Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste Frankliniella occidentalis Pergande, 1895

Roher, Monika

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:204:286877

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

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

DIPLOMSKI RAD

Monika Roher

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Diplomski studij:

Fitomedicina

Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

DIPLOMSKI RAD

Monika Roher

Mentor:

doc. dr. sc. Ivan Juran

Zagreb, rujan, 2019.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Monika Roher**, JMBAG 0178097539, rođena 09.01.1995. u Bjelovaru, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

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

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Monike Roher**, JMBAG 0178097539, naslova

Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	doc. dr. sc. Ivan Juran	mentor	_____
2.	prof. dr. sc. Tanja Gotlin Čuljak	član	_____
3.	doc. dr. sc. Sanja Fabek Uher	član	_____

Zahvala

Ovime se zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Ivanu Juranu na iskrenim savjetima i mentoriranju. Želim se zahvaliti mentorici prof. dr. Elisabeth H. Koschier na ljubazosti, organiziranosti i iskazanoj želji za uspjehom mog diplomskog rada. Hvala dr. Krzysztof Wieczorek na naučenim tehnikama, prenesom znanju i prijedlozima. Također, zahvaljujem se tehničarki Ulrike Tauer, ing. na pomoći u laboratoriju.

Iskreno hvala mojoj predivnoj obitelji. Roditeljima na odgoju, upornošću i požrtvovnošću te najdražoj sestri na povjerenju i iskrenosti. Bili ste mi, i još uvijek jeste, moja najveća snaga i podrška u životu.

Želim svoju zahvalnost iskazati prof. dr. Mate Bobancu, utemeljitelju "Klape Falkuša", izvrsnom pedagogu i životnom profesoru, na ustrajnoj brizi i podršci svih godina mog studija. Hvala dragoj Verici na beskrajnoj iskrenosti, podršci i iskazanoj vjeri koja mi je uvijek bila kao vjetar u leđa.

Veliko hvala prijateljici Luciji, najboljoj cimerici, na predivnim rečenicama podrške i pogledom na svijet kroz realne naočale, za razliku od mojih ružičastih. Hvala prijateljici Teni, hodajućoj enciklopediji i najboljoj partnerici za putovanja. Hvala prijateljicama Dajani, Ivani i Ivi za svaku riječ podrške!

Sadržaj

1. Uvod 1

1.1. Cilj rada 2

2. Pregled literature 3

2.1. Krastavac (*Cucumis sativus* L.) 3

2.2. Štetnici krastavca 7

2.2.1. Kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895) 8

2.3. Biljni ojačivači 14

3. Materijali i metode 17

3.1. Biljni materijal 17

3.2. Održavanje kalifornijskog tripsa u laboratoriju 18

3.3. Biljni ekstrakti 20

3.4. Biotestovi 20

3.4.1. Biotest izravne toksičnosti na ličinke tripsa 20

3.4.2. Preferencije tripsa za ishranu 22

3.4.3. Procjena aktivnosti hranjena i ovipozicija 22

3.4.4. Histološka karakterizacija krastavca 23

3.5. Statistička analiza podataka 27

4. Rezultati i rasprava 28

4.1. Biotest izravne toksičnosti na ličinke tripsa 28

4.2. Preferencije tripsa za ishranu 29

4.3. Procjena aktivnosti hranjenja i ovipozicija 31

4.4. Histološka karakterizacija lista krastavca 33

5. Zaključci 38

6. Popis literature 39

7. Prilozi 43

Životopis

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Monike Roher**, naslova

Utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju vrste *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

Kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895) jedan je od najvažnijih polifagnih štetnika zaštićenih prostora diljem svijeta. Problem u suzbijanju ovog štetnika javio se razvojem rezistentnosti izazvan nepravilnom primjenom kemijskih sredstava. Jedna od alternativnih i ekološki povoljnih metoda u suzbijanju jest primjena biljnih ojačivača. S obzirom na vrlo mali broj podataka o izravnom utjecaju biljnih ojačivača na štetne kukce, cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj biljnih ekstrakata na mortalitet, ishranu i ovipoziciju kalifornijskog tripsa te na debljinu stanične stijenke i epiderme lista krastavca. Rezultati pokazuju kako biljni ojačivači nemaju izravan utjecaj na mortalitet drugog stadija ličinke niti na ovipoziciju ženki. Kod odabira odraslog oblika tripsa između listova krastavca tretiranim biljnim ekstraktima i listova tretiranih vodom nema signifikantne razlike. Ishrana tripsa po listu signifikantno je veća na listovima tretiranim ekstraktom koprive. Signifikantne razlike u debljini stanične stijenke nisu utvrđene dok je debljina epiderme signifikatno veća kod listova tretiranim ekstraktom koprive i preslice.

Ključne riječi: kalifornijski trips, biljni ojačivači, krastavac

Summary

Of the master's thesis - student **Monika Roher,** entitled

The effect of plant extract on mortality, feeding and oviposition of *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895

The western flower thrips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895) is one of the most important polyphage pests in greenhouse production worldwide. A problem with the control of this pest has arisen through the development of resistance caused by the improper use of chemicals. One of the alternative and environmentally friendly methods of suppression is the use of plant extracts. Due to the lack of literature on the direct impact of plant extract on insect pests, the aim of this study is to determine the effect of plant extracts on mortality, feeding and oviposition of western flower thrips as well as the effect on thickness of the cell wall and epidermis of cucumber. The results show that plant extracts do not have a direct effect on second-stage larval mortality nor on oviposition of females. There is no significant difference in the choice of adult thrips form between plant extract treated cucumber leaves and water treated leaves. The feeding of thrips per leaf is significantly higher on leaves treated with stinging nettle extract. There is no significant difference in the thickness of the cell wall, whereas the thickness of the epidermis is significantly higher in leaves treated with stinging nettle and horsetail extract.

Keywords: western flower thrips, plant strenghteners, cucumber

1. Uvod

Poljoprivredna proizvodnja današnjice trpi velike ekonomske gubitke uzrokovane štetočinama biljnih kultura (biljne bolesti, korovi, kukci i drugi štetni organizmi). Od kad postoji poljoprivredne proizvodnje, još prije 10 000 godina, javljaju se izazovi u pronalasku rješenja ovog velikog problema. Povećanjem broja ljudi kroz godine povećava se i potreba za hranom zbog koje tijekom 20. stoljeća dolazi do intenzivne poljoprivredne proizvodnje. Inovacije, uporaba sintetičkih gnojiva i pesticida, zaštitni su znak industrijske proizvodnje usjeva koja se vodi ciljem što većeg prinosa. Oslanjanje na tehnologije koje se temelje na neobnovljivim resursima uzrokuje ključne probleme u proizvodnji, ali i svakodnevnom životu čovjeka.

Proizvodnja u zaštićenim prostorima iznimno je važan segment poljoprivredne industrije zbog koje današnje stanovništvo ima dostupnost svježih namirnica tijekom cijele godine. Upravo zbog mogućnosti berbe tijekom cijele godine, najveći prinosi krastavca (*Cucumis sativus* L.) u Europi, pa i u Hrvatskoj, postižu se uzgojem u zaštićenim prostorima (DZS, 2019). Krastavac, kao izrazito hranjivo povrće, najveću upotrebu ima u gastronomiji, a koristi se i u kozmetičkoj industriji. Jestivi su cijeli plodovi, sjemenke, mladi listovi i stabljike. Plodovi se mogu jesti svježi ili se kisele. Osim kao salatni krastavac, ova kultura može se uzgajati i kao industrijski krastavac (kornišon). Usporedno s intenziviranjem uzgoja poljoprivrednih kultura, povećava se i broj štetne entomofaune. Poseban problem predstavlja zaštita od štetnih kukaca u zaštićenim prostorima. Povoljni uvjeti u takvim objektima omogućavaju im razvoj velikog broja generacija, pa mogu nanijeti višestruko veće štete nego u polju.

Jedan od ekonomski važnih štetnika na globalnoj razini je kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895). Izrazito je polifagna vrsta, domaćin je na oko 240 biljnih vrsta te kozmopolit (Šimala, 2002). Osim što je štetnik u proizvodnji povrća, ujedno je i najznačajniji štetnik u uzgoju cvijeća za rez i sezonskih cvjetnica. Kalifornijski trips ishranom na cvjetovima, listovima i plodovima krastavca nanosi velike ekonomske gubitke u proizvodnji krastavca u zaštićenim prostorima diljem svijeta. Direktne štete nanosi odlaganjem jaja te ishranom na listovima, cvjetovima i plodovima, dok indirektne štete nanosi prijenosom biljnih virusa od kojih je ekonomski najvažniji tomato spotted wild virus (TSWV) (Pintar i Šimala, 2017). Zbog vidljivih simptoma, plodovi te ukrasno cvijeće gubi tržišnu vrijednost.

Zbog dugogodišnjeg i učestalog korištenja kemijskih sredstava u svrhu zaštite nasada od kalifornijskog tripsa, pojavila se rezistentnost na većinu aktivnih tvari. Rezistentnost potvrđuje IRAC (2018) na globalnoj razini, te projekt *Monitoring rezistentnosti štetnih organizama na sredstva za zaštitu bilja* (Rezistentnost SZB, 2019) na području Republike Hrvatske. Prije nego se pristupi kemijskim sredstvima, potrebno je integrirati raspoložive agrotehničke, mehaničke, fizičke i biološke mjere. Također, javlja se problem ostataka pesticida te štetan utjecaj na korisne organizme. Odgovor na rješenje ovih problema je istraživanje mogućnosti korištenja drugih ekološki prihvatljivih mjera u svrhu smanjenja populacije kalifornijskog tripsa.

Rezistentnost, neučinkovitost, ograničenja u registraciji te brojna saznanja o vrlo štetnom utjecaju velikog broja kemijskih insekticida, broj dostupnih djelatnih tvari insekticida na tržištu je sve manji. Brigom za okoliš, zdravlje ljudi i životinja, dolazi do potrebe za alternativnim, ekološki prihvatljivim sredstvima. Jedna od efikasnih mogućih alternativnih metoda je primjena biljnih ekstrakata. Glavna svrha primjene biljnih ekstrakata je ojačati biljku, odnosno pružiti biljci hranjivo kako bi ona adekvatno rasla, a time stvarajući prirodnu otpornost od bilo kakvih vanjskih utjecaja koji bi mogli narušiti kvalitetu i prinos kulture. Najpoznatije biljke čiji ekstrakti ima široku primjenu u organskoj proizvodnji su preslica, kopriva i obični vratić. Pregledom literature, primjena biljnih ojačivača učinkovita je u prirodnoj zaštiti biljaka protiv bolesti uzrokovanih gljivama, bakterijama te virusima. Poznato je da se određene supstance biljaka, primjenom na biljke, mogu koristiti za povećanje atraktivnosti korisnih kukaca u biološkom suzbijanju. Istraživanja o izravnom utjecaju biljnih ojačivača na štetne kukce vrlo je malo, što ukazuje na veliku kompleksnost u interakciji (Gama, 2018).

1.1. Cilj rada

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj biljnih ekstrakata preslice, koprive i običnog vratića na mortalitet, ishranu i ovipoziciju kalifornijskog tripsa te na ojačavanje stanične stijenke i epiderme lista krastavca.

2. Pregled literature

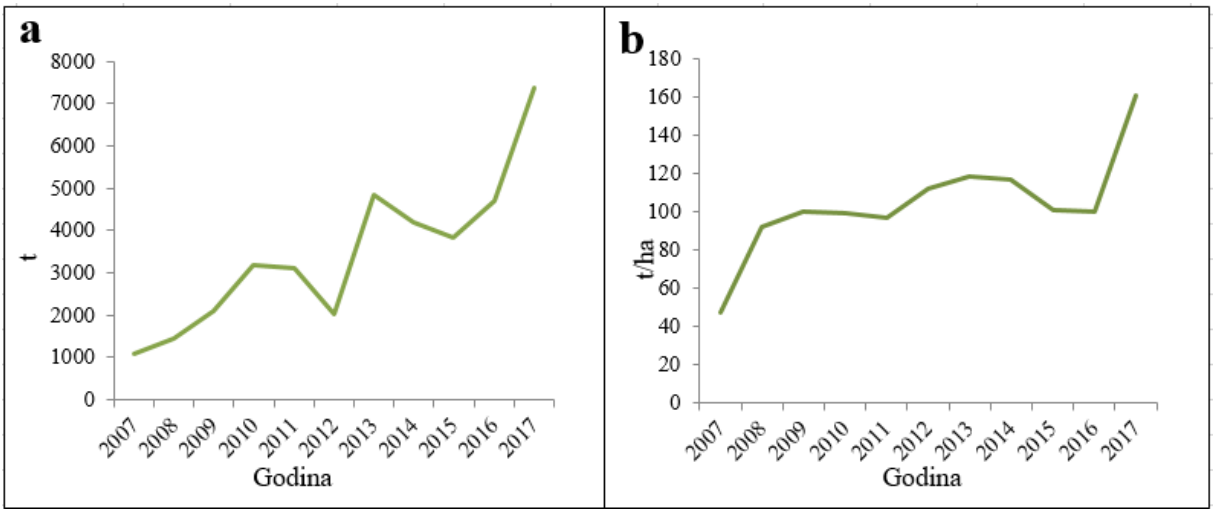
2.1. Krastavac (*Cucumis sativus* L.)

Sistematika i važnost

Krastavac (*Cucumis sativus* L.) je jednogodišnja biljka iz porodice tikvenjača (Cucurbitaceae) te nakon lubenice, ujedno količinski najviše uzgajana kultura iz ove porodice (Nayar i Singh, 1998). Upotreba krastavca najveća je u gastronomiji a koristi se i u proizvodnji kozmetičkih proizvoda za njegu kože i kose. Jestivi su cijeli plodovi, sjemenke, mladi listovi i stabljike. Plodovi se mogu jesti svježi ili se kisele. Kultivari visoke rodnosti, odnosno visokog prinosa uzgajaju se u zaštićenim prostorima zbog mogućnosti berbe tijekom cijele godine. Osim kao salatni krastavac, ova kultura može se uzgajati i kao industrijski krastavac (kornišon) najčešće na otvorenom. Sistematska podjela krastavca je slijedeća:

Red: Cucurbitales
Porodica: Cucurbitaceae
Rod: *Cucumis*
Vrsta: *Cucumis sativus* L.

Biljka krastavca potječe iz Indije, a iz Indije su ga u Europu donijeli Grci i Rimljani. Više od polovice svjetske proizvodnje i površine pod proizvodnjom krastavca nalazi se u Kini. Najveći prinosi postižu se proizvodnjom u zaštićenim prostorima u kojima prednjače zemlje sjeverne Europe. Najveće površine pod proizvodnjom krastavca nalaze se u Poljskoj. Količinu proizvodnje (t) i prirod (t/ha) krastavca pod zaštićenim prostorom i staklom unutar deset godina u Republici Hrvatskoj prikazuje slika 2.1.1. Na slici je vidljivo kako proizvodnja, kao i prirod krastavca u zaštićenim prostorima vidno raste. Dok je u 2007. godini proizvedeno 1084 t uz prirod od 47,1 t/ha (slika 2.1.1.a), u 2017. godini je proizvedeno 7388 t uz prirod od 160,6 t/ha (slika 2.1.1.b), što su najveće zabilježene vrijednosti unutar 10 godina. Porast priroda kroz godine rezultat je mnogobrojnih istraživanja i neprestanog unaprijeđenja tehnologije. Dok proizvodnja krastavca u zaštićenim prostorima raste, podatci Državnog zavoda za statistiku Republike Hrvatske (2019) pokazuju kako se smanjuje proizvodnja na otvorenom. Pretpostavka je da će u budućnosti rasti plastenička proizvodnja čime se povećava mogućnost razvoja štetnika u zaštićenim prostorima.



Slika 2.1.1. Proizvodnja (a) i prirod (b) krastavaca u zaštićenim prostorima u Republici Hrvatskoj u razdoblju od 2007. do 2017.

Izvor: Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske.
https://www.dzs.hr - pristup 19.01.2019

Morfološka i biološka svojstva krastavca

Biljka krastavca ima plitak korijenov sustav dok je stabljika, odnosno vrježa, puzava i razgranata. Širi se horizontalno po tlu, a ako ima potporu prihvaća se viticama na svakom koljencu (Lešić i sur., 2004). Listovi se nalaze na dugim peteljkama, krupni su i prekriveni dlačicama. Plojka je trokutastog do peterokutastog oblika s izraženim režnjevima (Matotan, 2004). Listovi se izmjenično razvijaju iz koljenca stabljike (slika 2.2.), a u pazuhu listova izrastaju bočni izboji (zaperci) koji se uklanjaju kod nekih sorata. Krastavac je prirodno jednodomna biljka koja ima na istoj biljci odvojeno muške i ženske cvjetove. Prvo se na biljci pojavljuju muški cvjetovi i u početku su znatno brojniji od ženskih kako bi pred kraj plodonošenje ženski cvjetovi bili brojniji (Matotan, 2004). Plod krastavaca je peponis (slika 2.2.), valjkastog oblika tamnozelene do svijetlozelene boje, najčešće bradavičaste ili bodljaste površine. Sjeme krastavca je ovalnog oblika, blijedožute ili bijele boje i glatke površine. Dužina sjemenke je 7 do 15 mm, masa 100 sjemenki je 25 do 35 g. Sjeme zadržava klijavost i do osam godina (Matotan, 2004).



Slika 2.1.2. Izmjeničan položaj listova na stabljici krastavca i plod

Agroekološki uvjeti

Krastavac je termofilna biljna vrsta. Biljka s povećanim zahtjevima prema temperaturi tla i zraka, ali i velikim zahtjevima za vodom, naročito tijekom plodonošenja. Zbog toga se tijekom sadnje postavlja sustav za navodnjavanje kapanjem i crni polietilenski malč (Parađiković, 2009). Optimalna temperatura klijanja je 25 do 30 °C, a minimalna 12 °C. Poželjna temperatura tla za nicanje prilikom sjetve na otvoreno iznosi 15 °C. Za vegetativni rast i razvoj najpovoljnije su dnevne temperature oko 25 °C i noćne oko 18 °C, a za cvatnju i razvoj plodova 25 do 30 °C danju i 20 noću. Cvatnja započinje kod temperature 15 do 17 °C, a oprašivanje je najbolje pri temperaturi od 18 do 21 °C (Parađiković, 2009). Pri temperaturi od 12 °C zaustavlja se cvatnja, pri 10 °C biljka odbacuje cvjetove, a pri 6 °C prestaje s rastom. Temperature iznad 32 °C znatno usporavaju rast plodova, smanjuju oplodnju, a ako su praćene nedostatkom vode može doći do opadanja cvjetova i zametnutih plodova.
Krastavci imaju velike zahtjeve prema vodi zbog visokog sadržaja vode u plodovima i relativno visoke transpiracije. Optimalna relativna vlažnost zraka potrebna za rast je između 85 i 90 %, a vlažnost tla oko 70 % poljskog vodnog kapaciteta. Dok su u početnom stadiju biljke zalijevanja rjeđa, ovisno o vrsti tla i tehnologiji uzgoja, krastavac treba zalijevati svakodnevno (Parađiković, 2009).

