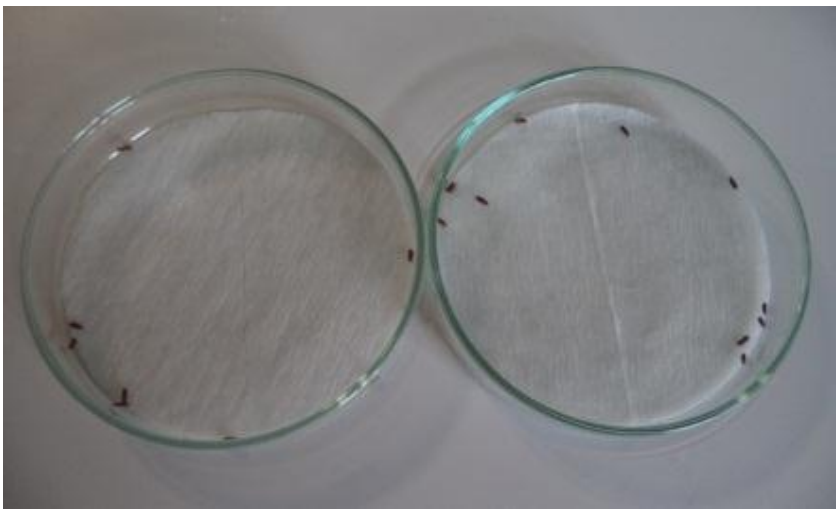
Slika 9. Struktura deltametrina (Web 7).

2.5. METODE ZA TESTIRANJE REPELENTOG DJELOVANJA

Za utvrđivanje repelencije korištena je metoda prostorne preferencije (eng. area preference method) koju je prvi opisao McDonald 1970. godine. Metoda je korištena na dva načina: originalna metoda u kojoj je korišten filter papir podijeljen na dva dijela te modificirana metoda u kojoj je korišteno brašno kao supstrat.

2.5.1. Originalna metoda

Insekticidi su zasebno pripremljeni u acetonu u koncentracijama 1 µg/mL pirimifos-metila, 50 µg/mL dimetoata i 10 µg/mL deltametrina te je na polovicu filter-papira pipetom apliciran po 1 mL otopina. Izraženo u µg/cm^2, ove koncentracije odgovaraju približno 0.03, 1.5 i 0.3 µg/cm^2. Koncentracije su odabrane na temelju preliminarnog testa provedenog sa korištenim insekticidima. Druga je polovica filter-papira tretirana jednakim volumenom acetona i korištena kao kontrola. Tretirane i kontrolne polovice filter papira ostavljene su 10 minuta na sobnoj temperaturi da se osuše, odnosno da ispari otapalo, a zatim su spojene ljepljivom trakom i stavljene na dno Petrijevih zdjelica (po 1 filter-papir u svaku zdjelicu). Nakon toga je po 10 odraslih jedinki kestenjastog brašnara pušteno na sredinu svakog filter-papira. Zdjelice su pokrivene aluminijskom folijom i stavljene na tamno mjesto pri sobnoj temperaturi. Prebrojavanje broja jedinki kukaca na tretiranim i kontrolnim polovicama filter papira izvršeno je nakon 24 sata. Za svaki insekticid korišteno je 6 replika.



Slika 10. Izlaganje kukaca na filter papiru podijeljenom na dva dijela.

