

Insekticidnost nanoemulzije na bazi eteričnog ulja lavandina na kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* herbst)

Balić, Matej

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:548526>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-19**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matej Balić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**INSEKTICIDNOST NANOEMULZIJE NA BAZI ETERIČNOG ULJA LAVANDINA
NA KESTENJASTOG BRAŠNARA (*Tribolium castaneum* Herbst)**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matej Balić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**INSEKTICIDNOST NANOEMULZIJE NA BAZI ETERIČNOG ULJA LAVANDINA
NA KESTENJASTOG BRAŠNARA (*Tribolium castaneum* Herbst)**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. dr. sc. Pavo Lucić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Anita Liška, mentor
3. prof. dr. sc. Vlatka Rozman, član

Osijek, 2020.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 1.1. Važnost zaštite uskladištenih zrnatih proizvoda od skladišnih štetnika..... | 1 |
| 1.2. Najznačajniji skladišni štetnici | 1 |
| 1.2.1. Primarne vrste: | 1 |
| 1.2.2. Sekundarne vrste: | 2 |
| 1.2.3. Suvremene mjere suzbijanja štetnika..... | 3 |
| 1.3. Cilj istraživanja | 3 |
| 2. PREGLED LITERATURE | 4 |
| 2.1. Suvremeni trendovi u zaštiti uskladištenih proizvoda..... | 4 |
| 2.2. Nim (<i>Azadirachta indica</i>) kao biološki insekticid | 5 |
| 2.2.1. Kemijski sastav <i>A. indica</i> | 6 |
| 2.2.2. Učinkovitost <i>A. indica</i> protiv štetnika u skladištu | 6 |
| 2.3. Eterična ulja | 7 |
| 2.4. Lavandin (<i>Lavandula x intermedia</i>)..... | 9 |
| 2.4.1. Eterična ulja kao biopesticidi | 10 |
| 2.5. Nanočestice u kontroli štetnika: djelovanje i definicija | 13 |
| 3. Materijal i metode rada | 16 |
| 3.1. Priprema nanoemulzije na bazi eteričnog ulja lavandina | 16 |
| 3.2. Testni kukci | 18 |
| 3.3. Test sa zrnom pšenice..... | 19 |
| 3.4. Procjena oštećenja zrna pšenice | 20 |
| 4. Rezultati | 21 |
| 4.1. Rezultati djelotvornosti testirane emulzije NanoEm..... | 21 |
| 4.2. Rezultati djelotvornosti testirane emulzije Em | 22 |
| 4.3. Rezultati procjene oštećenja zrna pšenice | 23 |
| 5. Rasprava..... | 24 |
| 6. Zaključak..... | 25 |
| 7. Popis literature..... | 26 |
| 8. SAŽETAK | 29 |
| 9. SUMMARY | 30 |
| 10. PRILOZI | 31 |
| 10.1. Popis tablica | 31 |

| | |
|------------------------|----|
| 10.2. Popis slika..... | 31 |
|------------------------|----|

1. UVOD

1.1. Važnost zaštite uskladištenih zrnatih proizvoda od skladišnih štetnika

Osnovni cilj čuvanja poljoprivrednih proizvoda je skladištenje proizvoda bez gubitaka kvantitete (težine) i kakvoće. Mora se voditi računa da se troškovi čuvanja, rada i zaštitnih sredstava smanje što više. Potrebno je znati što se može skladištiti, na koji način treba očuvati proizvode i pritom osigurati optimalne uvjete u prostoru gdje se proizvodi čuvaju, što ovisi i o namjeni skladištenja i čuvanja, odnosno radi li se o sjemenskoj ili merkantilnoj robi. Skladišta poljoprivrednih proizvoda privlače štetnike različitog podrijetla, najviše kukce, zatim grinje i glodavce. Zbog velike količine hrane i povoljnih uvjeta (vlaga temperatura) često može doći do bolesti i prenamnožavanja štetnih kukaca uslijed čega dolazi do veće štete uskladištenih proizvoda.

1.2. Najznačajniji skladišni štetnici

Podjela prema štetama na uskladištenim proizvodima štetnike koje dijelimo na :

1.2.1. Primarne vrste:

Vrše primarnu zarazu uskladištenog proizvoda, napadaju zdrava i neoštećena zrna, ekonomski su najznačajniji štetnici, mogu u potpunosti uništiti proizvod izjedajući sadržaj i razvijajući se u unutrašnjosti zrna, posebno opasni za sjemenski materijal (izjedanje klice), svojim metabolizmom iniciraju proces samozagrijavanja i na taj način dodatnom narušavanju kvalitete zrnate mase.

Najznačajniji predstavnici (kukuruzni, pšenični i rižin žižak, grahov, bobov, graškov i kavin žižak, žitni kukuljičar, trogoderma žita, duhanar, brašnena i sirna grinja, bakrenasti, žitni i hambarski moljac i dr.) (Rozman i Liška)

Žišci – štetnici zrnatih proizvoda

Najčešće vrste žižaka koje oštećuju zrnate proizvode su kukuruzni, pšenični i rižin žižak, a ujedno predstavljaju i najčešće štetnike uskladištenih proizvoda. Pripadaju porodici pipa (*Curculionidae*) uglavnom su svijetlosmeđe do tamnosmeđe neke imaju i točkice na pokrildu,

primjerice kukuruzni. Napadaju zrno u skladištu, ali neke od vrsta mogu napasti i klipove u polju kada su u fazi voštane zrelosti. Žišci su otporni na niske temperature kao i na nedostatak hrane, pa bez nje može izdržati i više dana.

1.2.2. Sekundarne vrste:

Vrše sekundarnu zarazu uskladištenog proizvoda, napadaju oštećena i lomljena zrna, brašnene smjese i prerađevine, razvijaju se u međuzrnavljenom prostoru uskladištene mase, ekonomski manje značajni štetnici od primarnih vrsta, zagađuju proizvod svojim ekskrementima i fragmentima tijela, javljaju se u masovnom broju.

Najznačajniji predstavnici (kestenjasti brašnar, mali brašnar, surinamski brašnar veliki brašnar, hrđasti brašnar, brašneni moljac, duhanov moljac) (Rozman i Liška).

Kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst)

Najznačajniji od brašnara je kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst). Ličinka brašnara je žućkasta do crveno smeđe boje, dužine 6-7 mm. Tijelo kestenjastog brašnara odraslog stadija je duguljastog oblika, dužine 2,3-4,4 mm. Boja crveno smeđa do tamno kestenjasta. Na pokrilju izražene uzdužne linije, 3 zadnja segmenta ticala izražajno. Može izazvati alergijsku reakciju (Alanko i sur. 2000.), ali nije poznato da širi bolest (slika 1.).



Slika 1. Kestenjasti brašnar

(<https://repozitorij.biologija.unios.hr/islandora/object/bioos%3A65/datastream/PDF/view>)

Mali brašnar (*Tribolium confusum* Jacq. Du Val)

Živi u uvjetima smanjene svjetlosti i skriveno. Ličinke su žućkaste boje i duge do 6 mm. Jaja su bjeličasta i oblepljena sluzastom tvari. Odrasli stadij su dužine 3-4 mm, riđasto smeđe boje. Ispod pokrivanja imaju dobro razvijena krila, ali ne lete.

1.2.3. Suvremene mjere suzbijanja štetnika

Praćenjem populacije kukaca, te određivanjem praga štetnosti i ekonomske opravdanosti, odabiru se vrste mjera suzbijanja, koje se dijele na kemijske, fizikalne i biološke. Kemijske mjere suzbijanja štetnika u skladištima još su uvijek, pored svih drugih mjera, najučinkovitije iako ostavljaju štetne posljedice za okoliš i zdravlje čovjeka. Dijele se na insekticide, rodenticide i fumigante. Fizikalne mjere suzbijanja su postupci manipuliranja fizikalnim okolišem, gdje se ne dozvoljava porast populacije štetnika, ili se ona reducira, odnosno potpuno eliminira. Ovo je najstarija metoda zaštite od štetnika. U fizikalne mjere spadaju primjena visoke i niske temperature, modificirana atmosfera (koja se može ubrojiti i u kemijske mjere), mehaničke mjere, ionizacija, te korištenje inertnih prašiva. Biološke mjere (primjena predatora, gljivica i parazita – bakterija). Biološke mjere zaštite zapravo su biološki insekticidi jedan od lanaca integriranih mjera i njihovo provođenje i uspjeh u suzbijanju štetnika limitirajućeg broja vrsta u skladištima ovisi i o provođenju drugih mjera kao fumigacija, sanitacija, aeracija i dr.

1.3. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je ispitati insekticidnost pripravljene nanoemulzije na bazi lavandina na kestenjastog brašnara u tremanu sa zrnom pšenice. Usporediti učinkovitost nanoemulzije s učinkovitosti iste formulacije bez primjene nanotehnologija. Procijeniti oštećenje tretirane pšenice.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Suvremeni trendovi u zaštiti uskladištenih proizvoda

Trendovi koji se odnose na nepesticidne mjere u zaštiti uskladištenih proizvoda uključuju različite vrste formulacija biopesticida koji se mogu primijeniti u formi močivog praha i koncentrata, suspenzija u granulama koje se dispergiraju u vodi, te jednokomponentnih do višekomponentnih formulacija. Veliki broj formulacija ima poboljšani način oslobađanja aktivne tvari čime se optimizira njihov biološki učinak. Novije tehnologije, kao što je primjena nanotehnologije omogućuje razvoj novih vrsta formulacija, poput nanosuspenzija, suspenzija, nanoemulzija, nano kapsula, itd. Biopesticidi pružaju ekološki prihvatljive alternative kemijskim pesticidima, ali se suočavaju s nizom izazova u svom razvoju, primjeni i proizvodnji. Udio biopesticida koji se primenjuju u zaštiti bilja tek je neznatan u odnosu na ukupnu količinu pesticida koja se upotrebljava za te svrhe. Postoji više razloga za ovakvu situaciju kao što su, na primjer, niska stabilnost biopesticida pri skladištenju, skup proizvodnih proces, osjetljivost na klimatske uvjete pri kojima se primenjuju, zatim problemi vezani za efikasnost i dr. (Gašić i Tanović, 2013.).

Biopesticidi privlače interese zbog svojih prednosti povezane sa sigurnošću okoliša, specifičnošću cilja, biorazgradivost, djelotvornošću i prikladnosti u integriranom gospodarenju štetočinama. Iako je potencijalna primjena biopesticida u zaštiti okoliša dobro poznata, povećan je interes za manje škodljivim rješenjima s obzirom na sve veće zahtjeve za organskom hranom. Širom primjenom biopesticida u zdravstvu i poljoprivredi, može znatno utjecati na sigurnost okoliša (Kumar i Singh, 2015.).

Čini se da će biopesticidi u budućnosti imati širu uporabu primjene zbog poboljšanja utjecaja na okoliš i jeftinijeg izbora. Pokazalo se da uporaba biopesticida s pomoćnim sredstvima pojačavaju svoju učinkovitost i zbog toga je ta činjenica otvorila nove mogućnosti za daljnji razvoj na tom području. Odabir odgovarajuće formulacije može poboljšati stabilnost proizvoda, proširiti i pojačati aktivnost i može smanjiti nedostatke primjene u stvarnim uvjetima mnogih potencijalnih bio-agenasa.(Gašić i Tanović, 2013.).

2.2. Nim (*Azadirachta indica*) kao biološki insekticid

Azadirachta indica ima određene izrazite prednosti u odnosu na većinu ostalih komercijalno korištenih biljaka kao prirodni pesticidi. Ova biljka stablašica (slika 2.) obično raste u tropskim i suptropskim dijelovima Azije, ali danas se uzgaja i u drugim toplim predjelima svijeta zbog njihove znatne klimatske tolerancije. Ovo drvo čak uspijeva na otpadu i rubnim zemljištima. U Indiji *A. indica* raste u gotovo cijeloj državi. Prilagođena je širokom rasponu temperatura između 0°C i 45°C i nadmorske visine do 1500 m nadmorske visine. Za opstanak je potrebna minimalna količina kiše od 450 mm. To je jedna od nekoliko vrsta koje mogu dobro rasti na vapnenastim tlima s pH do 8,5 i na dubini tla od 1,5-2,0 m.