Uspješan uzgoj krastavca moguć je na različitim tipovima tla pod uvjetom da su dobro drenirana i da sadrže 2-3 % organske tvari. Najpovoljnija su laganija, ilovasta tla koja se brže

zagrijavaju u proljeće te time omogućuju bolji rast i razvoj krastavaca. Teža tla, sklona zbijanju, manje su povoljna jer se često kao posljedica slabe dreniranosti tla formiraju plodovi lošije kvalitete. Krastavac uspijeva na tlima neutralne ili slabo kisele reakcije (pH 5,5 do 6,5).

Agrotehničke mjere

Pogodne pretkulture za krastavac su kupus, celer, grah mahunar, salata, grašak te kukuruz šećerac. Količina mineralnih gnojiva koja se unosi u tlo u fazi obrade ovisi o načinu uzgoja te o očekivanom prinosu. Za prinos od deset tona potrebno je 50 kg N, 16 kg P_2O_5, 55 kg K_2O i 10 kg MgO. Za prosječnu gnojidbu krastavca prije sadnje potrebno je aplicirati 150 kg N/ha, 160 kg/ha fosfora, 300 kg/ha kalija i 65 kg/ha kalcija (Parađiković, 2009). Poslije svake druge ili treće berbe krastavci se prihranjuju folijarno i to 0,5 %-tnom otopinom uree (46 % N) dok su listovi još mladi, a 1 %-tnom otopinom Uree 46 % N kada je list potpuno razvijen.

Sjetva ili sadnja na otvorenom preporučuje se u drugoj polovici svibnja kada nema opasnosti od pojave kasnih proljetnih mrazova. Kako bi se ostvarila ranija i duža berba plodova, preporuka je saditi krastavac iz presadnica proizvedenih u grijanom zaštićenom prostoru. Sadnja presadnica u grijanim zaštićenim prostorima obavlja se početkom ožujka, a u negrijanim petnaestak dana ranije nego na otvorenom. Krastavac se sije na većim površinama pomoću sijačica, a na manjim ili prostorima nedostupnim mehanizaciji ručno u redove ili kućice. Razmak između redova iznosi 80 do 100 cm a razmak unutar reda 20 do 30 cm (Parađiković, 2009). Za sjetvu na većim površinama koriste se pneumatske sijačice koje u jednom prohodu rade sjetvena mjesta i siju po tri do četiri sjemenke na razmaku od 30 cm i na dubini 2 cm. Za sjetvu jednog hektara takvim načinom sjetve potrebno je 1,5 do 1,8 kg sjemena, čime se u berbi osigurava sklop od četiri do šest biljaka po m^2. Proizvodnja na crnoj polietilenskoj foliji najbolja je i najučestalija jer se time zadržava toplina tla, sprečava rast korova, manja je izloženost uzročnicima bolesti koji se nalaze u tlu i plodovi su čisti. Također, uzgoj na armaturi najsigurniji je način proizvodnje jer omogućuje najveći prinos. Za armaturu se koriste stupovi visoki dva metra, povezani žicom na koju se veže konopac ili se između stupaca postavlja mreža po kojoj se biljke uspinju. Na donjem dijelu stabljike potrebno je redovito uklanjati zaperke.

Vrijeme plodonošenja krastavca uobičajeno traje 1,5 do 2,5 mjeseca. Krastavci za industrijsku preradu beru se svaka dva dana ovisno o željenoj klasi. Prvu klasu čine plodovi dužine tri do pet cm, promjera oko 1,5 cm dok drugu klasu čine plodovi pet do sedam cm, promjera oko dva cm. Berba se uglavnom obavlja ručno, samo je na velikim površinama mehanizirana. Salatni krastavac bere se kada plodovi poprime boju, veličinu i oblik karakterističan za sortu. Prinos plodova za industrijsku preradu može biti između 25 i 50 t/ha, a salatnog između 22 i 40 t/ha, ovisno o načinu i vremenu uzgoja te financijskom ulaganju u proizvodnju. Plodovi za tržište se sortiraju u kartonske kutije ili plastične sanduke. Čuvaju se pri temperaturi između 3 i 7 °C i 93 do 95 % relativne vlage zraka. Industrijski krastavci beru se u velike plastične kontejnere (Parađiković, 2009).

2.2. Štetnici krastavca

Prema navodima literature, štetna entomofauna razlikuje se u uzgoju u zaštićenim prostorima i u uzgoju na otvorenom. U uzgoju na otvorenom, štete na krastavcu uzrokuju lisne uši (Aphidoidea) i stjenice (*Lygus* spp.). U uzgoju u zaštićenim prostorima najznačajnije štete na krastavcu uzrokuju cvjetni štitasti moljac (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856), muhe lisni mineri (Agromyzidae) te u nastavku detaljnije opisan štetnik u ovom radu, kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895). Također, obični crveni pauk (*Tetranychus urticae* Koch, 1836) polifagan je štetnik u uzgoju na otvorenom i u zaštićenim prostorima (Maceljski i sur., 2004).

U uzgoju na otvorenom, tijekom vegetacije, ekonomski znatne štete mogu uzrokovati lisne uši (Aphidoidea). Lisne uši hrane se na mladim i sočnim biljnim dijelovima. Štete čine sišući biljno tkivo. Kao rezultat ishrane, dolazi do deformacije napadnutih dijelova koji istovremeno služe kao sklonište. Lisne uši luče mednu rosu na koju se nastanjuje gljiva čađavica koja smanjuje asimilacijsku sposobnost biljne površine. Osim direktnih šteta, indirektne štete nanose prenoseći biljne viruse. Stjenice roda *Lygus* su kukci zelenkasto-smećkaste boje dužine 4,5 do 5,5 mm koji sišući sokove neposredno ispod vegetacijskog vrha uzrokuju njegovo sušenje (Matotan, 2004).

Cvjetni štitasti moljac čest je štetnik u uzgoju krastavca u zaštićenim prostorima. Svi razvojni stadiji nastanjuju naličje lista, zbog čega ih se teško uočava u nasadu krastavca. Sisanjem sokova uzrokuje žućenje, a kod jake zaraze i potpuno sušenje listova. Cvjetni štitasti moljac obilno izlučuje mednu rosu koja je vidljiva na plodovima i listovima. Osim što zbog nastalog onečišćenja plodovi gube tržišnu vrijednost, mednu rosu na listovima nastanjuje gljiva čađavica koja time umanjuje asimilacijsku funkciju listova. Kao što već i sam naziv štetnika otkriva, muhe lisni mineri, porodica Agromyzidae, uzrokuju simptome prepoznatljive na listovima u obliku hodnika- mina. Ličinke ovog štetnika žive između dva epidermalna sloja gdje se intenzivno hrane lisnim parenhimom. Lisno tkivo na oštećenim dijelovima odumire, asimilacijska površina lista se smanjuje, a posljedica je skraćena vegetacija i sniženje prinosa (Pagliarini, 2016).

Obični crveni pauk pripada redu grinja (Acarinae). Štetnik se hrani na naličju lišća te stvara "bijelu paučinu" na listovima i plodovima. Simptomi ishrane uočljivi su na licu lista. Između nervature nastaju bjelkaste do žućkaste točkice. S vremenom se pjege povećavaju i međusobno spajaju, listovi žute i na kraju se osuše (Maceljski i sur., 2004).

2.2.1. Kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895)

Sistematika, rasprostranjenost i važnost

Razred: Insecta
Podrazred: Pterygota
Red: Thysanoptera
Podred: Terebrantia
Rod: Frankliniella
Vrsta: *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895)

Kalifornijski trips (*Frankliniella occidentalis*) je značajan polifag, domaćin na 244 vrste biljaka. Slučajno je uvezen iz SAD-a u Europu, Južnu Ameriku i Australiju (Emden, 2013). Generalno gledano, u Europi je pronađena na velikom broju domaćina u zaštićenom prostoru dok je u Americi pronađena i na bilju vanjske proizvodnje. Na slici 2.2.1.1. (IRAC, 2018) vidljivo je da je kalifornijski trip rasprostranjen gotovo na cijelom svijetu osim krajnjih sjevernih dijelova gdje klimatske prilike ne odgovaraju životu populacije. Nalazi se na karantenskoj A2 EPPO listi (EPPO, 2019). Iako tripsi okvirno nisu dobri letači, imaju sposobnost raširiti se na velike udaljenosti (Ramachandran i sur., 2001). Stražnja površina krila, tipična za većinu vrsta tripsa, pojačava njihovu sposobnost letenja.



Slika 2.2.1.1. Rasprostranjenost vrste Frankliniella occidentalis.
Izvor: Insecticide Resistance Action Committee
https://www.irac-online.org/pests/frankliniella-occidentalis - pristup 25.04.2018.

Morfologija

Jaja su izrazito sitna, dimenzija 550µm x 250 µm, ovalna i prozirno mliječne boje (Cluever i suradnici, 2015), (slika 2.2.1.2.). Golim okom ih je gotovo nemoguće raspoznati jer se nalaze unutar bilo kojeg ne lignificiranog dijela biljke.



Slika 2.2.1.2. Izgled jaja kalifornijskog tripsa pod binokularom

Ličinke prvog i drugog stadija nemaju razvijena krila. Prvi stadij je svjetlije boje od drugog stadija koji se raspoznaje po zlatno žutoj boji (Reitz, 2009). Lažna pretkukuljica je svijetlo žute do bijele boje. Oči lažne pretkukuljice su crvenkaste boje, a prepoznatljiva je po kratkim krilima i kratkim, ravnim ticalima (Smith i sur. 1997; Cluever i sur. 2015). Lažna kukuljica nešto je veća od lažne pretkukuljice, zdepastog je oblika, ima duža krila i duža ticala, koja su usmjerena prema tijelu pa prekrivaju glavu. Boja tijela je žute do bijele boje. Odrasli oblici veliki su oko 2 mm, imaju potpuno razvijena resasta krila. Boja tijela odraslih ženki varira od zlatne do smeđe. Odnosno, tijelo kalifornijskog tripsa može biti tamno, srednje ili svijetlo smeđe boje (Cluever i sur., 2015), ovisno o biljnoj vrsti kojom se hrani. Ovu vrstu karakterizira spolni dimorfizam. Mužjaci su (slika 2.2.1.3.), za razliku od ženki, manji i svjetliji (Moritz, 2006; Reitz, 2009; Meyer i sur., 2010; Cluever i sur., 2015) te vrlo rijetki u populaciji (Emden, 2013).

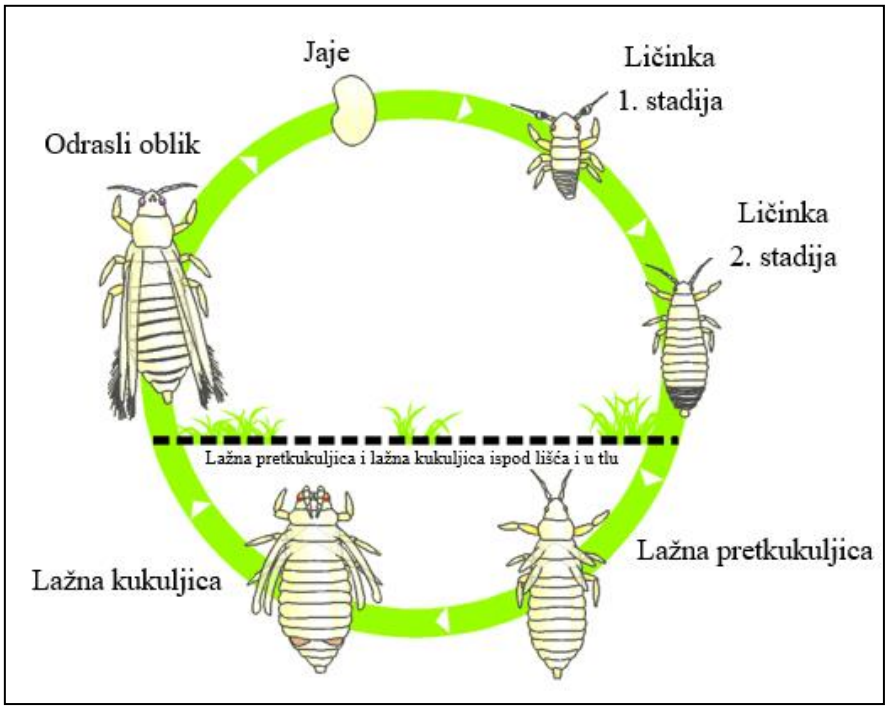


Slika 2.2.1.3 Izgled ženke (lijevo) i mužjaka (desno)

Na glavi kalifornijskog tripsa nalazi se usni ustroj razvijen za bodenje i sisanje, facetirane oči, tri ocele te antene sastavljene od 6 do 9 članaka. Prvi segment prsišta odvojen je od prvog i drugog na kojem se nalazi po jedan par krila. Krila su uska, resasta s reduciranom nervaturom. Sva tri para nogu su slične građe, prilagođene za hodanje.

Biologija i ekologija

Životni ciklus tripsa prikazan je na slici 2.2.1.4. Tripsi imaju nepotpunu preobrazbu (heterometabola), iz jaja se razvija ličinka prvog a potom i drugog stadija koje sliče na imago. Nakon stadija ličinke pojavljuje se gibljiva pretkukuljica i gibljiva kukuljica (remetabolija). Pojava kukuljice u metamoforzi tripsa pokazuje prijelaz prema potpunoj preobrazbi (holometabola) u odnosu na ostatak heterometabolnih kukaca. Kalifornijski trips u zaštićenom prostoru ima 12 do 15 generacija godišnje.



Slika 2.2.1.4. Životni ciklus tripsa
Izvor: https://biocontrol.ucr.edu/hoddle/avocadothrips.html - pristup 16.06.2019.

Kalifornijski trips hrani se tako da donjom čeljusti (mandibula) bode biljku domaćina, a zatim pomoću gornje čeljusti (maxillae) siše tekućinu iz stanica, ali ne izravno iz vaskularnog tkiva (Kindt i sur., 2003). Kukuljice se razvijaju u tlu i ne hrane se, dok se ličinke prvog i drugog stadija mogu pronaći na mjestima gdje se dodiruju listovi, cvjetovima i pupovima gdje se hrane polenom. Za ovu vrstu postoji i dokaz o predatorstvu. Na pamuku je pronađena kao predator na jajima grinja (Cluever i sur., 2015).

Mužjaci se razvijaju iz neoplođenih dok se ženke razvijaju iz oplođenih jaja. Ženka ovipozitorom odlaže jaja u tkivo biljaka. Premda se ova vrsta ne ubraja u socijalne kukce, mužjaci se mogu pariti i u rojevima (Terry i Gardner, 1990). Ženke legu 40 do 100 jaja pomoću ovipozitora unutar listova, na cvjetove, ali mogu i na plodove (Emden, 2013). Zbog toga je razmnožavanje uglavnom partenogenetski. Iz tablice 2.2.1.1. vidljivo je da je za razvoj vrste *F. occidentalis* na listu krastavca pri temperaturi 25 °C, od stadija jaja do jaja, potrebno 14 dana. Za razvoj jaja pod istim uvjetima potrebno je 2,56 ± 0,28, drugog stadija ličinke 3,78 ± 0,53 a za razvoj kukuljice 2,64 ± 0,26 dana (van Rijn i sur., 1995).

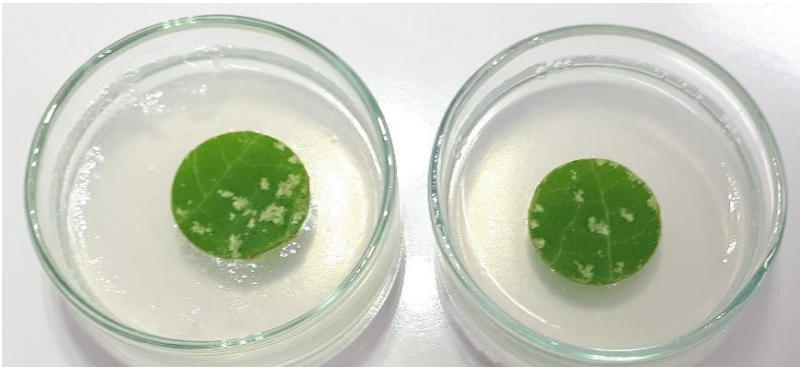
Tablica 2.2.1.1. Duljina razvojnih stadiji (u danima) mužjaka i ženke kalifornijskog tripsa pri 25°C na listu krastavca

	Razvoj *F. occidentalis* u danima	
	ženka	mužjak
Stadij	aritm. sred. ± SD	aritm. sred. ± SD
Jaje	2,56±0,28	2,76±0,29
Ličinka 1. stadija	2,33±0,28	2,33±0,33
Ličinka 2. stadija	3,78±0,53	3,59±0,55
Pretkukuljica	1,11±0,21	1,18±0,24
Kukuljica	2,64±0,26	2,79±0,33
Jaje do odraslog oblika	12,39±0,62	12,62±0,73
Pred ovipozicija	1,81±0,26	
Jaje do jaje	14,2	

Izvor: Van Rijn i sur. (1995). Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. Bulletin of Entomological Research. https://www.cambridge.org/core/journals - pristup 25.04. 2018.