2.5.2. Modificirana metoda

Otopine insekticida pripremljene su u acetonu te je 10 mL otopine pipetom nanešeno na 100 g bijelog oštog brašna u Petrijevim zdjelicama. Jednak volumen acetona nanešen je na 100 g brašna kao kontrola. Brašno poprskano otopinom insekticida ili acetona dobro je izmiješano špatulom da bi se insekticid (ili aceton) ravnomjerno raspodijelio unutar brašna te je tako izmiješano brašno ostavljeno sat vremena na sobnoj temperaturi da bi isparilo otapalo. Nakon što je otapalo isparilo, brašno je stavljeno u plastične zdjelice. U prvom eksperimentu, zdjelica je napunjena sa pola tretiranog (konačna koncentracija je bila 10 μg/g za svaki insekticid) i pola netretiranog brašna (kontrola), koristeći barijeru između odjeljaka. U drugom eksperimentu, pola plastične zdjelice je napunjeno brašnom tretiranim sa višom koncentracijom insekticida (c_1= 10 μg/g), dok je druga polovica napunjena brašnom tretiranim sa manjom koncentracijom insekticida (c_2= 1 μg/g). U svakoj zdjelici nalazilo se 150 g brašna, po 75 g u svakoj polovici. Barijera između odjeljaka je uklonjena, a zatim je 10 odraslih jedinki kestenjastog brašnara pušteno u sredinu svake zdjelice. Zdjelice su poklopljene i stavljene na mračno mjesto pri sobnoj temperaturi. Prebrojavanje broja jedinki na svakoj polovici brašna izvršeno je nakon 24 sata. Korištene koncentracije odabrane su na temelju preliminarnog preliminarnog testa provedenog sa korištenim insekticidima. Koncentracija od 10 μg/g uzeta je kao najviša ne-letalna koncentracija koja ni na koji način nije onesposobila jedinke crvenog brašnara. Za svaki insekticid korišteno je 15 replika za oba eksperimenta.



Slika 11. Izlaganje kukaca na brašnu podijeljenom na dva dijela.

2.6. ANALIZA PODATAKA

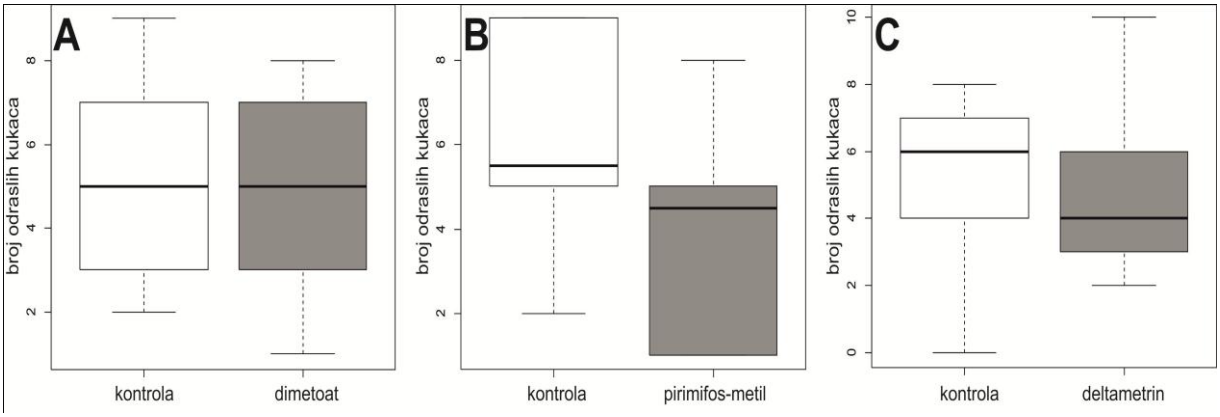
Analiza podataka je izvedena pomoću statističkog software-a R, verzija 3.0.2 (R Development Core Team, 2011). Za utvrđivanje repelencije insekticida, korišten je χ^2 test u kojem su se opaženi rezultati uspoređivali s očekivanom distribucijom. Očekivana distribucija bila je po 5 jedinki u svakoj polovici testne površine. Razina vjerojatnosti za statističku značajnost bila je $p<0.05$. Za tretmane u kojima je utvrđena značajna repelencija izračunat je postotak repelencije (PR) prema formuli: $PR = [(N_c - N_t)/(N_c + N_t)] \times 100$, gdje su N_c i N_t broj kukaca na netretiranoj (kontrolnoj) i tretiranoj površini.