Slika 2. Biljka nim

(Izvor: <https://images.app.goo.gl/sbKeH5KHo4rKBuv18>)

U Indiji se radilo na identifikaciji i izolaciji sastava *A. indica*, a pokrenut je 1942. godine i nastavljen je u raznim dijelovima svijeta.

2.2.1. Kemijski sastav *A. indica*

Dokazano je da lišće sadrži ugljikohidrata (48-58%), sirovih vlakana (11-24%), sirovih proteina (14-18%), pepeo (7,7-8,5%), masti (2,3-6,9%), kalcij (0,8-2,4%) i fosfor (0,13-0,24%), i niz aminokiselina. Njegovo ulje bogato je masnim kiselinama. Broj šećera i polisaharida su identificirani u kori *A. indica*. Svi dijelovi stabla *A. indica* posjeduju insekticidno djelovanje, ali sjemena jezgra je daleko najučinkovitija. Ima mnoštvo pesticida aktivnih sastojaka koji se zajedno više nazivaju „triterpeni“ konkretno "limnoidi". Četiri najbolja limnoidna spoja su: Azadirachtin, Salannin, Meliantriol i Nimbin. Azadirachtin (C₃₅H₄₄O₁₆) sam je skupina spojeva kao što su Azadirachtin A, B, C, D, E, F, G itd. Od toga azadirachtin-A (Aza A) je najobilnija i biološki najaktivnija koja ima dokazano repelentno i insekticidno djelovanje protiv velikog broja štetnika i koristi se kao komercijalni insekticid (Debashri i Tamal, 2012.).

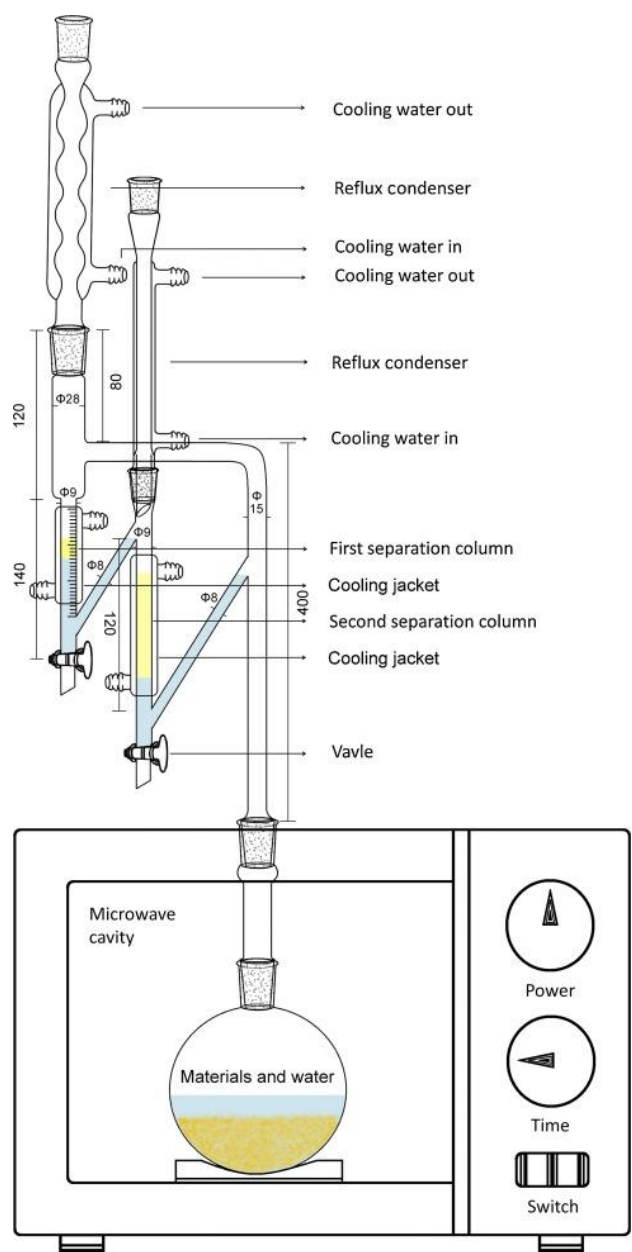
2.2.2. Učinkovitost *A. indica* protiv štetnika u skladištu

Derivati *A. indica* koriste se često za zaštitu žitarica koje se čuvaju u vrećama i trgovinama. Upotreba *A. indica* može pružiti značajnu ekonomsku prednost i uslugu ruralnim područjima u razvoju. Uspješna kontrola zabilježena je u kontrolu uskladištenih vrsta kukaca. Gubici zrnatih proizvoda tijekom skladištenja mogu biti značajni. Primjenom *A. indica*, postignuti su značajni rezultati kontrole uskladištenih štetnika. Primjerice u obliku praha apliciran na zrno riže, zatim u obliku 2% ekstrakta .

Pšenica čuvana u vrećama od jute pomiješana s 20% ekstrakta lišća *A. Indica* ili 5% vodenog ekstrakta sjemena bila je zaštićena od oštećenja insekata do 6 mjeseci. U Indiji, Jotwani i Sircar prvi su to pokazali s prahom zrna *A. indica* kada su pomiješali sjeme pšenice u omjeru 1-2 do 100 (wt / wt) djelovalo je učinkovito protiv *S. oryzae*, *Trogoderma granarium* i *R. dominica* nakon 270, 320, odnosno 380 dana. Rahim je utvrdio da je etanol ekstrakta zrna *A. indica*, koji sadrži azadirachtin, u dozi od 75 mg kg zaštitio uskladištenu pšenicu protiv *R. dominica* do 48 tjedana. U skladišnim pokusima zrna pšenice tretirana su uljem *A. indica* na udio od 8 ml na 1 kg zrna prije skladištenja u vreće. Postignuta je 50 do 70% manja zaraza *R. dominica*, *S. oryzae*, *T. castaneum* i *Cryptolestes sp.* Primjena *A. indica* ulje u niskoj koncentraciji od 0,1% (wt / wt) na pšenično zrno učinkovito je smanjila polaganje jajašaca moljca *Sitotroga cerealella*. Sjeme kukuruza namočeno 20 minuta u 1% otopini ekstrakta ulja *A. indica* bilo je otporno na napad *S. oryzae*.