Štetnost i simptomi

F. occidentalis kao i ostale vrste iz reda Thysanoptera, kulturi nanose izravne i neizravne štete. Izravne štete nanose ishranom i ovipozicijom. Ženke pomoću leglice odlažu jaja u listove, pri čemu oštećuju lisnu epidermu u kojem jaje nastavlja svoj životni ciklus. Ishranom odraslih i ličinki na listovima javljaju se simptomi u obliku crtica i točkica srebrnkanske boje. Tijekom dužeg razdoblja ishrane, sitni oštećeni dijelovi se spajaju i postaje sve veća nepravilna površina bez zelenog pigmenta (slika 2.2.1.5).



Slika 2.2.1.5. Izgled štete odrasle ženke kalifornijskog tripsa na listu krastavca

Indirektnu štetu biljci kalifornijski trips prvenstveno nanosi prijenosom virusa kao što su: Tomato spotted wilt virus (TSWV) (Emden, 2013), Tomato clorotic spot virus (TSCV), Impatiens necrotic spot virus (INSV) (IRAC, 2018) te Groundnut ringspot virus (GRSV) (Cluever i sur., 2015).

Mjere suzbijanja

Sve veća raširenost kalifornijskog tripsa u zaštićenim prostorima usporava sofisticiranu i intenzivnu proizvodnju današnjice. Najraširenija proizvodnja povrća i ukrasnog bilja u zaštićenim prostorima je konvencionalna proizvodnja koja uključuje intenzivno korištenje kemijskih sredstava. Pojavom rezistentnosti kalifornijskog tripsa na insekticide, strogi zahtjevi kvalitete proizvodnje dopuštaju minimalnu ili nultu stopu korištenja insekticida (Jacobson, 1997). Rješenje ovog globalnog problema je razvijanje i korištenje integrirane zaštite bilja (IPM) za kontrolu štetnika, uključujući tripsa. Strategija integrirane zaštite bilja je prvenstveno naglasak na biološkim mjerama kontrole, kao i fizikalnim, mehaničkim i agrotehničkim mjerama uz minimalno korištenje kemijskih sredstava.

Prvi i najvažniji korak u suzbijanju tripsa je adekvatna higijena prostora u kojem se poljoprivredna kultura uzgaja. Prije sadnje kulture potrebno je napraviti plan uzgoja u skladu sa zahtjevima kulture. Nadalje, agrotehničke mjere kao što su odabir rezistentnog kultivara, točan rok sjetve i sadnje, pravilan razmak unutar i između redova, precizna gnojidba, čist i kvalitetan sustav za navodnjavanje te mehanizacija, smanjuju rizik od pojave tripsa. Također, uklanjanje zaraženih cvjetnih pupova i ostalih dijelova biljaka, kao i njihovo pravilno zbrinjavanje, može značajno smanjiti populaciju štetne entomofaune. Održavanje zdravog nasada i optimalno povoljnih klimatskih uvjeta (npr. relativna vlažnost od 80 %), stvara manje povoljne uvjete za povećanje gustoće populacije tripsa (Murphy i sur., 2014).

Fizikalne mjere za suzbijanje tripsa uključuju postavljanje prepreka koji sprečavaju njihovo kretanje prema kulturi kojoj uzgajamo te postavljanje trapova u samom nasadu. Postavljanje mreža na ventile i ulaz u plastenik učinkovita je barijera za štetnike većih dimenzija. Obzirom da je trips malih dimenzija, odgovarajuća mreža treba biti veće gustoće. Međutim, takav materijal otežava protok zraka čime se gubi glavna svrha ventilacijskih otvora. Također, učinkovitost je ovisna i o boji mreže (Berlinger i sur., 1993). Ljepljive ploče imaju široku primjenu u proizvodnji u zaštićenim prostorima za praćenje i reduciranje broja populacije tripsa. Brødsgaard (1993) navodi kako se vrsta *Frankliniella occidentalis* učinkovito može pratiti plavim ljepljivim pločama u plasteničkoj proizvodnji krastavca i ukrasnog bilja. Ovisno o tipu usjeva odnosno nasada, populacija tripsa može se pratiti i žutim ljepljivim pločama. Sampson i Kirk (2013) potvrđuju da korištenje plavih i žutih ljepljivih ploča kao masovni ulov, može smanjiti broj kalifornijskog tripsa u nasadu krastavca, ukrasnog cvijeća namijenjenog za rez, jagode i paprike. Masovnim ulovom reducira se nastala šteta u usjevu što rezultira većoj ekonomskoj isplativošću proizvodnje kulture.

Kod biološkog suzbijanja kalifornijskog tripsa koriste se predatorske grinje, stjenice, entomopatogena gljiva, a moguća je i upotreba nematoda. Najšire korištene predatorske grinje su *Amblyseius cucumeris* (Oudemans, 1930) i *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot, 1962). Obje grinje se hrane prvim stadijem ličinke, a *A. swirskii* i drugim stadijem ličinke. Životni ciklus *A. cucumeris* završava nakon desetak dana pri temperaturi od 20°C i nakon šest dana pri 25°C. Za razvoj *A. swirskii* je potrebna viša optimalna temperatura nego za *A. cucumeris*. Predatorske grinje stavljaju se na početku podizanja usjeva ili kod prve pojave tripsa. Mogu se aplicirati direktno na biljke, ili unijeti u nasad pomoću paketića. Broj predatorskih grinja ovisi kulturi i populaciji tripsa. Smanjenje populacije trebalo bi biti vidljivo nakon pet do devet tjedana. Kod korištenja predatorskih grinja važno je zadržavati relativnu vlagu zraka od 70% u plasteniku i izbjegavati korištenje pesticida par mjeseci prije uvođenja predatorskih grinja u usjev.

Uz navedene, predatorske grinje *Hypoaspis aculeifer* (Gillespie i Quiring, 1990) i *Hypoaspis miles* (Glockemann, 1992) se hrane kukuljicama kalifornijskog tripsa (Sabelis i Van Rijn, 1997).

Stjenice roda *Orius* hrane se svim stadijima tripsa. Često se mogu pronaći na cvjetovima gdje se hrane polenom. Upravo su zbog toga učinkovitiji predator tripsima u nasadima povrća nego ukrasnog bilja. Razvoj vrsta iz roda *Orius* od jaja traje 31 dan pri 20°C i 19 dana pri temperaturi od 25°C. Dijapauza kod ove vrste započinje pri manje od 12 sati svjetlosti u danu. Iz tog razloga, *Orius* vrste mogu biti učinkovite u biološkom suzbijanju samo od ožujka do rujna (Murphy i sur., 2014). U paprici, suzbijanje tripsa postiže se uz jednu stjenicu na 180 jedinki tripsa, a kontrola populacije s jednom stjenicom na 50 jedinki tripsa (Cluever i sur., 2015).

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales, Cordycipitaceae) je entomopatogena polifagna gljiva koja se upotrebljava u biološkom suzbijanju tripsa. Miješa se s vodom i aplicira prskanjem po biljci. Kao i ostale gljive, najefektnija je u prostorima visoke vlažnosti. U povrću se može direktno sprejati na biljku ili aplicirati kroz pčele koje se isporučuju s posebno opremljenim košnicama sa posudama koje sadrže spore gljive u obliku praha. Pčele prilikom izlaska iz košnice prolaze kroz posude, pri čemu se spore lijepe za tijelo pčele. Prilikom leta pčele, spore se šire a do infekcije dolazi nakon kontakta spore sa tripsom (Murphy i sur., 2014).

Kemijsko suzbijanje kalifornijskog tripsa, prema načelima integrirane zaštite bilja, primijenjuje se nakon prijeđenog praga odluke (10 uhvaćenih tripsa na jednoj plavoj ljepljivoj ploči) koji je utvrđen praćenjem pomoću ljepljivih ploča u nasadu (jedna ploča na 100 m^2). Jacobson (1997) navodi dvije metode upotrebe kemijskih sredstava po pravilima integrirane zaštite bilja. Korištenje visoko selektivnih insekticida specifičnih za ciljanog štetnika ili manje selektivne koji se primjenjuju na određen način i u određeno vrijeme, tako da ima minimalan učinak na korisnu faunu u nasadu. U slučaju da je aplikacija nužna, insekticide treba koristiti rano ujutro ili kasno uvečer kada je vrhunac leta kalifornijskog tripsa. Također, uporaba insekticida različitih mehanizma djelovanja povećava uspješnost tretmana (Murphy i sur., 2014). Dozvoljena sredstva u 2019. godini u Republici Hrvatskoj za suzbijanje kalifornijskog tripsa na krastavcu u zaštićenim prostorima sadrže aktivne tvari tiametoksam, spinosad te parafinsko ulje (FIS, 2019).

2.3. Biljni ojačivači

Definicija biljnih ojačivača

Pregledom strane literature, nazivi substanci koje se koriste kako bi povećali otpornost biljke, često nisu precizno objašnjeni i za njih se koriste nazivi poput "biostimulansi", "aktivatori bilja" ili "ojačivači bilja". Njemački savezni ured za zaštitu potrošača i sigurnosti hrane (BVL, 2018) definira ojačivač bilja (eng. plant strengthener) kao "tvari i mješavine, uključujući mikroorganizme, koji su isključivo namijenjeni održavanju zdravlja biljaka". Uz navedeno, nisu sredstvo za zaštitu bilja prema članku 2, Uredbe br. 1107/2009 o stavljanju na tržište sredstava za zaštitu bilja (EZ, 2009) ili imaju namjenu zaštite bilja od fizioloških bolesti. Prema pravnom informacijskom sustavu Republike Austrije, ojačivači bilja (njem. Pflanzenhilfdmittel) su navedeni kao "tvari bez značajnog sadržaja hranjivih tvari, koje su namijenjene da utječu na biljke, povećavaju otpornost biljaka ili utječu na preradu organske tvari" (RIS, 1994). Nadalje, Calvo i sur. (2014) navode da su biostimulanske tvari bez značajnog sadržaja hranjivih tvari, koje su namijenjene utjecaju na biljke, povećavaju njihovu otpornost ili utječu na preradu organske tvari. Biljni aktivatori su kemijske supstance koje induciraju obranu biljke od širokog spektra patogena (Sun i sur., 2015).

Prema hrvatskoj literaturi, ojačivači bilja su preparati dobiveni od ekstrakata bilja, prirodne mineralne tvari ili prirodih ulja. Djeluju tako da potiču biljku na stvaranje prirodne otpornosti protiv bolesti ili stvaraju mehaničku prepreku klijanju hifa gljiva i time sprječavaju razvoj bolesti (Pokos, 2013). Proizvodi testirani u ovom istraživanju opisani su kao ojačivači bilja prema Njemačkom saveznom uredu za zaštitu potrošača i sigurnost hrane (BVL, 2018) te se nalaze na njihovom popisu. Prema navedenom opisu mogu se koristiti kao ojačivači bilja i u Hrvatskoj.

Primjena

Od davnina je poznato kako se ekstrakti pojedinih biljaka mogu koristiti kao pripravci za jačanje biljaka. Danas je poznato koje su to biljke i koje tvari u njima doprinose jačanju biljaka. Biljni ojačivači imaju široku upotrebu u organskom odnosno ekološkom uzgoju. Prednost ovih pripravaka je što osim što povećavaju prinos kulture, istodobno ne štete drugim biljkama, ljudima, korisnim kukcima i životinjama te nemaju štetan utjecaj na okoliš. Mogu biti jednako učinkoviti kao i pesticidi pod uvjetom da ih se primjenjuje prije pojave simptoma bolesti ili napada štetnika, redovito i u pravilnim vremenskim razmacima. Primjenjuju se preventivno kako bi se spriječio napad štetnih organizama i slabljenje biljke. Cijena na tržištu niža je od kemijskih sredstava za zaštitu bilja, a prednost je što su biljke koje se koriste za ekstrakte lako dostupne, štoviše smatraju se korovom u nekim usjevima. Preparati se mogu jednostavno i brzo pripremiti bez dodatne mehanizacije.

Ekstrakt običnog vratića korišten je kao insekticid i repelent u Sjevernoj Americi u 18. stoljeću (Duke i sur., 2002). Repelentni učinak zabilježen je kod krumpirove zlatice (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824) (Hough-Goldstein, 1990) i moljca *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) (Larocque i sur. 1999). Biljni ojačivač Milsana® sadrži ekstrakt biljke *Reynoutria sachalinensis* L. i učinkovito je preventivno sredstvo protiv pepelnice krastavca (Fofana i sur., 2002) kao i pepelnice rajčice (Konstantinidou-Doltsinis i sur., 2006). Nadalje, polisaharidi zelenih, smeđih i crvenih algi mogu se koristiti kao ojačivači bilja i koristiti kao zaštita biljke od bakterija, gljive i virusa (Vera i sur., 2012). Tretiranjem biljaka analogom salicilne kiseline, acibenyolar-S-metilom, mogu se kontrolirati bolesti izazvane gljivama, bakterijama te virusima (Tripathi i Pappu, 2015). Iako je poznato da tretiranje biljaka biljnim ojačivačima može povećati atraktivnost parazitoida kod biološkog suzbijanja nasada (Sobhy i sur. 2014), vrlo je malo literature o direktnom suzbijanju štetnih kukaca.

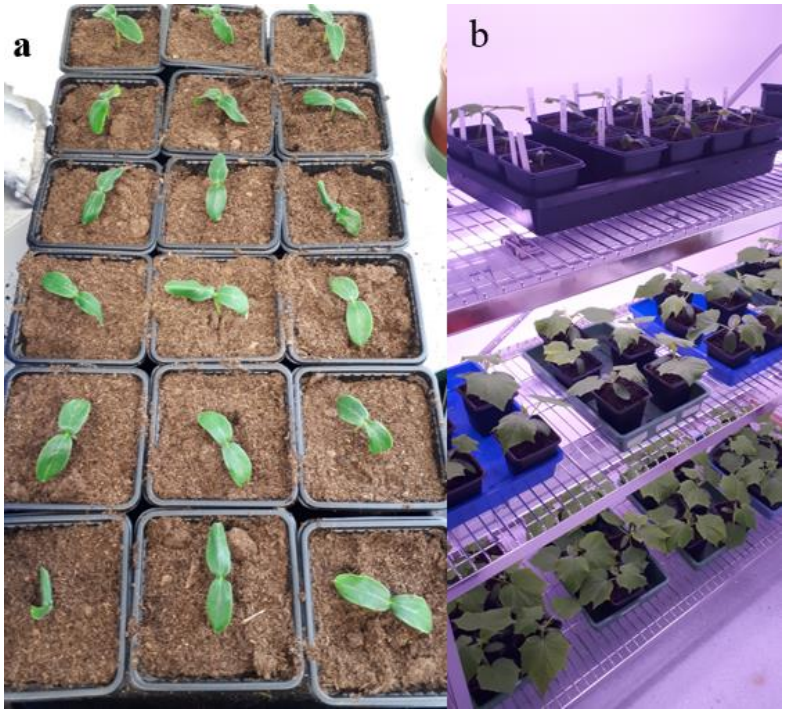
Pripravci na bazi biljnih ekstrakata

Biljke čiji se ekstrakt može koristiti kao ojačivač su poljska preslica, kopriva, buhač, vratić, zob, gavez, hren, rabarbara, kadulja, bazga i druge. Pripravci ovih biljaka na tržištu dolaze u tekućem obliku ili u obliku praha. Preparati u tekućem obliku mogu biti već spremni za uporabu ili ih je potrebno razrijediti s vodom uz odgovarajuću koncentraciju. Za razliku od tekućih, pripravci u obliku praha primjenjuju se kao juha, ekstrakt hladne vode ili kaše. Talogom se može zalijevati ili ga se koristi kao kompost. Čaj se priprema tako da se kipućom vodom prelije određena količina ekstrakta u prahu, prekrije poklopcem 15 minuta te se ostavi da se ohladi. Nakon toga otopina se filtrira kako bi se odvojio talog od tekućine. Za razliku od čaja, za pripremu juhe ekstrakt se potopi vodom na 24 sata, a zatim prokuha. Nakon ključanja otopinu treba ohladiti i procijediti. Također, biljni materijal se može ostaviti u kišnici ili odstajaloj vodi 12 do 24 sata te nakon toga je spremna za upotrebu. Ekstrakt biljke u prahu može se ostaviti u tekućini 10 do 14 dana te se, uz svakodnevno miješanje otopine, može dobiti kaša. Vodena otopina kada se odvoji od taloga, može se razrijediti s vodom i primijeniti. Ekstrakti u prahu koriste se u omjeru i dozaciji prema uputama na deklaraciji, najčešće pet grama na jednu litru vode. S obzirom na širok izbor proizvoda baziranih na raznim supstancama na tržištu, biljni ojačivači kao već poznati pripravci, u praksi nisu čest izbor. Ekološki proizvođači ih koriste ali pripremaju ih sami kod kuće zbog jednostavnosti, lake dostupnosti i ekonomske uštede. S obzirom na razvoj rezistentnosti štetnika, sve manja učinkovitost te zabrane pesticida smanjuju izbor dostupnih kemijskih sredstava. Kao alternativa, u budućnosti će se sve više koristiti ekološki prihvatljiva sredstva (Gama, 2018).

3. Materijali i metode

3.1. Biljni materijal

Hibridno sjeme krastavca "Korinda F1" posijano je u sterilan supstrat. Nakon sedam dana, kao što je prikazano na slici 3.1.1.a, biljke s razvijenim kotiledonima presađivane su u plastične posudice napunjene sa običnim supstratom (Profisubstrat ED 63 T - Einheitserde, Njemačka). Istraživanje je ukupno sadržavalo tri generacije biljaka uzgojenih u razmaku od sedam dana (slika 3.1.1.b). Pokus se sastojao od četiri tretmana po pet biljaka u četiri ponavljanja. Istraživanje je obuhvatilo tretiranje biljaka vodom (kontrola) te vodenom otopinom koprive, običnog vratića i preslice. Prvo tretiranje provedeno je 14 dana nakon sjetve, odnosno sedam dana nakon presađivanja kada je biljka imala razvijen prvi pravi list. U svakom tretmanu tretirano je lice lista.



Slika 3.1.1. Pikirani kotiledoni (a) i tri različite generacije krastavca (b)

Biljke, osim što su tretirane tj. prihranjivane biljnim ekstraktima, redovito su zalijevane običnom vodom te prihranjivane jednom tjedno s otopinom nutrijenata (12 mL/1 L) počevši sedmi dan nakon presađivanja. Sastav otopine nutrijenata sastojao se od više otopina različitih komponenata prikazanih u tablici 3.1.1. Biljke su rasle u komori na 23 ± 1 °C, sa 60 ± 5% vlažnosti te fotoperiodom od 16:8 (svjetlost/tama).