3. REZULTATI

Korištenjem originalne metode prostorne preferencije (Slika 12), odnosno izlaganjem kukaca na filter papiru, nije utvrđena statistički značajna repelencija istraživanih insekticida. Distribucije odraslih jedinki vrste *Tribolium castaneum* na tretiranim i netretiranim polovicama filter papira 24 sata nakon izlaganja dimetoatu, pirimifos-metilu i deltametrinu prikazane su na Slici 12.

Tablica 1. Broj kukaca na tretiranoj (N_{c1}) i ne-tretiranoj (N_K) polovici filter papira nakon izlaganja dimetoatu, pirimifos-metilu i deltametrinu primjenom originalne metode prostorne preferencije.

Dimetoat c_1 = 50 µg/mL		**Pirimifos-metil c_1 = 1 µg/mL**		**Deltametrin c_1 = 10 µg/mL**	
N_{c1}	**N_K**	**N_{c1}**	**N_K**	**N_{c1}**	**N_K**
5	5	1	9	3	7
3	7	8	2	3	7
8	2	5	5	0	10
1	9	1	9	5	5
7	3	5	5	8	2
5	5	4	6	4	6

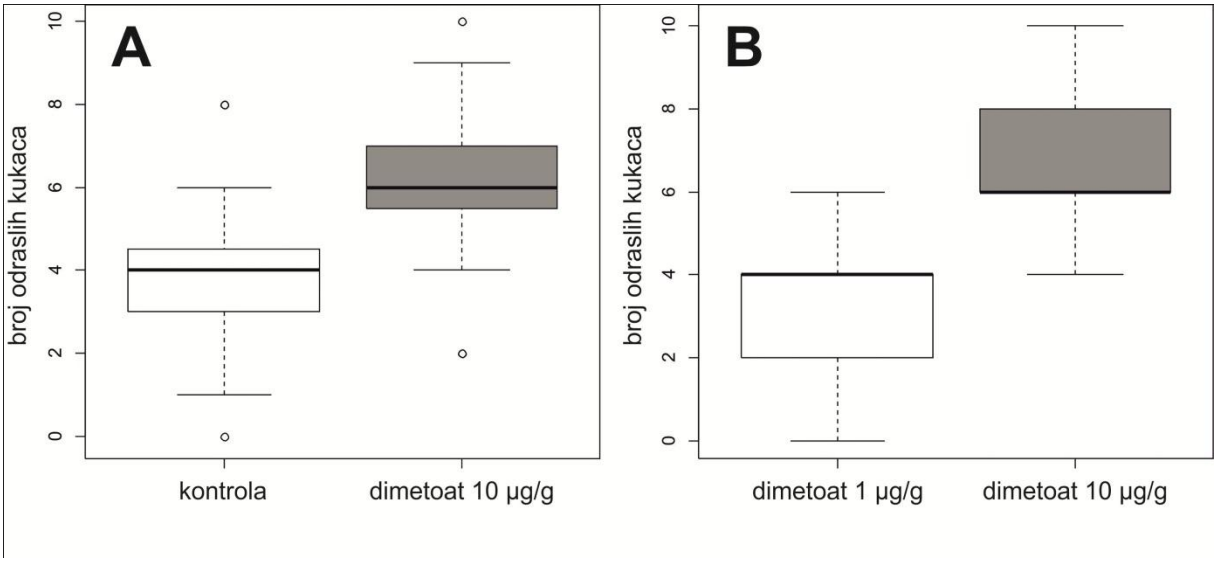


Slika 12. Distribucija kukaca između ne-tretirane (kontrola) i tretirane (insekticid) polovice filter papira 24 sata nakon izlaganja A) dimetoatu, B) pirimifos-metilu i C) deltametrinu. Nisu utvrđene značajne razlike.

Primjenom modificirane metode prostorne preferencije (Tablica 2-4 i Slika 13-15) u slučaju izlaganja organofosfatima dimetoatu (Tablica 2 i Slika 13) i pirimifos-metilu (Tablica 3 i Slika 14), značajna repelencija nije utvrđena.