2.3. Eterična ulja

Eterična ulja nalaze se kao sastavni dio mnogobrojnih biljnih vrsta, te se ovisno o dijelu biljke (cvijet, list, stabljika, sjeme) nalazi u različitom udjelu. Postoje različite metode za ekstrakciju i pripremu esencijalnih ulja iz različitih dijelova biljke. Laboratorijskim tehnikama kao npr. destilacijom pare koje je uobičajena metoda kojom se koristi za ekstrakciju eteričnih ulja. U takvoj metodi se koristi Clavenger aparat (slika 3.). Međutim, pod određenim uvjetima procesa destilacije, mogu se dogoditi mnoge reakcije. Takve reakcije uključuju izomerizaciju, saponifikaciju i druge kemijske reakcije. Takve promjene dovode do promjena u sastavu izoliranog ulja. Uz to koriste se druge metode za izolaciju i ekstrakciju eteričnih ulja, poput ekstrakcije otapalom i slične destilacije. Koriste se i druge metode poput ekstrakcije ugljičnim dioksidom i mikrovalnim pećnicama. Mnogi čimbenici mogu utjecati na kvalitetu i količinu proizvoda i njihov kemijski sastav, npr. starost biljke, faza vegetativnog ciklusa, gnojivo, tlo i klima. Metoda destilacije na pari najčešća je i najekonomičnija metoda koja se koristi za proizvodnju eteričnih ulja.

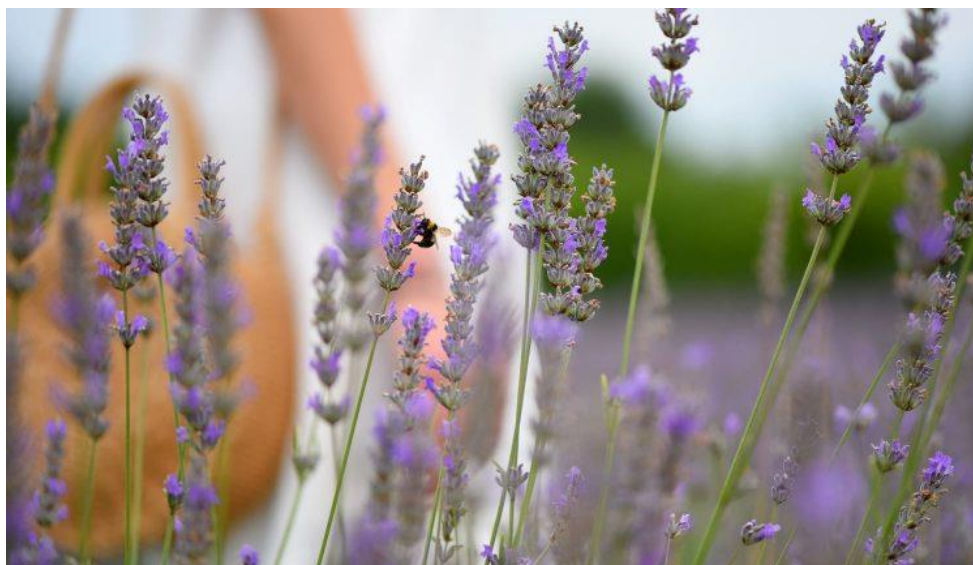


Slika 3. Clavenger aparat

(Izvor: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967317314929>)

2.4. Lavandin (*Lavandula x intermedia*)

Lavandin (*Lavandula x hybrida*) (slika 4.) nastao je križanjem prave lavande i lavande latifolije. Eterično ulje lavandina ima drugačije djelovanje od onoga kao kod prave lavande i bogatije je kamforom. Lavandin je naziv za hibride, odnosno križance uskolisne i širokolisne prave lavande. Lavanda prije cvate od lavandina i po mjesec dana. Hrvatski kultivari „Budrovka“ (*Lavandula intermedia x Reverchon*) i „Bjelika“ sa Hvara su lavandini odnosno hibridi. Ulje je lošije kvalitete od prave lavande zbog količine estera koji se kreću 7 do 16 %. Oblik grma u cvijetu je obješenog (pendulasti) tipa, te zbog toga grmovi izgledaju veće i zauzimaju veću površinu. Grm je veličine 80-120 cm a prilikom cvatnje iznosi i 150 cm. Cvjetne stapke su im duže, a osim glavne stapke, imaju još dvije postrane. Količina ulja kreće se oko 0,9-3% u cvijetu. Sjeme je neplodno za razliku od prave lavande. Cvate prvi put krajem mjeseca srpnja, a drugi put tijekom mjeseca rujna. (http://www.lavanda-lavandin.com/Karakteristike_lavande_i_lavandina.htm)