Tablica 3.1.1. Sastav otopine nutrijenata

Otopina nutrijenata	ml/100 l
Kalcijev nitrat ($Ca(NO_3)_2 \times 4H2O$	200
Kalijev sulfat (K_2SO_4)	500
Kalijev dihidrogenfosfat (KH_2PO_4)	10
Magnezijev sulfat ($MgSO_4$)	150
Natrijev dihidrogenfosfat (NaH_2PO_4) × 2H2O	100
Fetrilon ($Fe_6H_5O_7 \times 3H_2O$)	50
Natrijev tetraborat ($Na_2Bo_4O_7 \times 10\ H_2O$)	50
Cink sulfat ($ZnSO_4 \times 7H_2O$)	50
Bakrov sulfat ($CuSO_4 \times 5H_2O$)	50
Mangan klorid ($MnCl_2 \times 4\ H_2O$)	50
Molidben oksid (MoO_3)	20

Izvor: Zavod za zaštitu bilja, Universität für Bodenkultur, 2018

3.2. Održavanje kalifornijskog tripsa u laboratoriju

Za potrebe ovog i mnogih drugih istraživanja, kalifornijski trips uzgaja se u Entomološkom laboratoriju Zavoda za zaštitu bilja na Universität für Bodenkultur u Beču. Zaposlenici laboratorija koriste se tehnikama uzgoja na listu biljke graha (*Phaseolus vulgaris* L., var. 'Taylor's Horticultural') u Petrijevkama te u staklenkama na mahunama graha. Biljke graha uzgajaju se u posebno odvojenoj komori za rast na 23 ± 1 °C i vlagom 60 ± 5% pod kontroliranim uvjetima i bez kemijskog tretiranja. Sakupljene jedinke kalifornijskog tripsa iz zaštićenog prostora umnažaju se u laboratorijskom masovnom uzgoju na odvojenim listovima graha (slika 3.2.1.). Oko sto odraslih ženki odlaže jaja na listu graha u plastičnoj Petrijevci (promjer 14,5 cm) na 1 %-tnom vodenom agaru (Agar, Sigma-Aldrich, Beč). Na poklopcu Petrijevke u sredini je otvor prekriven mrežicom kako bi se osigurala ventilacija. Podnožje i poklopac Petrijevke zatvoren je parafilmom kako bi se spriječilo izlaženje tripsa izvan Petrijevke.



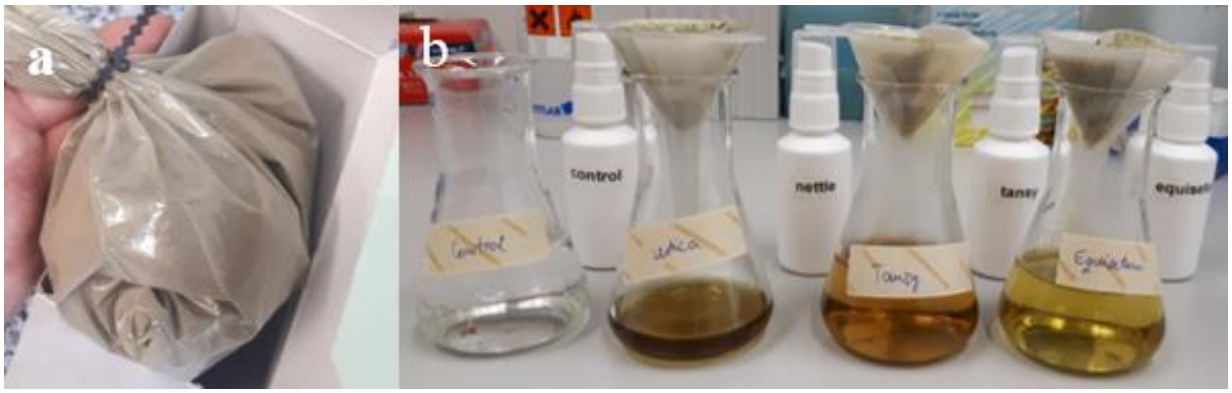
Slika 3.2.1. Održavanje vrste *F. occidentalis* na listu graha

Nakon 24 sata tripsi se uklanjaju iz Petrijeve posudice dok listovi na kojima su odložena jaja ostaju u klima komori do razvoja odraslih oblika. Svaka dva dana tripsi se sakupljaju iz petrijevki ručno napravljenim aspiratorom, a potom stavljaju na nove svježe listove graha. Aspirator se sastoji od staklene bočice sa poklopcem na koji su pričvršćene dvije plastične cijevi. U jednu cijev se ustima usisava zrak, a druga cijev služi za sakupljanje tripsa koji ulaze u staklenu bočicu. Na bijeli papir se istrese sadržaj Petrijevke i aspiratorom se sakupe svi tripsi poput usisavača. Kad se sakupe svi tripsi iz Petrijevke, sadržaj bočice istrese se na novi svježi list graha u novu petrijevku na vodenom agaru. Ukoliko u Petrijevci ima previše tripsa, ostatak koji se ne stavi u novu Petrijevku, stavlja se u staklenke. U staklenkama se tripsi hrane mahunama graha i kuglicama polena koje se redovito mijenjaju i čiste. Kako bi se za potrebe istraživanja dobili odrasli oblici iste starosti, kukuljice tripsa sakupljene su iz uzgoja i prenesene na svježi list željene biljke (u ovom slučaju krastavac) na 1 %-tni vodeni agar u odvojenu Petrijevku. Nakon 24 sata razvijeni odrasli oblici uzimaju se iz Petrijevke i koriste se u pokusu.

Uzgoj tripsa i biološki testovi s tripsima pohranjivani su u klima komorama na 25°C ± 1 °C i 60 ± 5 % relativne vlažnosti sa fotoperiodom od 16:8 (svjetlost/tama).

3.3. Biljni ekstrakti

Za potrebe istraživanja u biotestovima su korišteni biljni ekstrakti kao gotovi proizvodi tvrtke F. Schacht GmbH & Co. KG iz Njemačke. Istraživana je učinkovitost biljnog ekstrakta koprive (*Urtica dioica* L.), običnog vratića (*Tanacetum vulgare* L.) i preslice (*Equisetum arvense* L.*)*. Na tržištu se mogu kupiti u prahu u pakiranju od 200 g (slika 3.3.1.a). Prema uputama na pakiranju, otopina se priprema tako da se u 1 L kipuće vode doda 5 g biljnog ekstrakta u prahu. Nakon 15 minuta otopina se filtrira kroz filtar papir (promjera 90 mm) kako bi se čestice biljnog ekstrakta odvojile od vodene otopine radi lakše i preciznije aplikacije (slika 3.3.1.b). Otopina se stavi u bijelu plastičnu bočicu s pumpicom za tretiranje i spremna je za uporabu. Prije primjene pumpica se tri puta isproba kako bi se utvrdila ispravnost, a nakon toga tretira se svaki list jednim pritiskom pumpice. Broj pritisaka po biljci ovisi o veličini i broju listova biljke kastavaca.



Slika 3.3.1. Biljni ekstrakt u prahu (a) i priprema otopine (b)

3.4. Biotestovi

3.4.1. Biotest izravne toksičnosti na ličinke tripsa

Biotest izravne toksičnosti pokazuje mortalitet ličinki drugog stadija tripsa vrste *F. occidentallis* 24 sata nakon izravnog tretiranja biljnih ekstrakata na ličinke. U Petrijevku promjera 6 cm ulijeva se tanak sloj 1 %-tnog vodenog agara na koji je polegnut uzorak lista krastavca izrezan kružnim bušačem promjera 2,2 cm (slika 3.4.1.). Na njega se, uz pomoć kistića, stavlja pet odraslih ženki kalifornijskog tripsa slučajnim odabirom iz masovnog uzgoja i pokriva se prozirnom kuhinjskom folijom.



Slika 3.4.1.1. Kružni bušač za rezanje uzoraka listova

Nakon 24 sata, odnosno nakon potrebnog vremena za odlaganje jaja, odrasle ženke se uklanjaju. Petrijevke se ponovo prekriju sa prozirnom folijom te se naprave sitne rupice pomoću entomoloških iglica promjera 0,4 mm kako bi se potakla ventilacije zraka i spriječilo zadržavanje vode na stjenkama folije (oko jedna rupica po cm^2). Pripremljene Petrijevke stavljaju se u klima komoru pod već spomenutim uvjetima. Pet dana nakon odloženih jaja razvijaju se ličinke drugog stadija (van Rijn i sur., 1995). Uzorci listova s ličinkama tada se premještaju u petrijevku sa tankim slojem vode (kako bi se zadržala svježina lista) i uz pomoć Potter Spray Tower (slika 3.4.1.2.) (Burkard Manufactoring Co Lt., Rickmansworth, UK) uređaja tretiraju se s 2,5 ml biljnog ekstrakta pripremljenim po prethodno opisanom postupku. Biotest je sadržavao dvije kontrole, jedna kontrolna Petrijevka tretirana je s 2,5 ml vode, a druga nije uopće tretirana.



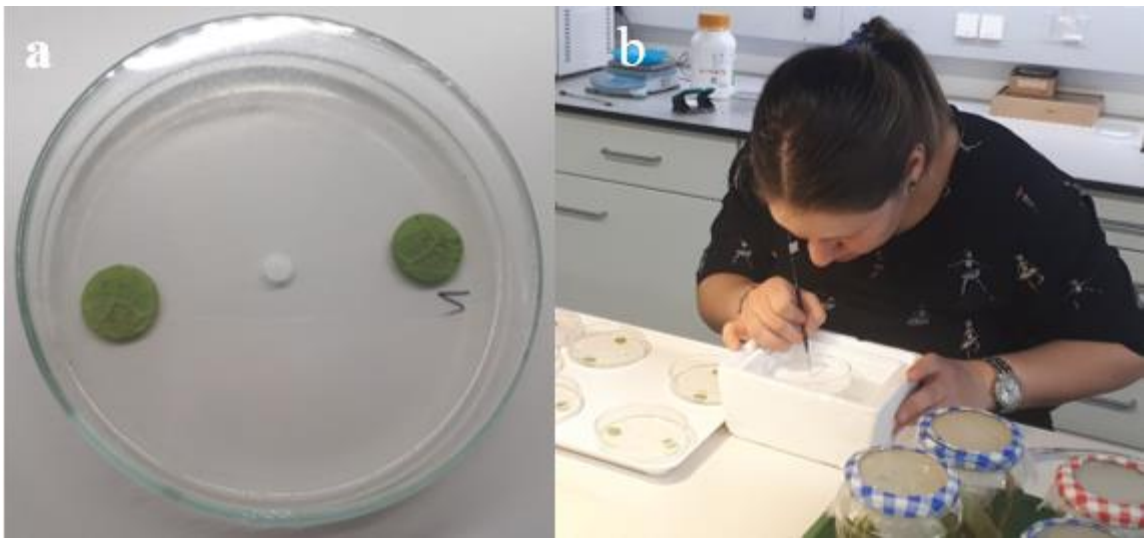
Slika 3.4.1.2. Potter spray tower- uređaj za preciznu primjenu tretmana

Između svakog tretmana Potter Spray Tower ispran je tri puta destiliranom vodom. Sapnica koja proizvodi kapljice manje od 100 μm promjera, što čini maglu, omogućuje ovom uređaju sprejanje precizno izmjerenim dozama i ravnomjerno nanošenje tretmana (u ovom slučaju biljnog ekstrakta) na željenu površinu. Kao rezultat, gustoća otopine na uzorcima listova doseže oko 1 μl/cm² (Matthew, 2000). Nakon tretiranja, uzorci ostaju dvije minute na zraku kako bi se kapljice otopine prihvatile za površinu lista. Nakon toga, uzorci su vraćeni u Petrijevke u kojima su već bili. Broj ličinki utvrđen je na svakom uzorku lista prije tretmana, kako bi se mogao usporediti broj ličinki nakon tretmana. Dvadeset i četiri sata nakon tretmana ponovo je utvrđen broj živih i mrtvih jedinki ličinke drugog stadija vrste *F. occidentalis*. Biotest je sadržavao pet tretmana. Prvi tretman je kontrola (bez tretiranja listova), zatim tretirani uzorci sa vodom, koprivom, preslicom i običnim vratićem. Ukupno je tretirano pet uzoraka po tretmanu u dva ponavljanja, što čini ukupno 10 uzoraka lista s ličinkama po tretmanu.

3.4.2. Preferencije tripsa za ishranu

Za test preferencije ili "choice test" potrebna su dva uzorka lista promjera 1,5 cm. Stavljaju se jedan nasuprot drugog na tanak sloj 1 % vodenog agra u Petrijevku promjera 9 cm. Jedan uzorak lista izrezan je sa kontrolne biljke (koji je sprejan sa vodom) a drugi uzorak lista sa biljke koja je sprejana jednim od biljnih ekstrakta. Razmak između dva uzorka lista mora biti oko 1,5 cm, a između njih (u sredini) postavlja se izrezan kružić filter papira promjera 0,5 cm (slika 3.4.2.1.a). Odrasle jedinke ženki vrste *F. occidentalis* nepoznate starosti, uzete su iz masovnog uzgoja iz staklenke u stiropornu posudu na filter papir postavljen na led, kako bi spriječili odrasle oblike da odlete (slika 3.4.2.1.b). Slučajnim odabirom, deset ženki pomoću

kistića su postavljene u sredinu na filter papir kao početna pozicija. U Petrijevkama pokrivenim sa plastičnom folijom određivan je broj ženki na svakom uzorku lista nakon 15 minuta, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h te 6 h. Jedinke koje se nisu nalazile na listu nisu brojane. Pokus je ponovljen tri puta po tri ponavljanja svakog tretmana. Ukupno je po tretmanu ispitivano 90 ženki tripsa. U svakom ponavljanju korištena je nova generacija biljaka.



Slika 3.4.2.1. Izgled Petrijevke za "choice test" (a) i prikupljanje odraslih ženki (b)
Izvor: Tauer, 2018 (b)

3.4.3. Procjena aktivnosti hranjenja i ovipozicija

Za procjenu aktivnosti i ovipozicije korištene su metode prema Peneder i Koschier (2011). Uzorci različito tretiranih listova izrezani su iz različitih listova biljaka krastavaca promjera 1,6 cm i stavljeni na tanak sloj vodenog agra. Sve odrasle ženke koje se koriste u ovom eksperimentu približno moraju biti starosti 48 do 72 sata nakon razvoja iz faze kukuljice. Iz tog razloga, tri dana prije biotesta zasebno su izolirane kukuljice u posebne Petrijevke na list krastavca. Koristeći podatke koji opisuju trajanje razvojnih faza *F. occidentallis* prema van Rijn i sur. (1995), četvrti dan od razvoja kukuljice je faza razvoja u kojoj je odrasla ženka u razdoblju najveće mogućnosti za ovipoziciju. Nakon što su se kukuljice razvile u odrasle oblike u svaku Petrijevku sa jednim uzorkom lista stavljena je jedna odrasla ženka uz pomoć kistića. Što prije je potrebno Petrijevke zatvoriti sa prozirnom prijanjajućom folijom i držati u klima komori. Nakon 24 sata potrebno je maknuti odrasle oblike i od tog trenutka prestaje hranjenje. Procjenjuje se postotak uništenog lista te broj jaja unutar uzorka lista. Postotak uništenog, odnosno pojedenog lista, ocjenjivan je pod binokularom uz pomoć pokrovnog stakalca sa mrežom kvadratića veličine 0,25 mm^2. Uz pomoć ručnog brojila u obzir je uzet svaki oštećen cijeli ili polovični kvadratić. Na kraju se dobiveni broj pomnoži sa veličinom jednog kvadratića, a kao rezultat se dobije ukupno uništena površina lista. Broj jaja prebrojan je uz pomoć donjeg svijetla binokulara. Biotest je ponovljen tri puta s ukupno 10 uzoraka po tretmanu.

3.4.4. Histološka karakterizacija krastavca

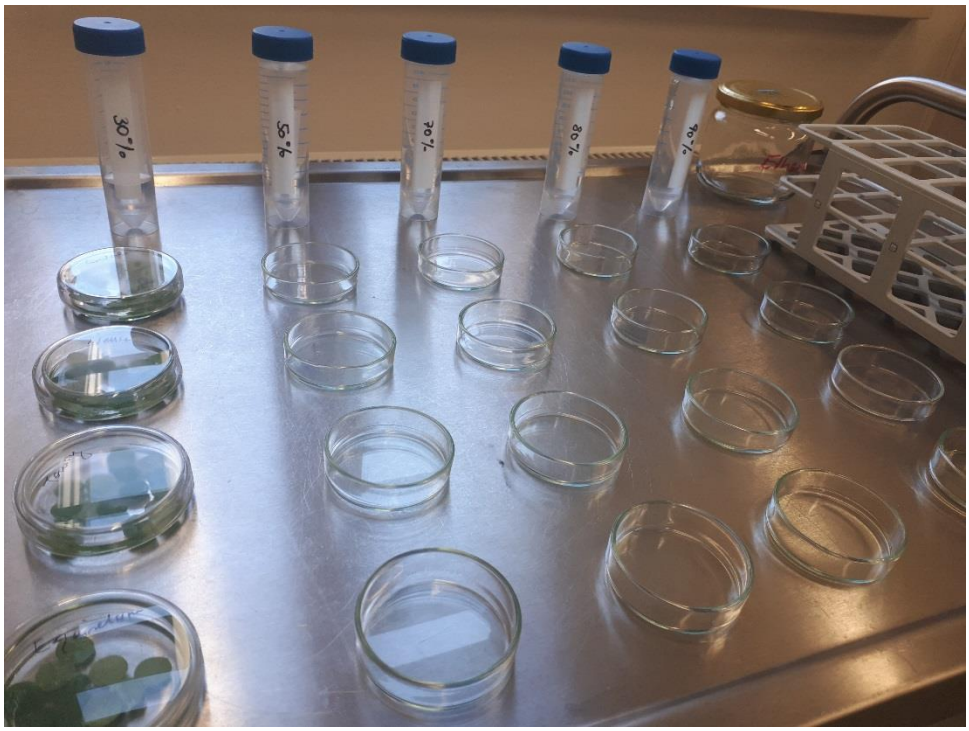
Histološka karakterizacija lista obuhvaća usporedbu debljine gornje epiderme, stanične stijenke te količinu celuloze i kaloze lista krastavca koji su bili izloženi određenim tretmanima Histološka obilježja mjerena su mikroskopijom u laboratorijskom odjelu Univesität für Bodenkultur u Tullnu. Podatci su analizirani u statističkom programu IBM SPSS Statistics verzije 25 (IBM Corporation, 2017).