Tablica 2. Broj kukaca na ne-tretiranom (N_K) i tretiranom (N_{c1}) brašnu te na brašnu tretiranom manjom koncentracijom (N_{c2}) i većom koncentracijom (N_{c1}) nakon izlaganja dimetoatu primjenom modificirane metode prostorne preferencije.

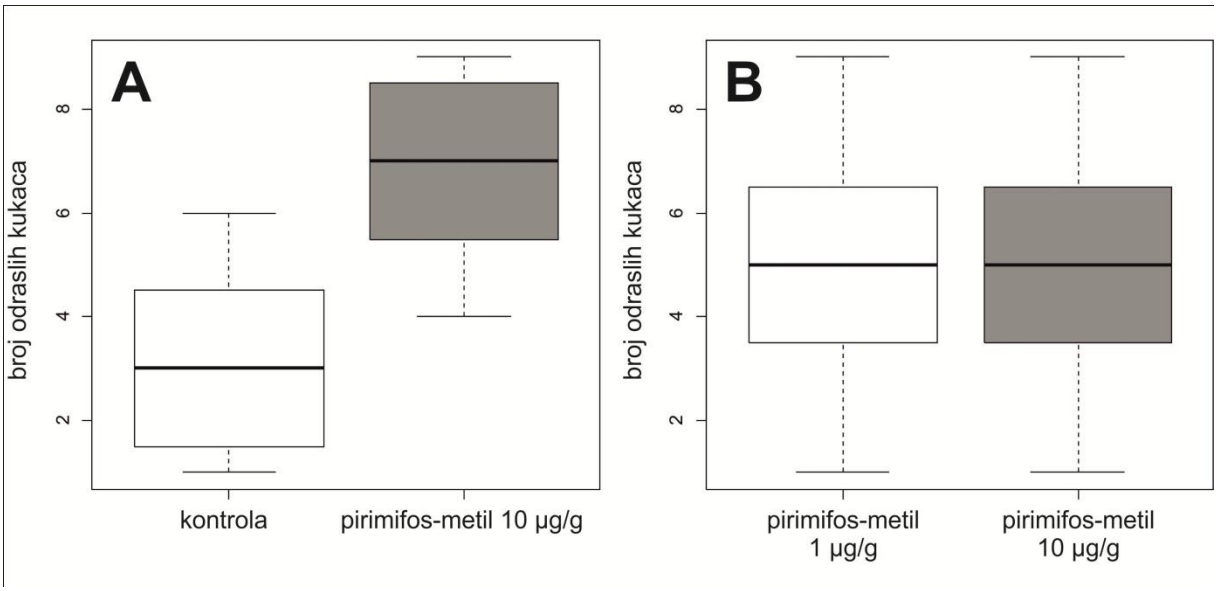
Dimetoat			
N_K (K = kontrola)	**N_{c1} (c_1 = 10 µg/g)**	**N_{c2} (c_2 = 1 µg/g)**	**N_{c1} (c_1= 10 µg/g)**
6	4	4	6
10	0	6	4
6	4	6	4
6	4	7	3
9	1	7	3
7	3	6	4
6	4	6	4
8	2	8	2
7	3	5	5
2	8	9	1
4	6	8	2
2	8	8	2
6	4	5	5
7	3	6	4
5	5	10	0



Slika 13. Distribucija kukaca na brašnu tretiranom dimetoatom; A) distribucija između ne-tretiranog (kontrola) i tretiranog (dimetoat) brašna i B) distribucija između niže (1 µg/g) i više (10 µg/g) koncentracije dimetoata. Nisu utvrđene značajne razlike.

Tablica 3. Broj kukaca na ne-tretiranom (N_K) i tretiranom (N_{c1}) brašnu te na brašnu tretiranom manjom koncentracijom (N_{c2}) i većom koncentracijom (N_{c1}) nakon izlaganja pirimifos-metilu primjenom modificirane metode prostorne preferencije.