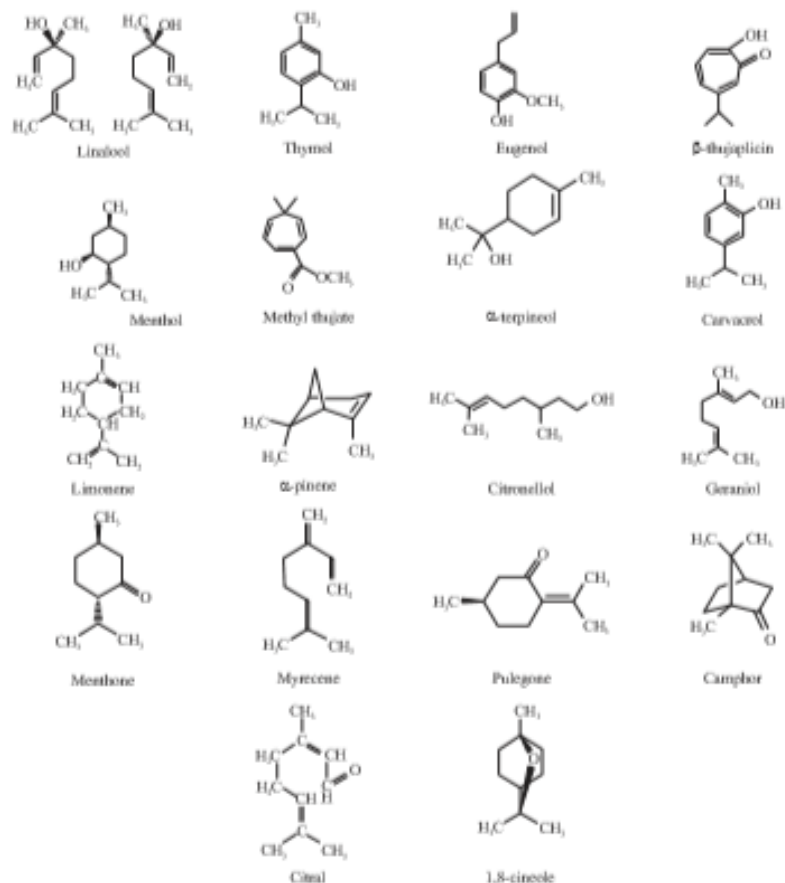
Slika 4. Lavandin

(Izvor: <https://myoffdays.com/razlika-izmedu-lavande-i-lavandina/>)

2.4.1. Eterična ulja kao biopesticidi

Eterična ulja i njihove sastavne komponente (slika 5.) posjeduju različite načine djelovanje na štetnike. Dokazano je njihovo insekticidno djelovanje, fumigantno, protiuzjedajuće i repelentno djelovanje, te djeluju inhibitorno na razvoj potomstva. Ovisno o vrsti i sastavu eteričnih ulja, mogu biti učinkovita protiv odraslih stadija štetnika, te nižih razvojnih stadija (ličinki, kukuljica i jajašaca).

Repelentnost eteričnih ulja iz brojnih biljaka dobro je opisana (tablica 1.). Ova aktivnost povezana je s glavnim aktivnim spojevima i ostalim kemijskim sastojcima. Eterična ulja ekstrahirani iz biljaka s većom repelentnošću uključivali su mnoge aktivne spojeve. Primjeri ovih aktivnih spojeva su biljne vrste citronela, cedar, pelargonija i lavanda. Dokazano je kako repelentno djelovanje posjeduju bor, cimet, ružmarin, bosiljak, majčina dušica, pepermint, i pulegon. Također, linalool, eugenol, timol, cimol imaju repelentno djelovanje protiv nekoliko insekata. Prirodni terpenoidi koji se nalaze u zdrobljenom lišću bosiljka (*Ocimum basilicum* L.) odbijaju neke vrste tripsa. Ovi rezultati pokazuju da linalool i eugenol imaju repelentno djelovanje (Mossa, 2016.).



Slika 5. Kemijske strukture nekih monoterpena iz eteričnih ulja koji imaju insekticidno djelovanje

(Izvor: Mossa, 2016.)

Prethodne studije pokazale su da je toksičnost eteričnih ulja protiv raznih insekata povezana s terpenima. Predstavljaju glavnu komponentu eteričnih ulja, posebno monoterpenoide i seskviterpene. Eterična ulja imaju visoku toksičnost na *Rhyzopertha dominica* i *Cryptolestes pusillus*. Dok je linalool pronađen u sjemenu korijandera eteričnog ulja otrovan za *S. oryzae*. Karvon, limonen i (E)-anetol glavna su aktivna komponenta koja se nalazi u eteričnom ulju kima. Carvone je imao visoko insekticidno djelovanje protiv *S. oryzae*. Učinkovitost ovisi od insekticidne toksičnosti mnogih eteričnih ulja i njihovih kemijskih sastojaka (Mossa, 2016.).

Tablica 1. Eterična ulja nekih biljaka koje imaju repelentno djelovanje na štetnike

| Biljka | | | Kukac | | |
|---------------------|------------------------|-------------------|---------------|--------------------------|---------------------|
| Porodica | Ime | Dijelovi biljke | Red | Ime | Izvor |
| Rutaceae | Citrus limonum | Lišće | Coleoptera | Tenebrio molitor | Wang et al. |
| Lauraceae | Litsea cubeba | | | | |
| Atherospermateaceae | Laurelia sempervirens | Lišće i kora | | Tribolium castaneum | Zapata and Smagghe |
| Apiaceae | Carum carvi | Sjeme | | Meligethes aeneus | Pavela |
| Lamiaceae | Thymus vulgaris | Nadzemni dijelovi | | | |
| Anacardiaceae | Schinus m. | Plod i lišće | | Trogoderma granarium | Abdel-sattar et al. |
| Asteraceae | Artemisia scoparia | Lišće | | Callosobruchus maculatus | Negahban et al. |
| | | | | Tribolium castaneum | |
| | | | Curculionidae | Sitophilus oryzae | |
| Lamiaceae | Thymus kotschyanus | Nadzemni dijelovi | Coleoptera | Callosobruchus maculatus | Akrami et al |
| Apiaceae | Carum copticum | | Lepidoptera | Plutella xylostella | Jamal et al. |
| Lamiaceae | Perovskia abrotanoides | | Coleoptera | Tribolium castaneum | Arabi et al |
| | | | Curculionidae | Sitophilus oryza | |
| Rutaceae | Citrus reticulata | Kora | Coleoptera | Callosobruchus maculatus | Saeidi et. |
| Apiaceae | Carum copticum | Plod | | Tribolium castaneum | Sahaf et al |
| Lamiaceae | Salvia bracteata | Nadzemni dijelovi | | Callosobruchus maculatus | Shakarami et |
| | | | Curculionidae | Sitophilus oryza | |

(Izvor: Mossa, 2016.)

Provedeno je i testiranje na fumigantnu i kontaktnu učinkovitost (u laboratorijskim uvjetima), 1,8-cineola, eugenola i kamfora na ličinke, imago i kukuljice kestenjastog brašnara *T. castaneum*, i njihov utjecaj na potomstvo. Kontaktnom aplikacijom postignuti su pozitivni rezultati za sve tri komponente na sva tri razvojna stadija *T. castaneum*, a najveću učinkovitosti imao je 1,8-cineol, slijedi eugenol, te kamfor. Fumigantna aktivnost za sve tri

komponente općenito je bila slabije izražena u odnosu na kontaktnu primjenu, a najbolji učinak na sve testirane razvojne stadije *T. castaneum* je postignut 1,8-cineolom, zatim kamforom, teeugenolom. (Liška, 2011.).