Uređaj Vibratome (slika 3.4.4.1.a) i Microtome (slika 3.4.4.1.b) korišteni su kako bi se dobili tanki presjeci uzoraka listova. Vibratome-om rezani uzorci korišteni su za mjerenje debljine epiderme i stanične stijenke dok su uzorci rezani Microtome-om korišteni za bojanje stanica kako bi se vidjela količinana pektina, lignina i celuloze u listovima krastavca. Uzorci rezani Vibratome-om pregledavani su mikroskopom pod povećanjem 40× (Axiovert 200M, Yeiss, Austrija) u koji je ugrađena kamera (Axio Cam MRc5, Zeiss, Austrija) a koja je izravno spojena na računalo. Za mjerenje gornje epiderme i stanične stjenke na računalu, korišten je program Axio vision rel- 4.6 (Zeiss, Austrija). Obojeni uzorci rezani Microtome-om pregledavani su uz pomoć mikroskopa pod povećanjem 40× i 100× (BX53, Olympus) i slikani ugrađenom kamerom (XC50, Olympus) koja je izravno spojena na računalo.



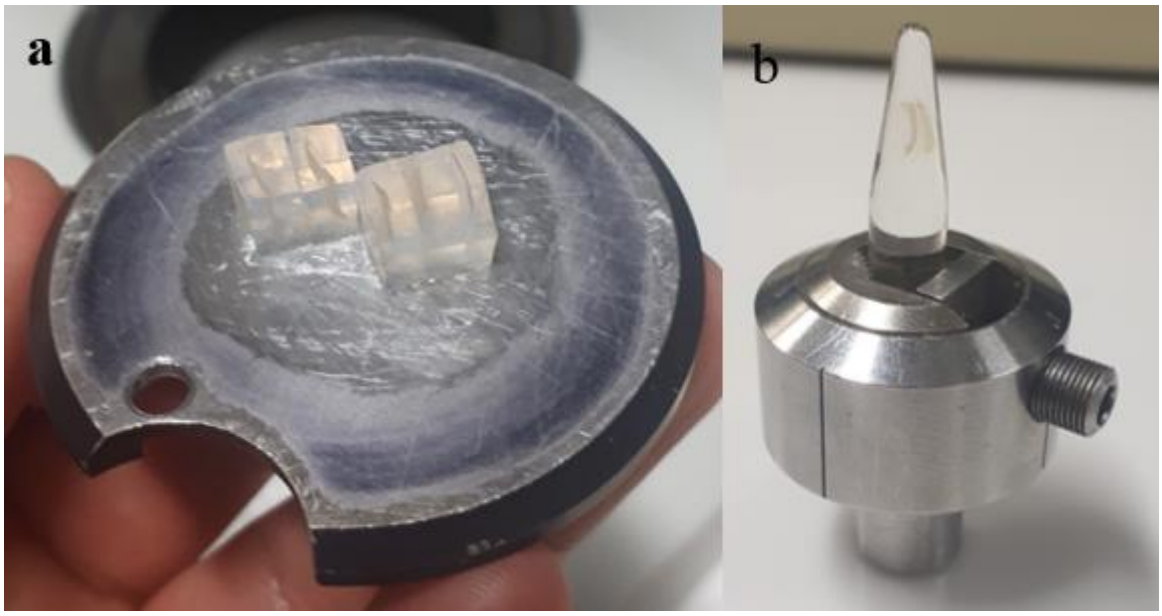
Slika 3.4.4.1. Uređaji za rezanje uzoraka: Vibratome (a) i Microtome (b)

Uzorci listova izrezani su pomoću kružnog cilindra sa biljaka krastavaca te su stajali sat vremena u alkoholu početne koncentracije 30 %, a nakon toga svaki idući sat u koncentracijama 50 %, 70 %, 80 %, 90 % (slika 3.4.4.2.) te na kraju držani sat vremena u alkoholu 99 %-ne koncentracije u hladnjaku.



Slika 3.4.4.2. Priprema uzoraka u alkoholu

Kružni uzorak prerezan je na četiri jednaka dijela te je samo 1/4 uzorka korištena za daljnju pripremu uzoraka za rezanje Vibratome-om. Uzorci 1/4 kružnog uzorka prvo su isprani tri puta po 10 minuta u otopini za fiksaciju koja se sastoji od 63 %-tnog etanola, formaldehida i PBS pufera. Nakon toga uzorci su uranjani u 5 %-tnu agarozu niske točke taljenja (low melting agarose) (Sigma-Aldrich, USA) u laminaru. Uranjana su u svaku kadicu tri uzorka postavljena paralelno jedan sa drugim i okomito na podlogu. Bitna je ista pozicija i ravnina lisnih uzoraka kako bi kasnije bilo lakše napraviti presjek tri uzorka odjednom u istom položaju. Nakon što se agaroza dovoljno zgusnula i ohladila, nožem su izrazani blokovi sa dijelovima gdje se nalaze uzorci. Pravilno izrezani blokovi lijepljeni su na čeličnu podlogu (slika 3.4.4.3.a) koja se uranja u kadicu napunjenu vodom. Iznad bloka se konstruira nož sa platinum oštricom. Nož se pomiče mehanički pomoću gumbova naprijed i natrag. Također, moguće je podesiti brzinu rezanja, jačinu vibracija noža te debljinu rezanja agaroznog bloka, odnosno debljinu presjeka stanične stijenke. Nakon toga, presjeci debljine 20 µm do 25 µm postavljeni su na predmetno stakalce te pod mikroskopom fotografirani pod objektivom povećanja 20×. Na fotografiji na računalu u programu, povučene su linije koje mjere debljinu stanične stijenke te su tako prikupljeni podatci o debljini po pojedinim tretmanima i ponavljanjima. Debljina epiderme mjerena je istim postupkom pod objektivom povećanja 40×.



Slika 3.4.4.3. Priprema uzorka za rezanje Vibratome-om (a) i Microtome-om (b)

Za tehniku rezanja stanične stijenke Microtome-om korišten je uzorak manje lisne površine nego za Vibratome (manji od ¼). Nakon rezanja pomoću skalpela, uzorci su isprani tri puta po 15 minuta u PBS puferu, a nakon toga držani pet dana u otopini paraformaldehid-glutaraldehida (100 mM fosfatnog pufera, 2,2 % paraformaldehid i 2,5 % glutaraldehid) u svrhu fiksacije. Nakon toga uzorci su isprani tri puta u fosfatnom puferu (PBS), a zatim uranjani u 5 %-ni nisko taličan agar u laminaru istim postupkom kao i uzorci za Vibratome. Nakon toga izrezani su blokovi agaroze sa uzorcima koji su zatim dehidrirani 15 minuta u 30 %-tnom alkoholu. Nakon toga svakih idućih 15 minuta u višim koncentracijama (50 %, 70 %, 90% i 96 %). Zatim su blokovi stavljeni u svježe napravljenu fiksativ otopinu paraformaldehid-glutaraldehid i u njoj stajali preko noći u Eppendorf tube zapremnine 5 ml. Sljedeći dan, pripremljeni blokovi učvršćeni su za metalni stalak (3.4.4.3.b) i rezani pomoću Microtome-a (Leica, Ultracut R, Leica, Wetzlar Germany). Microtome je uređaj koji se sastoji od dijamantnog noža te postolja za blokove koji se režu. Na upravljačkoj ploči pritiskom gumbova podešava se brzina kretanja i debljina rezanja bloka. Microtome se razlikuje od Vibratome po tome što se u slučaju Microtome miče blok sa uzorkom listova, a ne nož. Prije rezanja bitno je žiletom odstraniti dio bloka u kojem se ne nalaze uzorci listova u odgovarajuću poziciju za rezanje. Uzorke tanke 2 µm potrebno je obojati kako bi se odredila količinu pektina, lignina i celuloze u listovima. Obojenje je napravljeno prema protokolu autora Sobczak (1996). Za obojenje pektina korišten je Rhutenium Red (Sigma-Aldrich, USA). Uzorci su prvo bili uronjeni/potopljeni 30 minuta u 0,02% Rhutenium Red, a nakon toga isprani destiliranom vodom. Za bojenje celuloze uzorci su držani pet minuta u Anilin Blue (Sigma-Aldrich, USA) te također isprani destiliranom vodom. Lignin je obojan uz pomoć Phloroglucinol (Merck, Dermstadt, Germany).

3.5. Statistička analiza podataka

Podatci su analizirani statističkim programom IBM SPSS Statistics verzije 25 (IBM Corporation, 2017). Normalnost distribucije podataka biotesta izravne toksičnosti na ličinke tripsa utvrđena je Kolmogorov-Smirnov testom. S obzirom da su podatci normalno raspoređeni korištena je Welch ANOVA kako bi se utvrdila razlika u mortalitetu između tretmana. Kolmogorov-Smirnov testom određena je normalnost distribucije podataka biotesta preferencije tripsa za ishranu. Kod neovisne uzorke korišten je T-test a za ovisne uzorke Wilcoxon Signed Ranks test. Homogenost varijanti biotesta aktivnosti hranjena, ovipozicije, debljine stanične stijenke i epiderme lista korišten je Levene test. Nehomogeni podatci računati su pomoću ANOVA testa, a zatim pomoću post hoc Bonferroni testa.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Biotest izravne toksičnosti na ličinke tripsa

Za razvoj drugog stadija ličinke kalifornijskog tripsa (korištene u ovom biotestu) od stadija jaja, potrebno je ukupno 5 dana. Dobiven rezultat potvrđuje istraživanje Van Rijn i sur. (1995), kojim je precizno izračunato da je od stadija jaja do drugog stadija ličinke potrebno 4,98 ± 0,56 dana dok Zhang i sur. (2007) tvrde da je potrebno 4,38 ± 0,11 dana.

Postotak mortaliteta izračunat je pomoću poznatih podataka o broju ličinki prije i poslije tretmana. Kolmogorov-Smirnov testom utvrđena je signifikantna razlika u distribuciji podataka ($p<0,05$), odnosno podatci nisu normalno raspoređeni. Levene test ($t=3,525$, $p=0,14$) pokazuje signifikantnu razliku što pokazuje nehomogonost u varijanti. Welch's ANOVA rezultati su pokazali da nema signifikantne razlike u prosječnom postotku mortaliteta između tretmana u ovom pokusu. Takav ishod je bio očekivan s obzirom da biljni ekstrakti nemaju toksičan učinak na ličinke tripsa. Navedeno potvrđuje i objašnjava razliku između biljnih ojačivača i zaštitnih sredstava (BVL, 2018).

Ako se usporedi postotak mortaliteta ličinki vidljiv u tablici 4.1.1., ličinke koje su tretirane vodom (3,64 %) i one koje nisu uopće tretirane (9,04 %), vidljivo je da je veći postotak mortaliteta nakon tretmana vodom što ukazuje da prilikom tretmana ipak neznatan postotak ličinki ugine, ali uz statističku nesignifikantnost. Isti postotak mortaliteta nakon tretiranja vodom može se usporediti s tretiranjem koprivom (3,08 %) i običnim vratićem (3,47 %). Chiasson i sur. (2001) istraživali su toksičnost ekstrakta esencijalnog ulja iz biljke običnog vratića na grinju *Tetranychus urticae* Koch. Potvrđuju kako ekstrakt ulja običnog vratića (koji se djelomično nalazi u ekstraktu korištenom u ovom istraživanju) ima direktan akaricidni toksičan učinak.

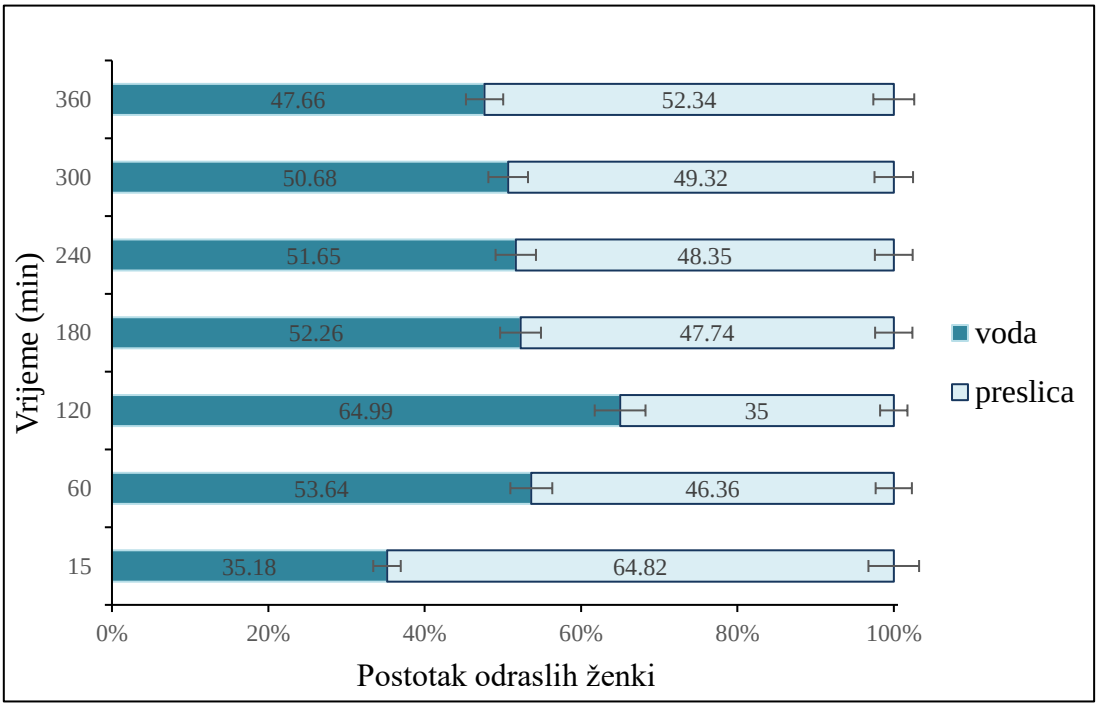
Također, iako je razlika statistički nesignifikantna, iz tablice je vidljivo najveće odstupanje od svih tretmana u slučaju tretiranja ekstrakta preslice (11,63 %). U tablici 4.1.1. su prikazani podatci o stvarnoj aritmetičnoj sredini dok je statistički program računao procijenjene aritmetičke sredine. Statistički neutvđeno, može se pretpostaviti da je preslica najsmrtonosnija za ličinke tripsa.

Tabica 4.1.1. Postotak mortaliteta ličinke drugog stadija tripsa *F. occidentalis* 24h nakon tretmana (bez tretmana, voda, preslica, kopriva i obični vratić)

Treatman	Aritmetička sredina (%)	±	Standardna pogreška
1. Bez tretmana	9,04		4,98
2. Voda	3,64		1,67
3. Preslica	11,63		5,3
4. Kopriva	3,08		2,13
5. Obični vratić	3,47		1,53

4.2. Preferencije tripsa za ishranu

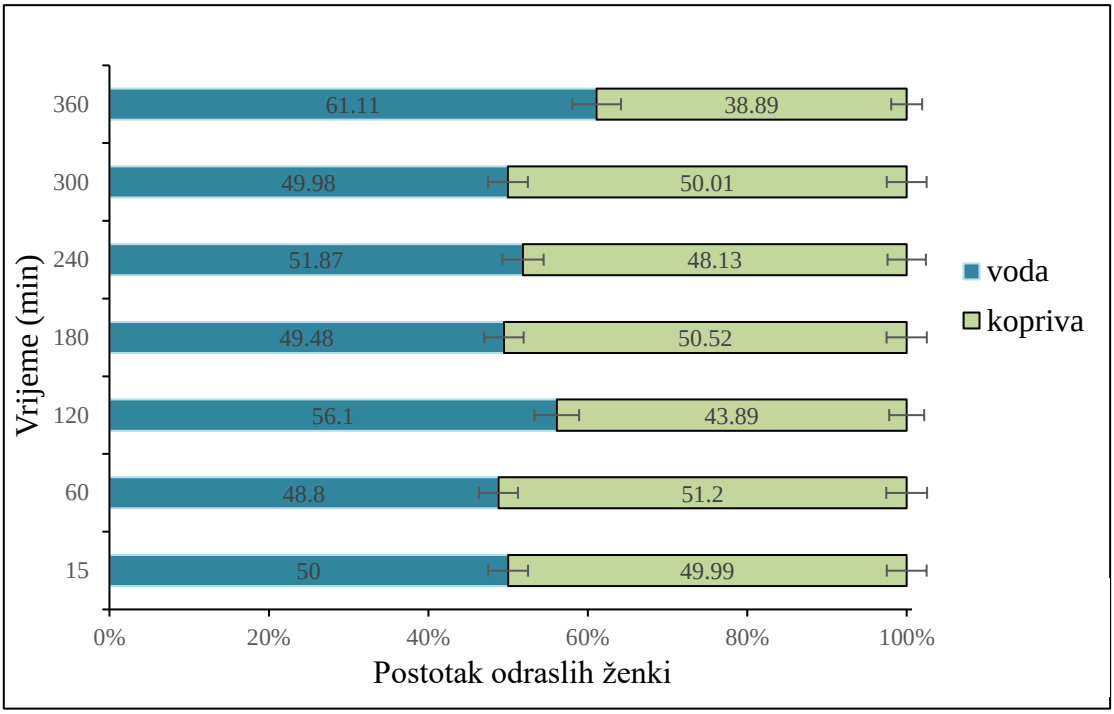
Odabir prostora ženki vrste *F. occidentalis* praćeno je unutar šest sati, ispočetka 15 min, 30 min te svakih sat vremena. Uz pomoć određenog broja tripsa na tretiranom uzorku lista biljnim ekstraktom i uzorka lista tretiranog vodom, izračunata je aritmetička sredina u postotcima navedenim na slici 4.2.1. Na slici je vidljivo koliki je postotak tripsa izabrao list tretiran preslicom u odnosu na list tretiran vodom. Prema Kolmogorov-Smirnovom testu nema signifikantne razlike u aritmetičkim sredinama između ove dvije varijable uspoređujući ih unutar 6 h, odnosno, podatci su normalno raspoređeni bez odstupanja u varijablama. Iako je na prvi pogled vidljivo odstupanje u 15-oj i 120-oj minuti, ta se odstupanja podudaraju približno istim omjerom suprotnim odabirom. U 15-oj minuti trips odabire list tretiran preslicom (64,82 %) dok u 120-minuti odabire list tretiran vodom (64,99 %). Vidljivo je da ženke istražuju prostor, no nema odstupanja u odabiru jednog ili drugog lista. Ženke jednako preferiraju oba tretmana.