Pirimifos-metil			
N_K (K= kontrola)	**N_{c1} (c_1= 10 µg/g)**	**N_{c2} (c_2= 1 µg/g)**	**N_{c1} (c_1= 10 µg/g)**
7	3	9	1
9	1	7	3
5	5	4	6
6	4	4	6
6	4	8	2
9	1	3	7
7	3	5	5
6	4	1	9
4	6	3	7
9	1	4	6
4	6	7	3
7	3	6	4
9	1	3	7
8	2	6	4
5	5	6	4

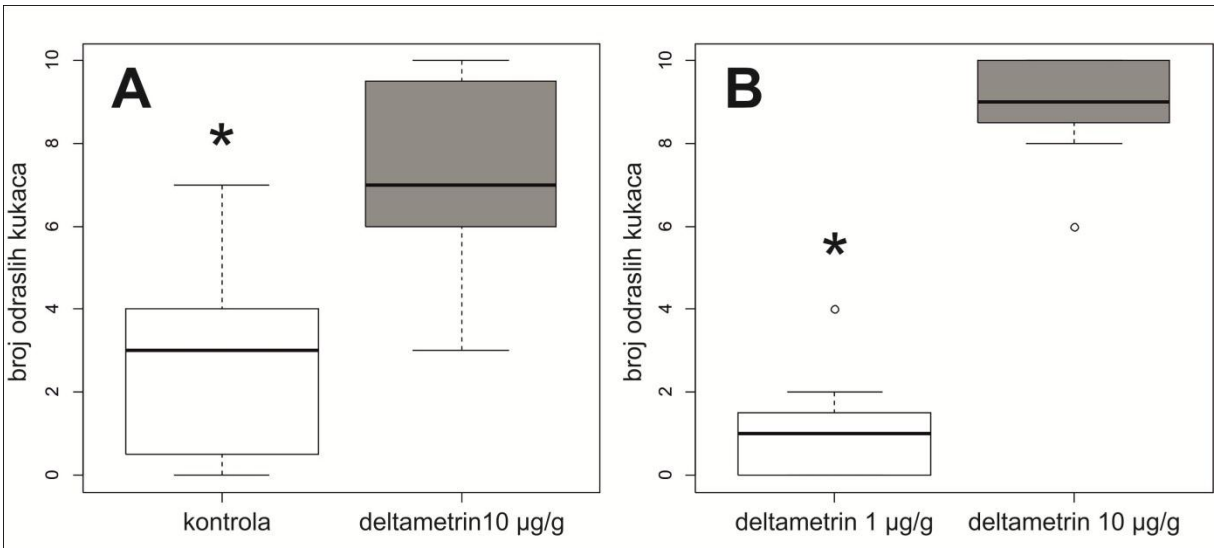


Slika 14. Distribucija kukaca na brašnu tretiranom pirimifos-metilom; A) distribucija između ne-tretiranog (kontrola) i tretiranog (pirimifos-metil) brašna i B) distribucija između niže (1 µg/g) i više (10 µg/g) koncentracije pirimifos-metila. Nisu utvrđene značajne razlike.

Upotreba brašna kao supstrata utjecala je na repelentni učinak deltametrina te je 24 sata nakon izlaganja deltametrinu utvrđena statistički značajna repelencija (Tablica 4 i Slika 15).

Tablica 4. Broj kukaca na ne-tretiranom (N_K) i tretiranom (N_{c1}) brašnu te na brašnu tretiranom manjom koncentracijom (N_{c2}) i većom koncentracijom (N_{c1}) nakon izlaganja deltametrinu primjenom modificirane metode prostorne preferencije.