2.5. Nanočestice u kontroli štetnika: djelovanje i definicija

Nanočestice se mogu klasificirati kao skupina ultra finih čestica dimenzija od 1 do 100 nm ili manje, posjedujući specifična svojstva po kojima se razlikuju od čestica istog kemijskog sastava ali izvan skale nano veličina (Auffan i sur., 2009.). Nanočestice se mogu formulirati kao emulzije, suspenzije, polimerne ploče i gelovi (Kah i Hofmann, 2014.) ili djeluju kao kapsule na bazi silika gela, kitozana, natrijeva alginata ili polietilen glikola (Shahzad i Manzoor, 2018.).

Nanoemulzija je mješavina uljne i vodene tekućine. Kako s vremenom u mješavini uljne i vodene faze dolazi do raspadanja dispergiranih kapljica, njihove segregacije u kapljice većih dimenzija i njihove koagulacije, nanoemulziju je potrebno stabilizirati emulgatorima. Emulgatori su površinski aktivne molekule koje u pripremljenoj nanoemulziji štite kapljice nanodimenzija od gravitacijskog taloženja, smanjuju površinsku napetost povećavajući tako kinetičku stabilnost nanoemulzije što ju čini značajno pogodnijom za primjenu od emulzija s makro ili mikro kapljicama (Aswathanarayan i Vittal, 2019.). Nanoemulzija se sastoji od mnoštva sitnih raspršenih kapljica čime se povećava njena površina. Kako formiranje nanoemulzije nije spontana pojava, za njeno formiranje je potrebna visoka energija, koju osiguravaju različiti uređaji (visokotlačni homogenizator, mikrofluidizer, ultrazvučni homogenizator) (Maali i Hamed Mosavian, 2013.). Pomoću ovih uređaja primjenjuje se snažna razorna sila za razbijanje dispergirane faze u vrlo sitne kapljice svojstvene nanoemulzijama. Raspon veličina kapljica nanoemulzija kreće se od 20 do 200 nm. Značajne karakteristike nanoemulzija su viša učinkovitost (Anjali i sur., 2012.), smanjena hidroliza i isparenje aktivne tvari (Yang i sur., 2009.). Nadalje, niska površinska napetost nanoemulzije omogućava poboljšano prekrivanje površine prilikom prskanja i raspršenja, kao i bolju penetraciju (Tadros i sur., 2004.). Kako taloženje čestica može utjecati na bioraspoloživost aktivnih tvari emulzija, ova pojava nije slučaj kod nanoemulzija što omogućuje sniženje učestalosti njihove aplikacija (Wang i sur., 2007.). Pojačan unos aktivne tvari primjenom

nanoemulzija znanstveno je i dokazan. Tako je u testu s nanoemulzijom na bazi nim ulja utvrđeno kako smanjenje veličine kapljica uvjetuje sniženje LC₅₀ vrijednosti što se može interpretirati kao povećanje unosa sitnijih kapljica (Anjali i sur., 2012.). Također, povećanje unosa aktivne tvari uočeno je kod nanoemulzije na bazi permetrina u odnosu na unos čiste aktivne tvari (Kumar i sur., 2013.).

Prednosti primjene nanoemulzija na bazi eteričnih ulja i njihove insekticidne i fungicidne učinkovitosti dokazane su kroz brojne druge istraživačke radove (Tablica 2.). U navedenoj tablici prikazani su izvori aktivnih tvari i nosači korišteni u pripremi nanoemulzija za insekticidnu primjenu. Kroz navedene reference dokazane su brojne prednosti primjene nanoemulzije, između ostalog i visoka stabilnost nakon 2 mjeseca čuvanja na različitim temperaturama (Lai i sur., 2006.), visoka insekticidna djelotvornost nakon 5 mjeseci od tretmana (Yang i sur., 2009.) kao i sporije otpuštanje aktivne tvari (Abreu i sur., 2012.).

Tablica 2. Prikaz istraživanja koja se temelje na razvoju nanoformulacija insekticida na bazi eteričnih ulja (Izvor: Shah i sur., 2016.)

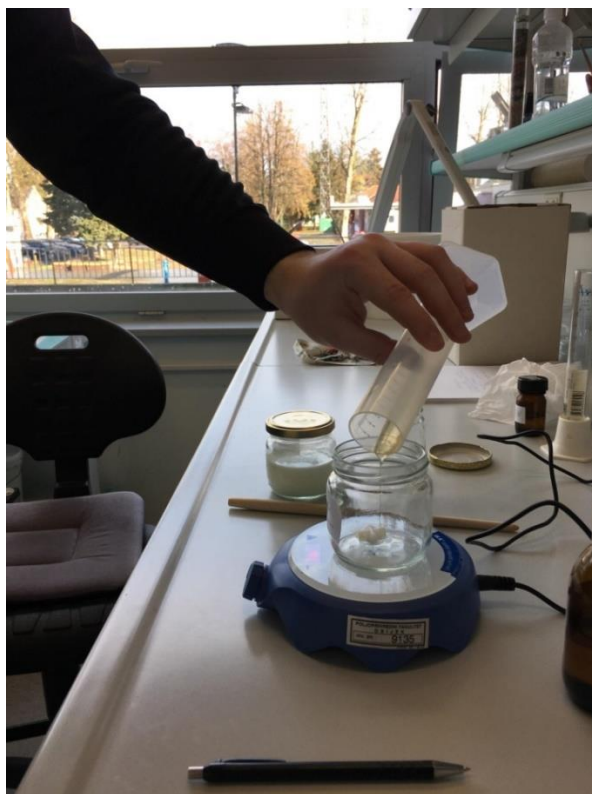
| Izvor eteričnih ulja | Sustav nosača | Literatura |
|---|--|-------------------------|
| <i>Artemisia arborescens</i> L. (Asteraceae) | Čvrste lipidne nanočestice | Lai et al. (2006.) |
| Češnjak | Nanočestice polietilen glikola | Yang et al. (2009.) |
| Lavanda | Polimerne mikrokuglice | Varona et al. (2010.) |
| Menta | Polimerne mikrokapsule | Dong et al. (2011.) |
| <i>Lippia sidoides</i> (Verbenaceae) | Nanogel kitozana/smole kasu stabla | Abreu et al. (2012.) |
| Origano | Nanočestice kitozana/natrijevog tripolifosfata (TPP) | Hosseini et al. (2013.) |
| <i>Eukaliptus</i> | Hidrogel kitozana | Ribeiro et al. (2013.) |