Slika 4.2.1. Odnos broja ženki (%) na listu tretiranom vodom i na listu tretiranom preslicom unutar 6 h

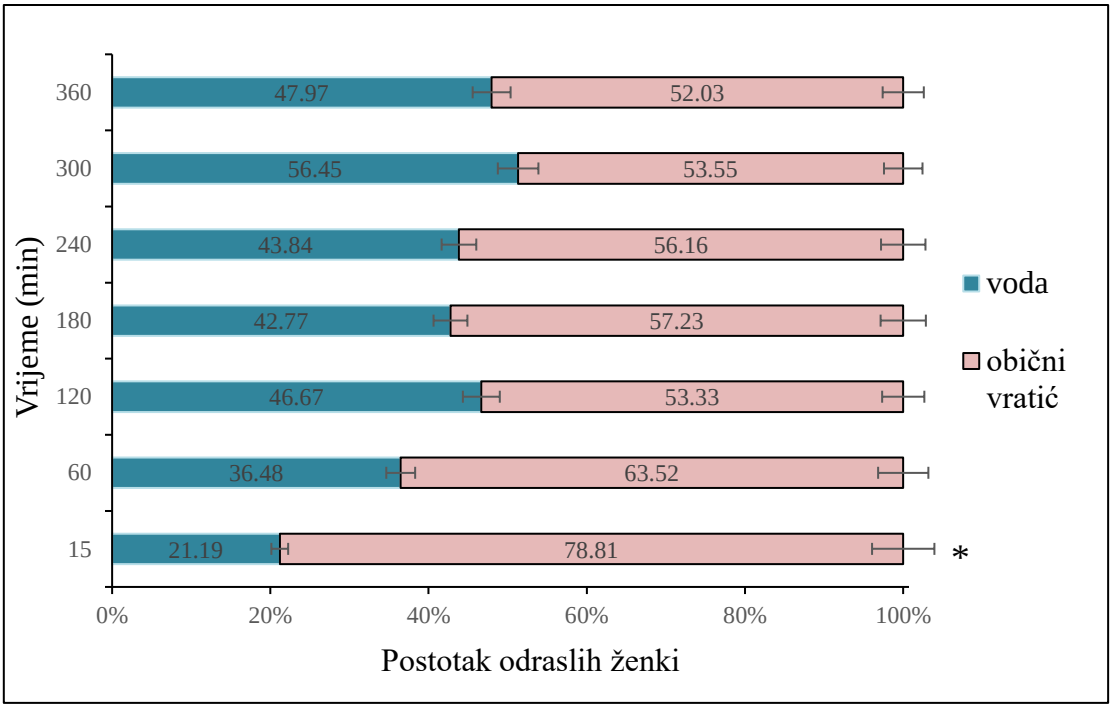
Međutim, u slučaju biljnog ekstrakta koprive nije ista situacija. Kolmogorov-Smirnov test pokazuje kako je jedina signifikantna razlika u distribuciji varijabla ($p<0,05$) izražena u 360-toj minuti nakon stavljanja tripsa između dva uzorka lista, u odnosu na ostale minute. Navedeno dokazuje da distribucija varijabli (u ovom slučaju ženke tripsa) nisu normalno distribuirane te postoje odstupanja u 360-oj minuti. Dva nezavisna uzorka (u 360-oj minuti) računata su neparametrijskim testom (razlika u frekvenciji varijabli) Wilcoxon, koji se koristi umjesto t-testa. Ovaj test koristi sumu rangova i njime se testira pripadaju li dva uzorka u populaciji istoj centralnoj vrijednosti (medijana). Izračunom se dobije t= -1,65. Budući da se jedino rezultate koji su veći od 1,96 može smatrati statistički značajnim, odbacuje se nulta

hipoteza. Test je pokazao da nema signifikantne razlike (p=0,098) za ovaj odnos aritmetičkih sredina u 360-oj minuti. Na slici 4.2.2. je vidljivo da ženke u prvih 300 minuta podjednako odabiru listove tretirane vodom i koprivom uz vrlo mala odstupanja u 360-oj minuti kada više odabiru list tretiran vodom uz statistički nesignifakntnu razliku.



Slika 4.2.2. Odnos broja ženki (%) na listu tretiranom vodom i na listu tretiranom koprivom unutar 6 h

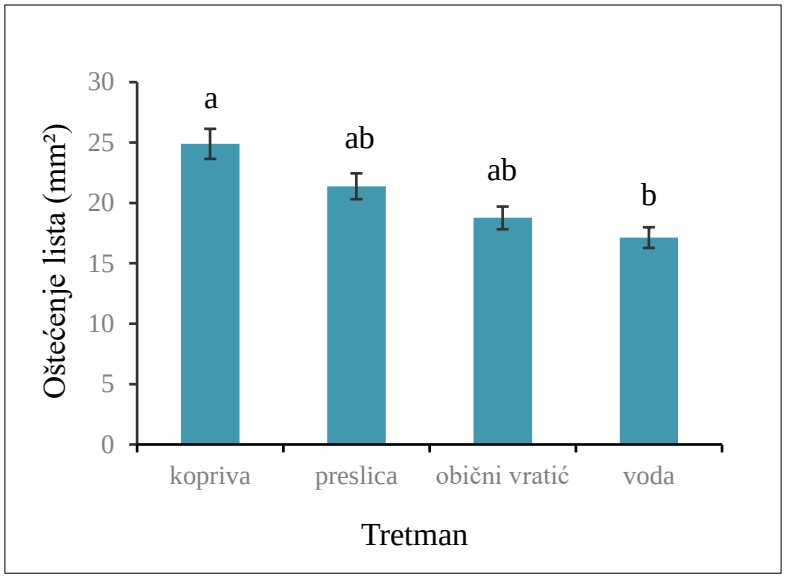
Uspoređujući postotke tripsa u tretmanima običnim vratićem unutar vremenskog ograničenja od 6 h, Kolmogorov-Smirnov test pokazao da normalnost distribucije nije izražena samo u 60-oj minuti (p=0,012). Za tu vrijednost, Wilcoxon test je pokazao da nema signifikantne razlike. T-test-om je dobiven rezultat o siginifikantnoj razlici u 15-oj minuti (p=0,01), što se može izvrsno uočiti iz grafa 4.2.3. Naime, u 15-oj minuti 78,81 % ženke tripsa odabiru list tretiran običnim vratićem dok se u 60-oj minuti smanjuje na 63,52 % ženki. Očito je da pri istraživanju novog prostora ženke tripsa privlače listovi tretirani običnim vratićem dok je u kasnijim minutama broj ipak bio podjednak na oba tretmana.



Slika 4.2.3. Odnos broja ženki (%) na listu tretiranom vodom i na listu tretiranom običnim vratićem unutar 6 h

4.3. Procjena aktivnosti hranjenja i ovipozicija

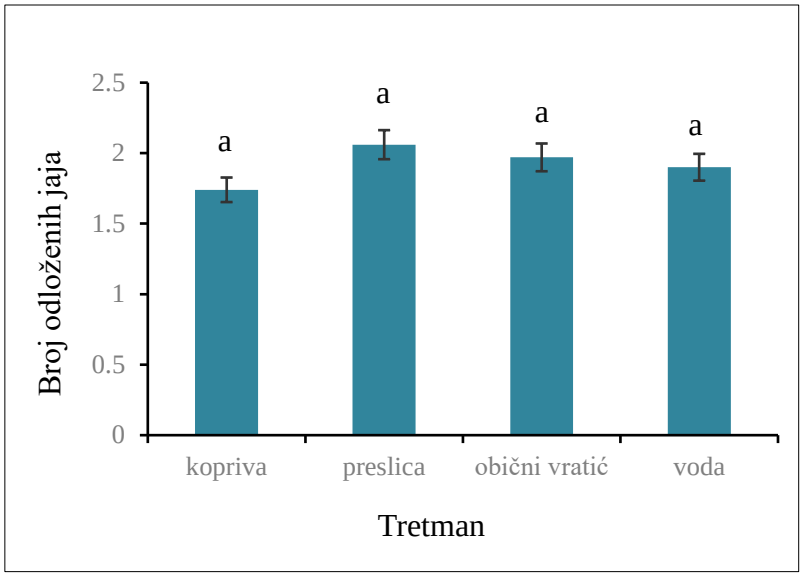
Procjena aktivnosti ishrane može se izračunati uz pomoć procjene oštećenog uzorka lista 24 sata nakon hranjenja odrasle ženke kalifornijskog tripsa. Površina cijelog kruga iznosila je 201,06 mm². Izračun ANOVA-e pokazao je da postoji statistička razlika između tretmana ($p=0,010$, $p<0,05$). Pomoću Bonferroni post hoc testa utvrđeno je da je najveće odstupanje u oštećenju uzorka lista izmedu tretiranja vodom i koprivom, što je vrlo jasno vidljivo sa slike 4.3.1. Odnosno, u provedenom pokusu dokazano je da su se odrasle ženke kalifornijskog tripsa unutar 24 sata najviše hranile na listu koji je bio tretiran biljnim ekstraktom koprive uspoređujući s onim ženkama koje su se hranile na listu koji je bio prskan vodom. Najveća površina oštećenog uzorka lista bila je onog koji je tretiran koprivom (25 mm²) dok je najmanja površina oštećenog uzorka lista tretiranog vodom (17 mm²). Površina oštećenog uzorka lista tretiranog preslicom (21 mm²) i običnim vratićem (18 mm²) približno su jednakih vrijednosti. Iz provedenog pokusa zaključuje se kako se odrasli oblici tripsa preferiraju hraniti na listovima bogatim hranjivima koji su u ovom slučaju bili čvršći, tamniji i bogatiji nakon tretmana biljnim ekstraktima.



Slika 4.3.1. Ishrana odrasle ženke *F. occidentalis* u mm² na tretiranim listovima

Za razliku od uobičajene ovipozicije ženke kalifornijskog tripsa na listu krastavca, koja iznosi 4,1 ± 0,27 (van Rijn i sur., 1995), odnosno 4,00 ± 0,77 (Koschier i sur., 2007), prosječan broj jaja u ovom istraživanju je dvostruko manji (oko 2 jaja). S obzirom da je broj jaja približan na kontrolnim i tretiranim listovima krastavca, nije moguće utvrditi da je ovipozicija manja u slučaju tretiranja biljnim ojačivačima.

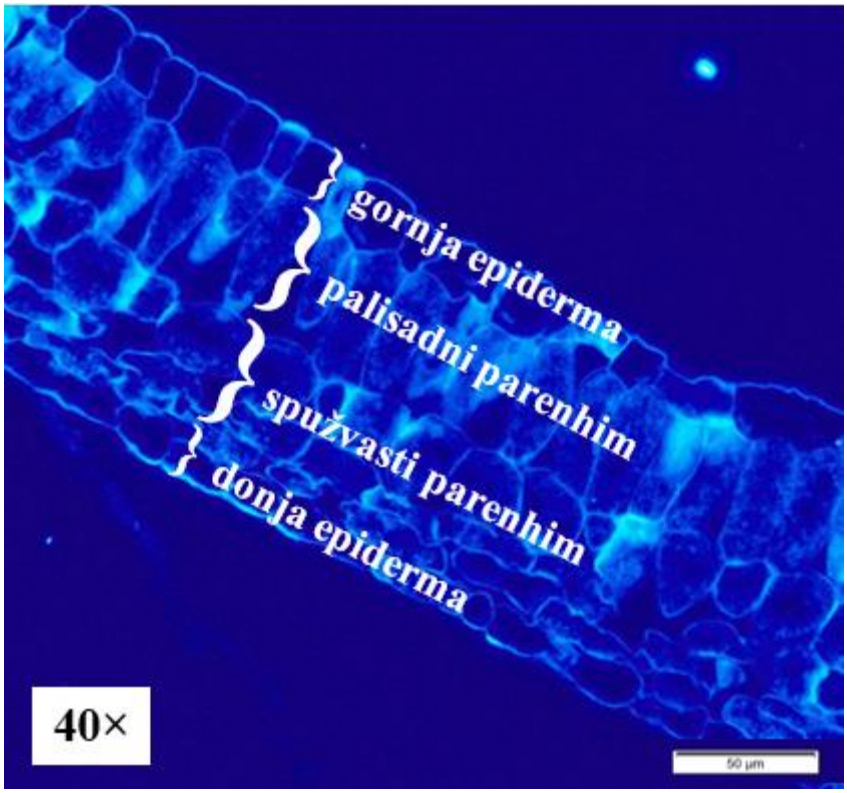
Levene test pokazao je kako nema signifikantne razlike (t=0,159, p=0,923) u homogenosti podataka o odlaganju jaja unutar uzorka lista u niti jednom tretmanu. Bonferroni post hoc test pokazao je da također nema signifikantne razlike između odlaganja jaja u tretiranim listovima što se može jasno zaključiti iz slike 4.3.2. Navedeno bi značilo da ženka vrste *Frankliniella occidentalis* odlaže jednaki broj jaja u bilo koji od navedenih listova u bilo kojem tretmanu. Prosječno je po listu krastavca vidljivo da je najmanji broj jaja bio u list tretiran koprivom, uz statistički nesignifikantnu razliku, što je zanimljiv podatak s obzirom da je tretman koprivom više potaknuo ishranu ženki.



Slika 4.3.2. Ovipozicija ženke tripsa vrste *F. occidentalis* u uzorak lista različitih tretmana

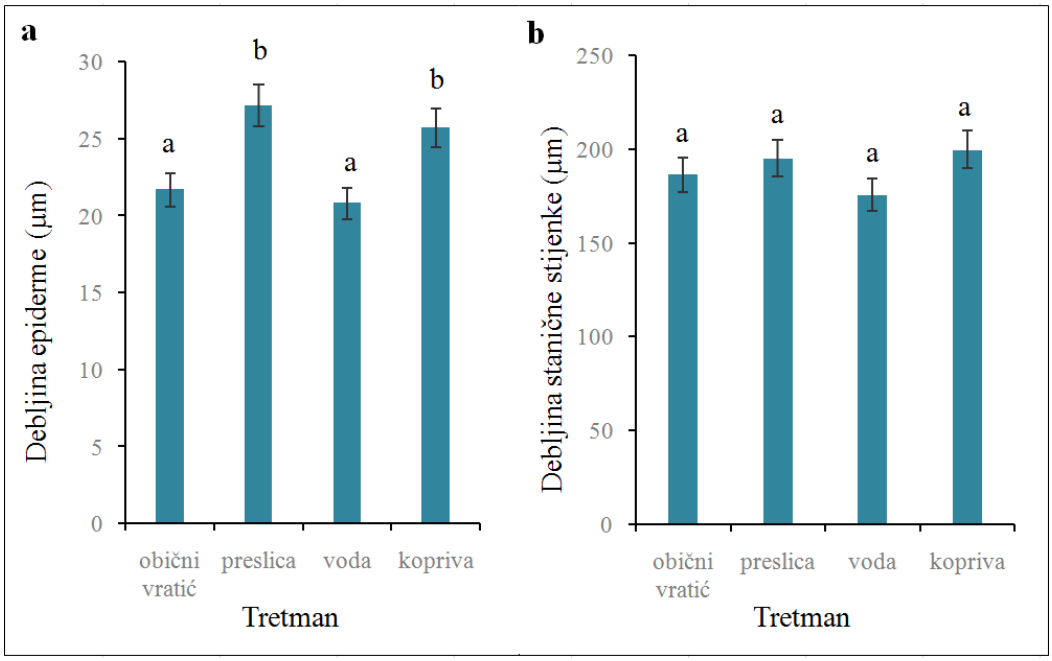
4.4. Histološka karakterizacija lista krastavca

Provedenim Levene testom utvđeno je da nema signifikantne razlike u homogenosti između varijabli. ANOVA test je pokazao da postoji signifikantna razlika (p=0,000) između debljine epiderme tretiranih listova krastavaca. Poznato je da epiderma, prikazana na slici 4.4.1., štiti tkivo lista od mehaničkog oštećenja i ulaska mikroorganizama koji mogu biti potencijalno uzrokovati slabljenje biljke (Beck, 2005.; Evert, 2006.). Čvrstoća lista utječe na prodiranje usnih organa štetnika, osobito onih koji se hrane usnim organom za bodenje i sisanje.



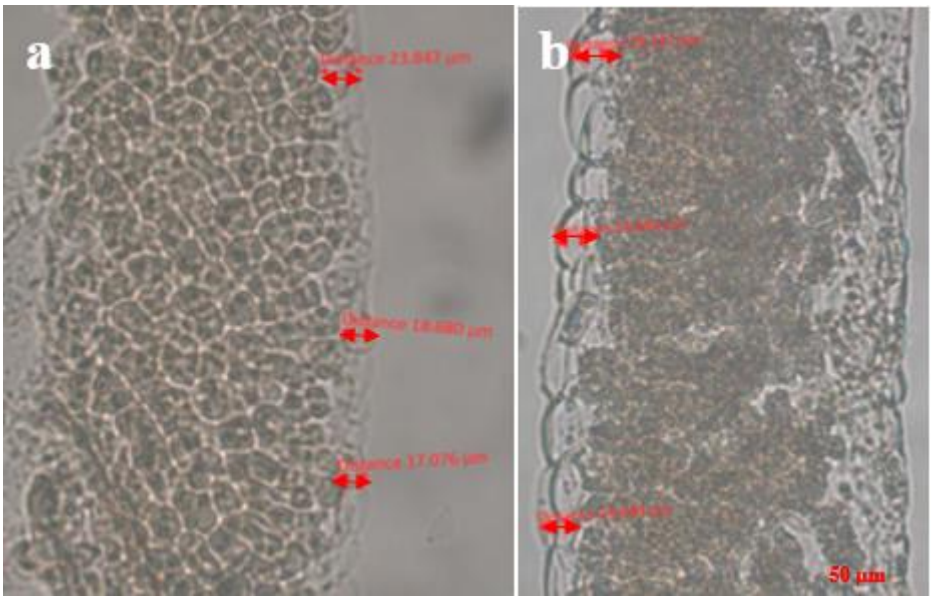
Slika 4.4.1. Prikaz popriječnog presijeka lista krastavca debljine 2 µm obojan Calcofluorom i fotografiran uz 40× sa UV filterom

Na slici 4.4.2.a je vidljivo da gornja epiderma lista tretiranog vodom (20,81 µm) i otopinom običnog vratića (21,70 µm) tanja od epiderme lista tretiranog preslicom (27,17 µm) i koprivom (25,72 µm). Na slici 4.4.3. vizualno se može odrediti razlika u debljini epiderme između dvije najveće i dvije najmanje vrijednosti u ovom pokusu. Najtanju epidermu imao je list tretiran vodom (slika 4.4.3.a), odnosno kontrola, a najdeblju epidermu list tretiran preslicom (slika 4.4.3.b).