Deltametrin			
N_K (K= kontrola)	**N_{c1} (c_1= 10 µg/g)**	**N_{c2} (c_2= 1 µg/g)**	**N_{c1} (c_1= 10 µg/g)**
6	4	10	0
10	0	10	0
5	5	10	0
3	7	6	4
7	3	9	1
6	4	9	1
5	5	8	2
6	4	10	0
8	2	10	0
9	1	9	1
10	0	9	1
8	2	9	1
10	0	8	2
10	0	9	1
6	4	8	2



Slika 15. Distribucija kukaca na brašnu tretiranom deltametrinom; A) distribucija između ne-tretiranog (kontrola) i tretiranog (deltametrin) brašna i B) distribucija između niže (1 µg/g) i više (10 µg/g) koncentracije deltametrina. Značajne razlike ($P<0.05$) u distribucijama označene su *.

Postotak repelencije iznosio je 45.33% u slučaju izlaganja u posudama napunjenima netretiranim brašnom i brašnom tretiranim deltametrinom te 78.67% u slučaju izlaganja u posudama napunjenim brašnom tretiranim nižom i višom koncentracijom deltametrina.

4. RASPRAVA

Pri planiranju učinkovite strategije kontrole studije utjecaja pesticida na populacije skladišnih štetnika su od velike važnosti. Također je bitno istražiti i biotičke čimbenike koji uključuju repelenciju insekticida te bihevioralno izbjegavanje insekticidnih tretmana (Watson i Barson, 1995). Ako se ponašanje kukca modificira na način da on izbjegava insekticidne tretmane, njegove se šanse za preživljavanje mogu znatno povećati te tako insekticidni tretman postaje manje učinkovit, a kontrola populacije štetnih kukaca postaje teža (Pinniger, 1975; Barson i sur., 1992, 1995).

Rezultati nakon primjene originalne i modificirane metode prostorne preferencije nisu pokazali značajnu repelenciju u slučaju izlaganja jedinki vrste *Tribolium castaneum* organofosfatima. Prilikom izlaganja deltametrinu korištenjem originalne metode distribucija kukaca nije pokazala izbjegavanje tretirane polovice filter papira, dok je nakon primjene modificirane metode, odnosno korištenja brašna kao supstrata, utvrđena statistički značajna repelencija. S obzirom da je statistički značajna repelencija utvrđena samo kada se koristila modificirana metoda, utjecaj supstrata je jasno vidljiv. Prisutnost brašna omogućila je kukcima lakše kretanje u usporedbi sa izlaganjem na filter papiru te je također količina korištenog brašna bila dovoljna da bi se kukci ukopali. Dakle, prilikom primjene modificirane metode, tijela kukaca su bila potpuno prekrivena brašnom i kontaktna površina je bila značajno veća. Također, kukci su se puno teže kretali po filter papiru te su se često preokretali, što je vjerojatno utjecalo na njihovo izbjegavanje tretiranih površina, dok im je kretanje unutar brašna bilo puno lakše. Uvjeti izlaganja i dobiveni rezultati ukazuju da je modificirana metoda prostorne preferencije prikladnija za procjenu repelentnog učinka insekticida kod vrste *Tribolium castaneum*.

Deltametrin je pokazao dobra repelentna svojstva kada se koristila modificirana metoda prostorne preferencije. Izbjegavanje površina tretiranih deltametrinom kod vrste *Tribolium castaneum* koje je istraženo u ovim bioesejima najvjerojatnije je uzrokovano kontaktnom repelencijom ili iritabilnošću, prilikom koje je kukac stimuliran da napusti neposredno toksično okruženje nakon kontakta sa tretiranom površinom (Lockwood et al., 1984). S obzirom da biokemijska/fiziološka otpornost na insekticid može biti pojačana bihevioralnim izbjegavanjem tretiranih površina (Watson and Barson, 1995), pri procjeni insekticida za primjenu u smislu

rezidualnih tretmana u skladištima žitarica i prehrambenih proizvoda, od presudne je važnosti uključiti i detaljnu procjenu utjecaja insekticida na ponašanje kukca. Ova studija je pokazala da orginalna metoda prostorne preferencije, koja je do sada bila najčešće korištena za procjenu repelentnih učinaka insekticida, nije prikladna za dobru procjenu repelentnog učinka ispitanih insekticida, a možda i drugih sintetičkih insekticida, na jedinke vrste *T. castaneum*. Prikladnija metoda za ovakva istraživanja bila bi modificirana metoda koja uključuje primjenu brašna, zrnja i sličnih supstrata na kojima se insekticidi obično i apliciraju u skladištima.