| | | |
|--------------------------|--|-----------------------------|
| Različiti izvori | Ciklodekstrini | Hill et al. (2013.) |
| Citrusi | Film kitozana/smole drveta rogača | Aloui et al. (2014.) |
| Ružmarin | Polimerne mikročestice | Fernandez et al. (2014.) |
| Mažuran, klinčić i cimet | Film s nano kompozitima alginata/glina | Alboofetileh et al. (2014.) |
| Timijan | Polimerni film | Jouki et al. (2014) |

3. Materijal i metode rada

3.1. Priprema nanoemulzije na bazi eteričnog ulja lavandina

Nanoemulzija (oznake NanoEm) je pripremljena u Laboratoriju za zaštitu uskladištenih proizvoda, Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Nanoemulzija je sadržavala eterično ulje lavandina (15%), emulgator polisorbit Tween®80 (5%) i destiliranu vodu (80%). U pripravi NanoEm najprije je odmjerena određena količina emulgatora, dodana kap po kap u staklenu posudu i izmiješana magnetskom miješalicom (10 min.). Nakon toga dodana je aktivna komponenta, eterično ulje lavandina te je dobivena mješavina dalje homogenizirana magnetskom miješalicom IKA® u trajanju od 20 min. (slika 6.). Nakon toga dodana je destilirana voda te je sve zajedno izmiješano do potpune homogenizacije. Tako pripremljena emulzija je dalje homogenizirana uz pomoć ultrazvučnog homogenizatora (T18 basic Ultra Turrax, IKA®) (jačina 4/5, u trajanju od 5 min) kako bi se dobila nanoemulzija. U pokusu je testirana i emulzija (oznake Em) s istim sastavom kao i NanoEm. Za njenu pripravu je korištena ista metoda kao i NanoE, ali je izostavljena homogenizacija ultrazvučnim homogenizatorom. Pripremljene emulzije NanoEm i Em čuvane su u staklenkama obojanog stakla i držane u tami na sobnoj temperaturi do trenutka primjene.



Slika 6. Emulgator polisorbatTween®80 dodan kap po kap u staklenu posudu i miješan magnetskom miješalicom u trajanju od 10 min.

(Izvor : M. Balić)



Slika 7. Kestenjasti brašnar –
izdvajanje odraslog stadija
(Izvor: M. Balić)



Slika 8. Kestenjasti brašnar –
uzgoj (Izvor: M. Balić)

3.2. Testni kukci

Korištena je vrsta kestenjasti brašnar (*Tribolium castaneum* Herbst), koja po načinu ishrane pripada sekundarnim vrstama skladišnih kukaca. Kukci su uzgajani u kontroliranim uvjetima na temperaturi od 24-27 °C i rvz 70±5%, na uzgojnoj podlozi od brašna meke pšenice s dodatkom 5% suhog neaktivnog kvasca (slika 7. i 8.). Za testiranje i utvrđivanje insekticidne djelotvornosti testiranih emulzija Em i NanoEm, korištene su odrasle jedinke kukaca starosti 2-4 tjedna.

3.3. Test sa zrnom pšenice

Test je obavljen na zrnu meke pšenice s dodatkom 5% loma zrna. Pšenica je prethodno sterilizirana pod utjecajem visoke temperature (60°C u trajanju od 60 min) kako bi se spriječio razvoj drugih štetnika u slučaju skrivene zaraze. Pripremljena pšenica, odvage od 100 g stavljene se u staklene posude volumena 200 mL (slika 9.). Emulzije Em i NanoEm su aplicirane na zrno pšenice pomoću Kartell mikropipetom u četiri doze: 500, 700, 800 i 1000 ppm (0,05; 0,07; 0,08 i 1,0 ml 100 g⁻¹).

Nakon aplikacije emulzija, staklenke s tretiranim zrnom su snažno protresene u trajanju od 60 sec. Nakon toga u svaku staklenku je stavljeno po 20 odraslih jedinki kukaca. Posude su hermetički zatvorene poklopcima i čuvane u kontroliranim uvjetima pri 24-27°C i rvz 70±5%. Mortalitet odraslih kukaca bilježen je očitanjem broja uginulih jedinki brašnara iz svake staklenke nakon 7 i 14 dana od postavljanja tretmana. Nakon očitavanja 14. dana, iz staklenki su izdvojene sve žive i uginule jedinke, a preostali sadržaj staklenki je vraćen i držan u kontroliranim uvjetima do razvoja potomstva F1 generacije (ukupno 63 dana) koje je tada prebrojano. Kontrolni tretman je postavljen na isti način, ali bez aplikacije emulzija. Svi tretmani su postavljeni u 4 ponavljanja.



Slika 9. Priprema tretmana s pšenicom

(Izvor: M. Balić)

3.4. Procjena oštećenja zrna pšenice

Kako bi se utvrdilo smanjenje mase zrna pšenice uzrokovano ishranom brašnara, tijekom cijelog pokusnog razdoblja u trajanju od 63 dana, pšenica je nakon procjene potomstva F1 generacije prosijana i odvagana. Procjena oštećenja zrna je izražena u % a izračunata formulom:

$$O (\%) = (t_1 - t_2) * 100 / t_1, \text{ gdje je:}$$

O – oštećenje zrna pšenice (%)

t₁ – početna masa pšenice (100 g)

t₂ – konačna masa pšenice (g)

4. Rezultati

4.1. Rezultati djelotvornosti testirane emulzije NanoEm

Rezultati provedenog insekticidnog testa emulzije NanoEm aplicirane na zrnu pšenice pokazali su vrlo nizak učinak na odrasle jedinke kestenjastog brašnara (tablica 3). Mortalitet se kretao u rasponu od 0,0 do 5,25% nakon 7 dana, odnosno od 0,0 do 7,0% nakon 14 dana ekspozicije. Najviši mortalitet postignut je pri dozi od 800 ppm, no povećanjem doze (na 1000 ppm) nije zabilježen daljnji porast mortaliteta.