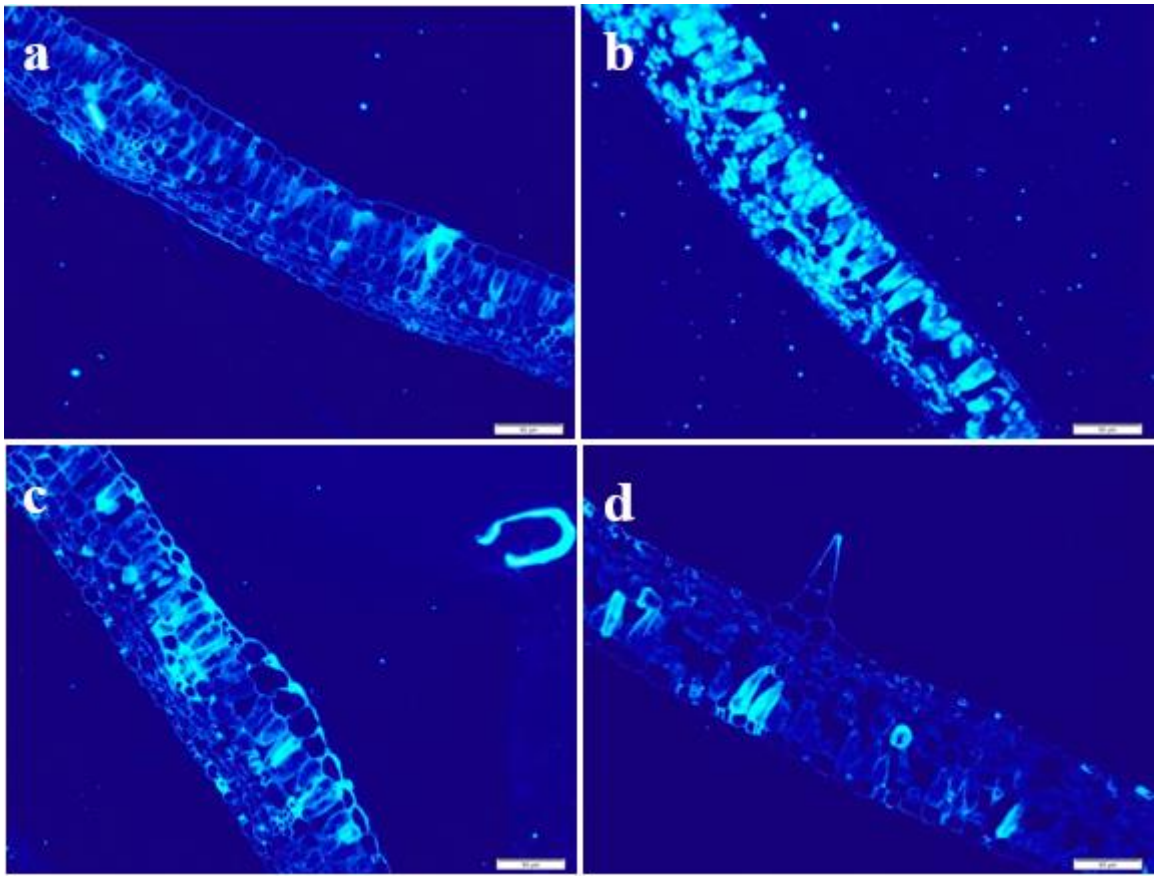
Slika 4.4.2. Debljina epiderme (a) i stanične stijenke (b) tretiranih listova krastavca

Kao što je vidljivo sa slike 4.4.2.b, rezultati nisu pokazali statističku razliku između debljine stanične stijenke listova krastavca tretiranih biljnim ekstraktima u odnosu na vodu. Debljina stanične stijenke podjednaka je u svim tretmanima. Stanična stijenka daje mehaničku čvrstoću biljci, održava oblik stanice, kontrolira ekspanziju stanice, regulira trasport te pruža zaštitu. Također, ima funkciju u signalnim procesima i skladištenju hrane (Dashek i Miglani, 2017). Stoga je bitno da stanična stijenka bude što deblja i bogatija.



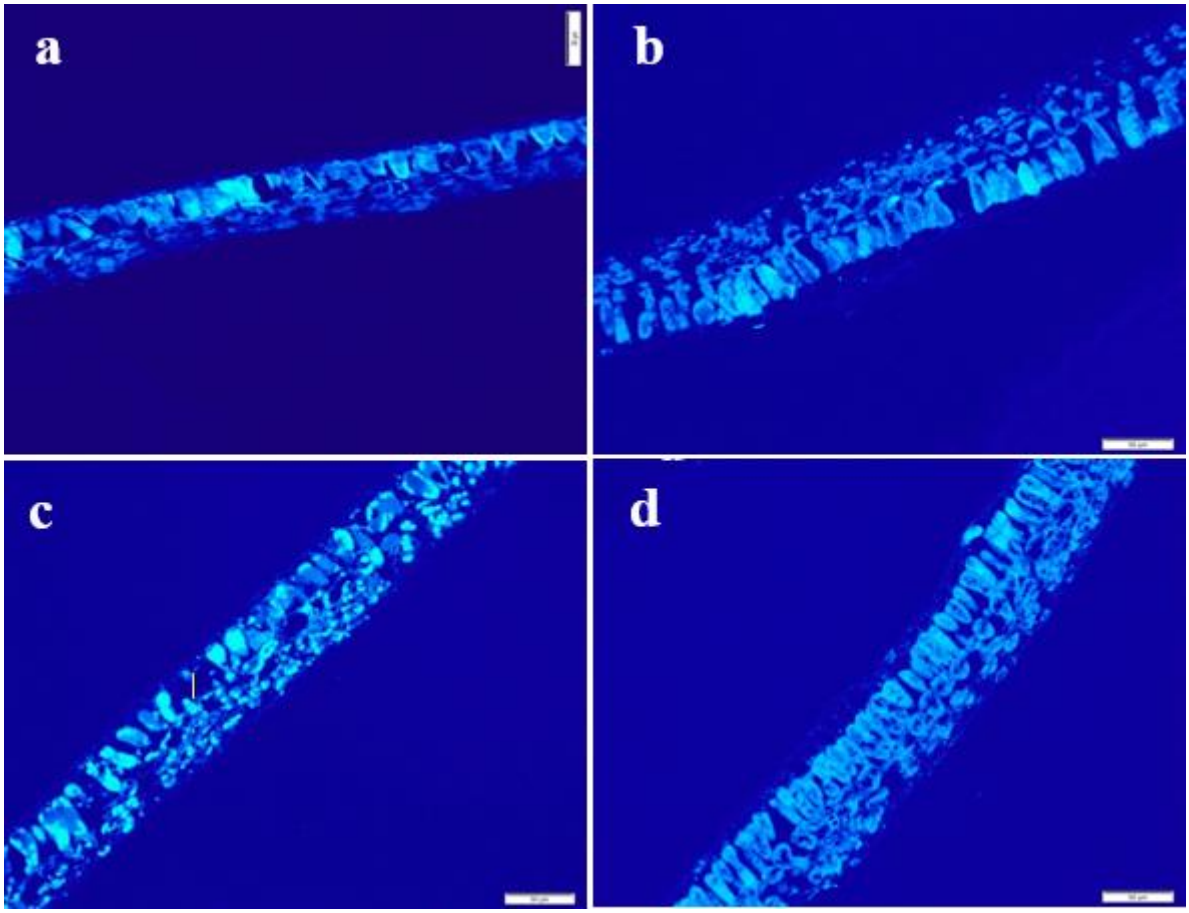
Slika 4.4.3. Razlika između debljine epiderme stanične stijenke listra krastavca izloženog tretmanima: voda(a) i preslica (b). Slikano pod povećanjem binokulara 40×

Kako bi se vizualizirala kemijska struktura stanične stijenke, uzorci su bojani Calcofluorom (za celulozu) i Aniline Blue-om (za kalozu). Na slici 4.4.4. može se vidjeti količina celuloze u stanicama lista krastavca izloženog različitim tretmanima. Količina celuloze prikazana je svijetlijim dijelovima stanice koji su pod UV svijetlom nakon bojanja Calcofluorom uzrokovali fluorescenciju.. Na slici je vidljivo kako stanice lista koje su bile izložene tretmanima imaju jasnije izražene stanice i više svijetlijih stanica od onih tretiranih vodom. Slobodnom procjenom može se zaključiti kako stanice lista tretiranog običnim vratićem imaju najviše celuloze u sebi (slika 4.4.4.b), potom stanična stijenka tretirana preslicom (slika 4.4.4.c), a zatim koprivom (slika 4.4.4.a). Stanična stijenka lista koji je tretiran koprivom ima najjasnije izražene i raspoređene stanice. Međutim, uzme li se u obzir pogreška tijekom pripremanja uzoraka, ne može se sa sigurnošću reći razlikuje li se jedna stanična stijenka više od druge u tretmanima, ali se može zaključiti da listovi izloženi tretmanima imaju jasnije izražene i bolje raspoređene stanice unutar stanične stijenke.



Slika 4.4.4. Vizualizacija celuloze u stanicama lista koprive izloženih tretmanima: kopriva (a), obični vratić (b), preslica (c), voda (d)

U svrhu vizualizacije kaloze u stanicama, stanična stijenka lista krastavca bojana je Anilin Blue-om koji je također pod UV svjetlom izazvao fluorescenciju. Na slici 4.4.5. je vidljivo kako kaloza više ispunjava stanice nego što se nalazi na rubnim dijelovima unutar stanične stijenke, kao što je slučaj kod celuloze. Kaloza se sastoji od polisaharidnih tvorevina koja u floemu poput čepa sprečava transport kako materijala tako i infekcije kroz biljku (Levy i Epel, 2009). Na slikama se može uočiti da najviše kaloze imaju stanične stijenke listova koje su bile izložene tretmanima. Slobodnom procjenom, iz priložene slike, opaža se kako list tretiran vodom (slika 4.4.5.a) ima najmanje bijelo obojenih stanica. Isto tako, vidi se da je ona u ovom slučaju i najtanja te iz tog razloga nije moguće procijeniti da postoji signifakntna razlika.



Slika 4.4.5. Vizualizacija kaloze u stanicama lista krastavca izloženog tretmanima: voda (a), preslica (b), obični vratić (c) i kopriva (d)

5. Zaključci

Temeljem rezultata provedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- Biljni ekstrakti koprive, običnog vratića i preslice nemaju izravan utjecaj na mortalitet ličinki drugog stadija kalifornijskog tripsa.

- Kod odabira odraslog oblika tripsa, unutar šest sati, između uzorka lista tretiranog vodom, ekstraktom koprive i preslice nema signifikantne razlike. U odabiru između lista tretiranog vodom i ekstraktom običnog vratića signifikantna razlika utvrđena u 15-oj minuti nakon davanja mogućnosti izbora.

- Najveće oštećenje ishranom kalifornijskog tripsa utvrđeno je na listovima tretiranim biljnim ektraktom koprive a najmanje na listovima tretiranim vodom. Količina oštećenja lista tretiranog ekstraktom običnog vratića i preslice podjednakih je vrijednosti.

- Primjena biljnih ekstrakata (kopriva, obični vratić i preslica) na biljku krastavca nije rezultirala razlikom u debljini stanične stijenke listova krastavca niti u ovipoziciji ženki kalifornijskog tripsa.

- Listovi krastavca tretirani biljnim ekstraktom koprive i preslice imaju značajno deblju epidermu u odnosu na listove krastavca tretiranih ostalim tretmanima.

- Primjena biljnog ekstakta preslice pokazala se kao najučinkovitiji biljni ojačivač s obzirom da tretirani listovi imaju značajno najdeblju epidermu lista od ostalih tretmana, a nema značajno najveću količinu oštećenog biljnog tkiva uzrokovanu ishranom kalifornijskog tripsa.

- Nema razlike u sadržaju kaloze između tretiranih listova. List krastavca tretiran ekstraktom običnog vratića ima vizualno veći sadržaj celuloze od listova tretiranih vodom, biljnim ekstraktom koprive i preslice.

- S obzirom da biljni ojačivači nemaju izravan toksični učinak na ličinke, ne odbijaju odrasle oblike od ishrane i ne privlače tretirane listove u odnosu na netretirane listove krastavca, biljni ojačivači ne mogu se smatrati kao direktno učinkovito sredstvo za zaštitu bilja.

- Primjena biljnih ojačivača u praksi iznimno je važna kao alternativna (preventivna) mogućnost suzbijanja ovog štetnika jer zbog rezistentnosti na većinu aktivnih tvari, kurativne metode nisu učinkovite.

6. Popis literature

1. Beck C.B. (2005). An introduction to Plant structure and development. Cambridge University Press. Cambridge.
2. Berlinger M.J., Leubish-Mordechi S., Fridja D., Mor N. (1993). The effects of types of greenhouse screens on the presence of western flower thrips: a preliminary study. International Organisation of Biological Control. West Palaearctic Regional Section Bulletin [online] 16(2), 13-16 https://www.iobc-wprs.org/pub/index.html#bulletin - pristup 16.06.2019.
3. Brødsgaard H. F. (1993). Colored sticky traps for thrips (Thysanoptera: Thripidae) monitoring on glasshouse cucumbers. International Organisation for Biological and Integrated Control. West Palaearctic Regional Section. Bulletin. [online] 16(2). 19-22 https://www.iobc-wprs.org/pub/index.html#bulletin - pristup 16.06.2019.
4. BVL (2018). Bundesamt für Verbraucherschaty und Lebensmittelsicherheit. http://www.bvl.bund.de/EN/04_PlantProtectionProducts/03_PlantResistanceImproversAndAdjuvants/01_PlantStrengtheners/PlantProtectionProducts_PlantStrengtheners_node.html - pristup 25.04.2018.
5. Calvo P., Nelson L., Kloepper J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and Soil 383: 3-41. doi: 10.1007/s11104-014-2131-8 [online] https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11104-014-2131-8.pdf - pristup 21.05.2018.
6. Chiasson H., Belanger A., Bostanian N., Vincent C., Poliquin A. (2001). Acaricidal Properties of Artemisia absinthium and Tanaceum vulgare (Asteraceae) Essential Oils Obtained by Three Methods of Extraction. Journal of economic entomology. 94(1): 167-71. doi: 10.1603/0022-0493-94.1.167 [online] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11233109 - pristup 16.07.2019.
7. Cluever J.D., Smith H. A., Funderburk J.E., Frantz G. (2015). Western Flower Thrips (*Frankliniella occidentalis* [Pergande]). Entomology and Nematology Department. IFAS Extention. University of Florida. ENY-883: 2-6.
8. Dashek W. V., Miglani G.S. (2017). Plant Cells and their Organelles. Poglavlje 1: An introduction to cells and their organelles. [online] 1-5, https://media.wiley.com/product_data/excerpt/61/04709768/0470976861-1.pdf. - pristup 26.06.2018.
9. Duke J. A., Bogenschutz-Godwin M. J., duCellier J., Duke P.-A. K. (2002). CRC Handbook of medicinal herbs, drugo izdanje. CRC Press LLC. [online]. https://inspiredbyhilde.com/wp-content/uploads/2017/07/Handbook-of-medicinal-herbs-2ed-2002-Duke.pdf. – pristup 16.07.2019.
10. DZS (2019). Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. https://www.dzs.hr – pristup 19.01.2019.
11. Emden van H. F. (2013). Handbook of agricultural entomology. Wiley-Blackwell. UK. 108-109.
12. EPPO (2019). European and Mediterranean Plant Protection Organization. https://www.eppo.int/. – pristup 19.01.2019.
13. Evert R.F. (2006). Esaus Pflanzenanatomie. De Gruyter, Berlin, Germany.

14. EZ (2009). Uredba br1107/2009 Europskog parlamenta i vijeća o stavljanju na tržište sredstva za zaštitu bilja i stavljanja izvan snage direktiva Vijeća 79/117/EEZ i 91/414/EEZ. https://eur-lex.europa.eu/ - pristup 21.05.2018.
15. FIS (2019). Fitosanitarni informacijski sustav. Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja. https://fis.mps.hr/trazilicaszb/ - pristup 03.09.2019
16. Fofana B., McNally D. J., Labbé C., Boulanger R., Benhamou N., Séguin A., Bélanger R. R. (2002). Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with the induction of chalcone synthase and chalcone isomerase. Physiological and Molecular Plant Pathology [online] 61, 121-132. https://doi.org/10.1006/pmpp.2002.0420 - pristup 11.07.2019
17. Gama (2018). Biljni preparati za zaštitu bilja. https://grama.com.hr/biljni-preparati-za-zastitu-bilja-3/ - pristup 26.06.2019.
18. Hough-Goldstein, J. A. (1990). Antifeedant effects of common herbs on the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Environtal Entomology. [online] 19: 234-238. https://doi.org/10.1093/ee/19.2.234 - pristup 11.07.2019
19. IBM Corporation (2017). IBM SPSS Statistics Version 25.0. https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/en/SSLVMB_25.0.0/ - pristup 21.05.2018
20. IRAC (2018). Insecticide Resistance Action Committee. https://www.irac-online.org/pests/frankliniella-occidentalis/. – pristup 25.04.2018.
21. Jacobson R.J. (1997). Integrated pest management (IPM) in glasshouses. CAB International. Thrips as crop pests. [online] 639-66, https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19981100135 - pristup 11.07.2019.
22. Kindt F., Joosten N. N., Peters D., Tjallingii W.F. (2003). Characterization of the feeding behavior of western flower thrips in terms of electrical penetration graph (EPG) waveforms. Journal of Insect Physiology. 49: 183–191. doi: 10.1016/s0022-1910(02)00255-x [online] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12769993 - pristup 11.07.2019.
23. Konstantinidou-Doltsinis S., Markellou E., Kasselaki A.-M., Fanouraki M. N., Koumaki C. M., Schmitt A., Liopa-Tsakalidis A., Malathrakis N.E. (2006). Efficacy of Milsana®, a Formulated Plant Extract from Reynoutria sachalinensis, against Powdery Mildew of Tomato (Leveillula taurica). BioControl. [online] 51, 375 – 392, https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10526-005-5247-1.pdf - pristup 11.07.2019.
24. Koschier E. H., Hoffmann D., Riefler J. (2007). Influence of salicylaldehide and methyl salicylate on post-landing behavior of Frankliniella occidentalis Pergande. Journal of applied Entomology. 131(5), 362-367.
25. Larocque N., Vincent C., Bélanger A., Bourassa J.-P. (1999). Effects of tansy oil, Tanacetum vulgare L., on the biology of the obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera:Tortricidae). Journal of Chemical Ecology. [online] 25: 1319-1330, http://sci-hub.tw/10.1023/A:1020974725437 - pristup 11.07.2019.
26. Lešić R., Borošić J., Buturac I., Herak-Ćustić, M., Romić D. (2004.). Povrćarstvo, Zrinski, Čakovec.