5. ZAKLJUČCI

- Za valjanu procjenu repelentnog djelovanja neke tvari na skladišne štetnike eksperimentalni uvjeti trebaju što više nalikovati stvarnim uvjetima u skladištu.
- Za djelotvornu kontrolu populacije kukaca koji čine štete u skladištima, vrlo je bitno znati ima li supstrat na koji se insekticid primjenjuje utjecaja na konačni učinak insekicida.
- Prisutnost brašna utjecala je na djelotvornost pesticida te je stoga u budućim istraživanjima nužno istražiti utjecaj drugih supstrata na performanse pesticida kako bi se bolje procijenile koncentracije potrebne za učinkovitu zaštitu žitarica u skladištima.
- S obzirom da je repelencija na skladišnim štetnicima općenito slabo istražena, ta tema bi u budućnosti trebala biti više zastupljena u znanstvenim istraživanjima.
- Za repelentni učinak nekog pesticida dovoljno je koristiti manje (subletalne) doze, za razliku od doza potrebnih za usmrćivanje ciljnih organizama (letalne doze) koje su puno veće te bi se ovakvom primjenom pesticida smanjila njihova sveukupna potrošnja.

6. LITERATURA

Adarkwah C., Obeng-Ofori D., Buttner C., Reichmuth C., Scholler M. 2010. Bio-rational control of red flour beetle Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) in stored wheat with Calneem oil derived from neem seeds. Journal of Pest Science 83:471–479

Barson G., Fleming D.A., Allan E. 1992. Laboratory assessment of the behavioural responses of residual populations of Oryzaephilus surinamensis (L.). (Coleoptera: Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphos-methyl by linear logistic modelling. Journal of Stored Products Research 28: 161-170.

Caballero-Gallardo K., Olivero-Verbel J., Stashenko E.E. 2011. Repellency and toxicity of essential oils from Cymbopogon martinii, Cymbopogon flexuosus and Lippia origanoides cultivated in Colombia against Tribolium castaneum. Journal of Stored Products Research 50: 62-65.

Chattopadhyay P., Dhiman S., Devi K.A., Banerjee S., Rabha B., Chaurasia A.,Veer V. 2013. Ultra low concentration deltamethrin loaded patch development and evaluation of its repellency against dengue vector Aedes (S) albopictus. Parasites & Vectors 2013, 6:284.

Ćosić J., Ivezić M., Štefanić E., Šamota D., Kalinović I., Rozman V., Liška A., Ranogajec Lj. 2008. Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u ratarskoj proizvodnji. Poljoprivredni fakultet Osijek

Danka R.G., Collison C.H. 1987. Laboratory evaluation of dimethoate repellence to honey bees. Sonderdruck aus Bd. 104, H.2, S 211-214.

Davis, E. E.; Sokolove, P. G. 1976. Lactic acid-sensitive receptors on the antennae of the mosquito, Aedes aegypti. Journal of Comparative Physiology, 105, 43–54.

Dominguez J., Marrero L., 2010. Catalogo de la entomofauna asociada a almacenes de alimentos en la provincia de matanzas. Fitosanidad 14, 75-82

EXTOXNET PIP., 1996. < http://extoxnet.orst.edu/>

Gallagher M.E. 2003. Toxicity testing requirements, methods and proposed alternatives. Environs 26:2: 253-273.

Hayes W. J., Laws E. R. 1991. Handbook of pesticide toxicology. Volume 1. General principles. Academic, San Diego, CA.