27. Levy A., Epel B. L. (2009). Chemistry, Biochemistry, and Biology of 1-3 Beta Glucans and Related Polysaccharides [online] 439-463, https://www.sciencedirect.com. - pristup 16.03.2019.
28. Maceljski M., Cvjetković B., Ostojić Z., Igrc-Barčić J., Palglirani N., Oštrec Lj., Barić K., Čizmić I. (2004). Štetočinje povrća. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu. Zrinski. Čakovec.
29. Matotan Z. (2004). Suvremena proizvodnja povrća. Nakladni zavod globus. 248-270.
30. Matthew G. A. (2000). Pesticide application methods. Blackwell Science, Oxford, UK.
31. Meyer U., Blum H., Gärber U., Hommer M., Pude R., Gabler J. (2010). Praxisleitfaden Krankheiten und Schädlinge im Arznei- und Gewürzpflanzenbau. DPG Selbstverlag. Germany. 11-13.
32. Moritz G. (2006). Thripse. Westarp Wissenschaften, Hohenwarsleben. Germany. 142-143.
33. Murphy G., Ferguson G., Shipp L. (2014). Thrips in Greenhouse Crops - Biology, Damage and Management. OMAF Factsheet 03, 075-077 http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/14-001.htm#cultural. – pristup 16.06.2019.
34. Nayar N.M., Singh R. (1998). Cucurbits. Taxonomy, distribution and ethnobotanical uses. Science Publishers, Inc. United States of America.
35. Pagliarini N. (2016). Muhe štetnici rajčice. Glasilo biljne zaštite. 16 (5), 456-460.
36. Parađiković N. (2009). Opće i specijalno povrćarstvo. http://www.fazos.unios.hr/upload/documents/Op%c4%87i%20i%20specijalni%20dio%20povr%c4%87arstva%20-%20OSNOVE.pdf - pristup 11.07.2019.
37. Peneder S., Koschier E.H. (2011). Toxic and behavioural effects of carvacrol and thymol on *Frankliniela occidentalis* larvae, Journal of Plant Diseases and Protection. 118(1), 26-30.
38. Pintar M., Šimala M. (2017). Suzbijanje kalifornijskog tripsa (Frankliniella occidentalis) na povrću u zaštićenim prostorima. Glasilo biljne zaštite, 17(1-2): 13-14.
39. Pokos V. (2013). Ekološko vinogradarstvo. Glasnik zaštite bilja. 1/2013, 36: 23-24.
40. Ramachandran S., Funderburk J., Stavisky J., Olson S., (2001). Population abundance and movement of *Frankliniella* species and *Orius insidiosus* in field pepper. Agricultural and Forest Entomology. 3:1–10.
41. Reitz S. R. (2009). Biology and ecology of the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae): the making of a pest. Florida Entomologist. 92: 7–13.
42. Rezistentnost SZB (2019). Monitoring rezistentnosti štetnih organizama na sredstva za zaštitu bilja. https://rezistentnost-szb.hr/stetnici/agronomija/kalifornijski-trips - pristup 11.07.2019
43. RIS (1994). Rechtinformationssystem des Bundes. Bundesgesetz über den Verkehr mit Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln. BGBI, 513. https://www.ris.bka.gv.at/. - pristup 21.03.2018.
44. Sabelis M. W., Van Rijn P. C. J. (1997). Predation by Insects and Mites. U: Thrips as crop pests (ur. Lewis T.). CPI Antony Rowe. Eastbourne. United Kingdom. 259-283.

45. Sampson C., Kirk W. D. J. (2013). Can Mass Trapping Reduce Thrips Damage and Is It Economically Viable? Management of the Western Flower Thrips in Strawberry. PLoS ONE. [online] 8(11): e80787. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080787. - pristup 17.06.2019 .
46. Smith I.M., McNamara D.G., Scott P.R., Holderness M., Burger B. (1997). Quarantine pests for Europe. Second Edition. Data sheet pn quarantine pests for the European Union and for the European and Mediterranean Plant Protection Organization, ©CAB INTERNATIONAL i EPPO (Contract number: 90/399003). https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00002397.pdf. - pristup 26.06.2019.
47. Sobhy I. S., Erb M., Lou Y., Turlings T. C. J. (2014). The prospect applying chemical elicitors and plant strengtheners to enhance the biological control of crop pests. Philosophical transactions of the Royal Society of London, Biological sciences [online] 369 (1639). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3928887/. - pristup 11.07.2019.
48. Sun T. J., Lu Y., Narusaka M., Shi C., Yang Y.B., Wu J. X., Zeng H. Z., Narusaka Y., Yao N. (2015). A novel pyrimidin-like plant activator stimulates plant disease resistance and promotes growth. Plos one. [online] 10(4): e0123227. doi:10.1371/journal.pone.0123227. https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0123227. - pristup 21.03.2018
49. Šimala M. (2002). Kalifornijski trips Frankliniella occidentalis (Perg.): ograničavajući čimbenik uzgoja plodovitog povrća u zaštićenom prostoru. Glasilo biljne zaštite. 5: 262-267.
50. Terry L., Gardner D. (1990). Male mating swarms in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Insect Behaviour. 3: 133–141.
51. Tripathi D., Pappu H.R. (2015). Evaluation of acibenyolar-S-methzl-induced resistance against iris yellow spot tospovirus. European Journal of Plant Pathology. [online] Volume 142, Issue 4, pp 855-864. https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10658-015-0657-0 - pristup 11.07.2019.
52. Van Rijn P.C.J., Mollema C., Steenhuis-Broers G.M. (1995). Comparative life history studies of Frankliniella occidentalis and Thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. Bulletin of Entomological Research. [online] 85: 285-297. https://www.cambridge.org/core/journals/ . – pristup 25.04.2018.
53. Vera J., Castro J., Contreras R.A., González A., Moenne A. (2012). Oligo-carrageenans induce a long term and broad-range protection against pathogens on tobacco plants (var. Xanthi). Physiological and Molecular Plant Pathology. [online] 79,31-39. https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/. - pristup 11.07.2019.
54. Zhang Z.-J., Wu Q.-J., Li X.-F., Zhang Y.-J., Xu B.-Y., Zhu G.-R. (2007) Life history of western flowe thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysan., Thripae), on five different vegetable leaves. Journal of applied Entomology. [online] 131, 347-354. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0418.2007.01186.x - pristup 16.07.2019

7. Prilozi

Prilog 1. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom običnog vratića unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: obični vratić

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 1

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	0	7
2	2	1	7
3	2	0	8

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	5	3
2	4	3	3
3	6	3	1

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	0	5
2	4	1	5
3	3	1	5

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	5	3
2	4	3	3
3	5	4	1

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	6	2	2
2	4	2	4
3	2	3	5

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	3	2
2	5	3	2
3	4	2	4

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	4	2
2	4	3	3
3	6	3	1

Prilog 2. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom preslice unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: preslica

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 1

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	5	3
2	4	1	5
3	3	2	5

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	6	1
2	2	5	3
3	6	2	2

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	7	1
2	4	4	2
3	5	1	4

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	6	1
2	5	5	0
3	6	2	2

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	7	1
2	3	4	3
3	2	6	1

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	4	1
2	4	5	1
3	6	1	3

240 min.			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	3	3
2	3	6	1
3	5	1	4

Prilog 3. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom koprive unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: kopriva

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 1

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	6	4
2	3	0	7
3	1	2	7

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	6	0
2	5	3	2
3	4	4	2

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	7	1
2	4	3	3
3	1	3	6

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	6	1
2	5	5	0
3	3	6	1

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	8	0
2	5	4	1
3	3	4	3

180 min.			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	5	2
2	7	3	0
3	3	5	2

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	7	0
2	6	3	1
3	4	5	1

Prilog 4. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom običnog vratića unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: obični vratić

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 2

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	0	10
2	1	1	8
3	3	1	6

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	6	1	3
2	5	1	4
3	3	3	4

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	1	9
2	2	1	7
3	3	1	6

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	7	1	2
2	4	2	4
3	4	1	5

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	0	10
2	1	3	6
3	3	1	6

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	6	0	4
2	1	2	7
3	3	4	3

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	1	5
2	2	4	4
3	3	1	6

Prilog 5. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom preslice unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: preslica

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 2

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	1	8
2	4	0	6
3	0	3	7

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	4	3
2	4	3	3
3	3	4	3

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	4	5
2	2	1	7
3	1	3	6

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	5	1
2	4	2	4
3	3	5	2

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	2	8
2	2	2	6
3	1	2	7

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	5	4
2	4	1	5
3	1	4	5

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	2	7
2	4	2	4
3	1	5	4

Prilog 6. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom koprive unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: kopriva

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 2

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	1	8
2	1	2	7
3	2	4	4

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	4	3
2	2	3	5
3	4	4	2

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	2	8
2	3	0	7
3	2	6	2

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	5	2
2	0	10	0
3	3	6	1

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	5	5
2	1	3	6
3	2	6	2

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	6	1
2	3	3	4
3	2	3	5

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	6	3
2	3	3	4
3	4	4	2

Prilog 7. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom običnog vratića unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: obični vratić

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 3

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	2	5
2	0	0	10
3	1	0	9

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	5	3
2	4	5	1
3	3	5	2

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	1	6
2	1	0	9
3	0	2	8

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	4	2
2	1	6	3
3	2	5	3

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	2	5
2	1	3	6
3	3	2	5

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	1	7
2	2	6	2
3	5	4	1

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	4	4
2	4	4	2
3	6	4	0

Prilog 8. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom preslice unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: preslica

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 3

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	0	10
2	2	0	8
3	4	0	6

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	5	1
2	4	3	3
3	5	3	2

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	0	1	9
2	1	1	8
3	4	0	6

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	5	1
2	3	4	3
3	4	3	3

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	1	3	6
2	1	2	7
3	5	1	4

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	2	3	5
2	2	2	6
3	3	4	3

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	4	2
2	4	3	3
3	3	5	2

Prilog 9. Praćenje odabira kalifornijskog tripsa između lista kontrolne biljke krastavca i lista tretiranog ekstraktom preslice unutar 360 minuta.

Vrsta: *Frankliniella occidentalis*

Biljka: krastavac

Tretman: kopriva

Br. Jedinki vrste: 10

Ponavljanje: 3

15 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	2	4
2	4	0	6
3	1	2	7

300 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	2	3
2	3	6	1
3	6	4	0

60 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	4	1	5
2	4	1	5
3	5	2	3

360 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	6	3	1
2	2	4	4
3	5	3	2

120 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	3	2	5
2	3	0	7
3	4	2	4

180 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	3	2
2	4	3	3
3	6	3	1

240 min			
petrijevka	tretman	kontrola	drugdje
1	5	4	1
2	5	4	1
3	6	3	1

Prilog 10. Tablica vrijednosti oštećenja lista i broj jaja po uzorku lista

Vrijednosti su računate po jednom listu							
Tretmani							
Obični vratić		Preslica		Voda		Kopriva	
Oštećenje lista (mm^2)	Broj jaja	Oštećenje lista (mm^2)	Broj jaja	Oštećenje lista (mm^2)	Broj jaja	Oštećenje lista (mm^2)	Broj jaja
8,15625	0	6,78125	2	2,625	3	7,71875	3
7,0625	4	2	0	7,59375	4	6,9375	2
6,75	3	7,9375	1	5,46875	2	9,625	1
5,65625	2	7,90625	5	3,40625	4	9	4
5,21875	1	6,3125	2	2,1875	3	6,0625	2
5,1875	1	8,40625	1	4,1875	3	6,59375	1
4,3125	3	5,71875	0	3,84375	2	5,34375	3
4,875	4	5,15625	1	2,5625	2	4,03125	0
6,40625	4	6,6875	1	3,09375	0	5,3125	1
5,03125	3	0	4	6,5625	4	6,5	0
19,625	1	14,5	2	23,375	4	16,75	3
17,75	2	10,875	2	3,375	1	29,625	3
16	2	14,75	4	9,875	3	14,875	2
20,75	1	6	2	20,25	1	39,875	5
26	0	20,5	1	21,125	1	38	5
25,75	2	14,75	4	24,375	3	36,25	2
23,5	1	17,625	3	21,5	4	18,5	1
32,5	4	26	2	36,625	3	20,25	0
29,125	1	21,125	2	11,75	1	22,5	2
15,75	0	11,625	4	29,5	3	23,75	2
7	0	24,625	4	15	2	24,75	1
14,125	1	15,25	1	11,75	0	20,625	2
4,75	3	19,375	0	19,125	0	28,875	1
6,25	5	8,5	2	9,25	3	18,25	1
9	1	14,625	0	17,125	0	16,75	1
9,625	1	7,5	4	3,75	1	21,25	0
15,625	4	65,75	3	1,75	0	34,875	4
4,375	2	28,625	0	20,125	1	27,75	1
22,875	1	1,25	4	27,5	1	14,625	1
20,625	0	45	2	12,125	0	10	0
6	4	33	1	25,5	0	25	0
		13,75		0		0	

Prilog 111. Tablica vrijednosti debljine stanične stijenke i epiderme po uzorku lista

Vrijednosti su računate po jednom listu							
Tretmani							
Obični vratić		Preslica		Voda		Kopriva	
Stanična stijenka (µm)	Epiderma (µm)	Stanična stijenka (µm)	Epiderma (µm)	Stanična stijenka (µm)	Epiderma (µm)	Stanična stijenka (µm)	Epiderma (µm)
224,336	21,423	263,533	21,902	253,318	17,076	251,872	19,674
229,169	19,495	255,699	28,569	246,131	18,68	263,066	14,496
228,57	24,16	273,358	32,49	247,097	23,847	248,568	19,495
173,527	11,491	228,815	26,447	196,649	12,986	201,281	28,637
192,13	20,783	223,871	24,644	195,209	18,652	194,324	28,813
193,293	16,307	197,688	29,322	197,029	24,854	195,782	27,972
227,43	18,901	223,578	30,982	146,071	15,491	181,352	28,032
204,564	22,417	236,704	42,663	140,583	18,201	182,448	21,399
202,873	21,908	234,115	46,826	140,631	17,295	176,339	27,58
253,43	26,417	139,024	20,284	134,995	18,54	139,415	28,759
240,052	21,228	148,84	22,561	150,408	19,595	142,15	21,228
243,501	27,523	155,593	20,808	141,084	21,495	140,483	20,782
218,47	26,995	160,827	22,365	148,047	24,875	208,895	24,979
216,914	18,008	169,987	21,001	135,041	17,914	207,935	24,581
237,846	23,252	171,082	23,003	158,54	27	187,045	25,982
135,822	23,062	136,143	25,129	154,294	24,963	230,334	28,528
127,12	20,958	145,971	26,471	166,358	22,114	226,261	39,81
120,619	24,348	142,445	26,076	158,107	26,505	214,953	32,234
152,521	25,549			192,576	25,716		
150,425	23,33			209,625	20,475		
154,911	21,228			177,018			
142,631	18,54						
131,821							
132,234							
122,455							

Životopis

Monika Roher rođena je 9. siječnja 1995. godine u Bjelovaru. Osnovnu školu završila je 2009. godine u rodnom gradu kada upisuje opći smjer Gimnazije Bjelovar koju završava 2013. godine. Smjer solo pjevanje u srednjoj Glazbenoj školi Vatroslava Lisinskog Bjelovar upisuje 2010. godine a završava 2014. godine. Odmah nakon položene mature u gimnaziji, 2013. godine upisuje preddiplomski studij Zaštita bilja na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Obranom završnog rada 2016. godine nastavlja školovanje na diplomskom studiju Fitomedicina pri istom fakultetu. Zbog ostvarenog prava na Erasmus+ studentsku razmjenu u ak. god. 2017./2018., istraživanje za diplomski rad pod mentorstvom prof. dr. Elisabeth H. Koschier, napravila je na University of Natural Resources and Life Sciences u Beču u trajanju od pet mjeseci. U ak. god. 2018./2019. ostvaruje pravo na Erasmus+ stručnu praksu na Wageningen University and Research u Wageningenu. Pod mentorstvom dr. Robert WHM van Tol, sudjeluje na projektu o vizualnoj ekologiji kalifornijskog tripsa u trajanju od sedam mjeseci. U periodu od 2013. do 2018. godine predstavlja fakultet mnogobrojnim nastupima "Klape Falkuša" Agronomskog fakulteta. Aktivna je članica međunarodne studentske udruge Udruženje studenata agronomije i srodnih znanosti (IAAS). Tijekom studija, sudjeluje na raznim konferencijama, radionicama te akademijama vezanih uz struku i šire. Odlično se koristi alatima Microsoft Office programa. Hrvatski jezik joj je materinji dok prema zajedničkom europskom referentnom okviru za jezike (CEFR), engleski govori na razini B2 a njemački jezik razine A2. Posjeduje vozačku dozvolu B kategorije.