Kraft, S.K., and L.J. Pinto. 1985. The Dictionary of Pest Control. Pinto and Associates, Inc., Vienna, Va.

Lockwood J.A., Sparks T.C., Story R.N. 1984. Evolution of insect resistance to insecticides: A re-evaluation of the roles of physiology and behaviour. Bulletin of the Entomological Society of America 30: 41-50.

Lu, H., Zhou, J., Xiong, S., Zhao, S., 2010. Effects of low-intensity microwave radiation on Tribolium castaneum physiological and biochemical characteristics and survival. J. Insect Physiol. 56: 1356-1361.

McDonald L.L., Guy R.H., Speirs R.D. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research Report. No 882. Agricultural Research Service, United State Department of Agriculture, Washington.

Meyer J. 2014. General entomology. NC State University <http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/>

NPIPM 2014. <http://wiki.bugwood.org/NPIPM:Tribolium>

PaDIL 2014. <http://www.padil.gov.au/>

Peterson C. and Coats J. 2001. Insect repellents – past, present and future. Pesticide outlook, august 2001: 154-158, The Royal Society of Chemistry.

Pinniger D. B. 1975. The behaviour of insects in the presence of insecticides: The effect of fenitrothion and malathion on resistant and susceptible strains of Tribolium castaneum Herbst. In Proceedings of the 1st International Working Conference on Stored-Product Entomology, pp. 301-308. Savannah.

Randall C. 1998. General Pest Management: A Guide for Commercial Applicators. Michigan State University Extension, 234 pp.

Ridley A.W., Hereward J.P., Daglish G.J., Raghu S., Collins P.J., Walter G.H. 2011. The spatiotemporal dynamics of Tribolium castaneum (Herbst): adult flight and gene flow. Molecular ecology 20: 1635–1646.

Robinson W.H., Barlow R.A. 1999. Efficacy of a cockroach control bait exposed to insecticides. Proceedings of the 3rd International Conference on Urban Pests.

Rollo, C. D.; Borden, J. H.; Casey, I. B. 1995. Endogenously produced repellent from American cockroach (Blattaria: Blattidae): function in death recognition. Environmental Entomology, 24(1), 116–124.

Stenersen J. 2004. Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology. CRC Press, 296 pp.

Tapondjou A.L., Adler C., Fontem D.A., Bouda H., Reichmuth C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of Cupressus sempervirens and Eucalyptus saligna against Sitophilus zeamais Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research 41: 91–102.

Tawatsin A., Wratten S.D., Scott R.R., Thavara U., Techadamrongsin Y. 2001. Repellency of Volatile Oils from Plants against Three Mosquito Vectors. Journal of Vector Ecology, Vol. 26, No. 1: 76-82.

Wambua L.M., Deng A.L., Ogendo J.O., Owuoche J. and Bett P.K. 2011. Toxic, antifeedant and repellent activity of aqueous crude extracts of *Tephrosia vogelii* hook on the larval stages of *Helicoverpa armigera* HÜBNER. Baraton Interdisciplinary Research Journal 1: 19-29.

Watson E., Barson G. 1995. A Laboratory Assessment of the Behavioural Responses of Three Strains of Oryzaephilus surinamensis (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to Three Insecticides and the Insect Repellent N,N-diethyl-m-toluamide. Journal of Stored Products Research 32: 59-67.

WEB ADRESE:

Web 1: http://wiki.bugwood.org/NPIPM:Tribolium

Web 2: http://mff.dsisd.net/PDF/2-Environment/4-Health.pdf

Web 3: http://www.rkmp.co.in/content/rust-red-flour-beetle

Web 4: http://pbt.padil.gov.au/pbt/index.php?q=node/23&pbtID=201

Web 5: http://en.wikipedia.org/wiki/Dimethoate

Web 6: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pirimiphos-methyl.svg

Web 7: http://nl.wikipedia.org/wiki/Deltamethrin