Što se tiče utjecaja na potomstvo, uočeno je smanjenje broja potomstva pri dozama 500, 700 i 800 ppm, pri čemu je stupanj smanjenja potomstva iznosio 63,3%, 36,1%, odnosno 47,3%. Pri najvišoj dozi zabilježeno je povećanje broja potomstva u odnosu na broj potomstva u kontrolnom tretmanu (za 21,5%).

Tablica 3. Insekticidna djelotvornost nanemulzije (NanoEm) na odrasle jedinke *T. castaneum* pri ekspoziciji od 7 i 14 dana te utjecaj na razvoj potomstva F1 generacije.

| Doza (ppm) | Mortalitet jedinki <i>T. castaneum</i> (%)* | | Broj potomstva | Razlika u brojnosti potomstva u odnosu na kontrolu (stupanj smanjenja ili povećanja potomstva; %) |
|------------|---|---------|----------------|---|
| | 7 dana | 14 dana | | |
| 0 | 0,00 | 0,25 | 144,25 | - |
| 500 | 4,75 | 6,25 | 50,25 | 94,00 (- 65,3 %) |
| 700 | 0,00 | 0,00 | 92,25 | 52,00 (- 36,1 %) |
| 800 | 5,25 | 7,00 | 76,00 | 68,25 (- 47,3 %) |
| 1000 | 0,50 | 0,50 | 175,75 | +31,00 (+ 21,5 %) |

*Srednja vrijednost od 4 ponavljanja pojedinačne doze izračunata prema jednadžbi:

Mortalitet (%) = (srednja vrijednost ukupnog br. uginulih / ukupan broj postavljenih jedinki (20)) / 100

4.2. Rezultati djelotvornosti testirane emulzije Em

Rezultati provedenog insekticidnog testa emulzije Em aplicirane na zrnju pšenice pokazali sličan slabi učinak na odrasle jedinke kao i nano emulzija (tablica 4.). Mortalitet odraslih jedinki se kretao od 0,0 do 5,75%, odnosno od 0,25 do 9,25% nakon 7, odnosno nakon 14 dana ekspozicije. Najviši mortalitet postignut je pri dozi od 700 ppm. Aplicirana emulzija Em je utjecala na smanjenje broja potomstva u odnosu na potomstvo netretiranih roditelja kestenjastog brašnara. Ovisno o dozi, broj potomstva je sniženo u rasponu od 3,1 do 66,2% i to s obrnutim trendom u odnosu na povišenje doze emulzije. Tako je pri 500 ppm zabilježeno za 66,2% manje potomstva u odnosu na kontrolu.

Tablica 4. Insekticidna djelotvornost emulzije (Em) na odrasle jedinke *T. castaneum* pri ekspoziciji od 7 i 14 dana te utjecaj na razvoj potomstva F1 generacije

| Doza (ppm) | Mortalitet jedinki <i>T. castaneum</i> (%)* | | Broj potomstva | Razlika u brojnosti potomstva u odnosu na kontrolu (stupanj smanjenja ili povećanja potomstva; %) |
|------------|---|---------|----------------|---|
| | 7 dana | 14 dana | | |
| 0 | 0,00 | 0,25 | 144,25 | - |
| 500 | 5,75 | 6,50 | 48,75 | 95,50 (- 66,2 %) |
| 700 | 3,50 | 9,25 | 101,75 | 13,25 (- 29,5 %) |
| 800 | 1,00 | 1,00 | 108,00 | 22,75 (- 25,1 %) |
| 1000 | 0,00 | 0,25 | 139,75 | 61,75 (- 3,1 %) |

*Srednja vrijednost od 4 ponavljanja pojedinačne doze izračunata prema jednadžbi:
Mortalitet (%) = (srednja vrijednost ukupnog br. uginulih / ukupan broj postavljenih jedinki (20)) / 100

4.3. Rezultati procjene oštećenja zrna pšenice

U testu procjene oštećenja zrna pšenice (tablica 5.) uočeno je da je najveće oštećenje zrna bilo u kontrolnim tretmanima gdje je zabilježeno sniženje mase pšenice za 4,5% u odnosu na početnu masu pšenice. U tretmanima, i s emulzijom i nanoemulzijom, oštećenje je bilo niže, a i to u rasponu od 0,75 do 2,5%, odnosno 0,25 do 3,25%, ovisno o dozi. Niže smanjenje mase pšenice ukazuje na bolju zaštitu pšenice od štetnika čije su prisutnost i aktivnost bili uzrok nastanka smanjenju mase.

Tablica 5. Promjena u masi pšenice, u kontrolnim uzorcima i u pšenici tretiranoj emulzijama Em i NanoEm, u odnosu na početnu masu pšenice

| Doza (ppm) | Pšenica tretirana emulzijom Em | | Pšenica tretirana nanoemulzijom NanoEm | |
|------------|--------------------------------|-----------------------------|--|-----------------------------|
| | Masa pšenice (g) | Smanjenje mase pšenice (%)* | Masa pšenice (g) | Smanjenje mase pšenice (%)* |
| kontrola | 95,50 | 4,5 | 95,50 | 4,5 |
| 500 | 97,75 | 2,25 | 98,25 | 1,75 |
| 700 | 97,75 | 2,25 | 99,75 | 0,25 |
| 800 | 97,50 | 2,5 | 97,25 | 2,75 |
| 1000 | 99,25 | 0,75 | 96,75 | 3,25 |

*Udio smanjenja mase pšenice izračunat je u odnosu na početnu masu pšenice (100 g) odvagano i korištenu za postavljanja pokusa

5. Rasprava

Eterična ulja imaju znatnu količinu perspektiva kao komercijalni proizvodi kao insekticid. Insekticidi na bazi eteričnih ulja postojani su, nisu štetni i ekološki su prihvatljivi. Kako Mossa navodi da su eterična ulja kompatibilni s programima biološke kontrole i autohtoni prirodni neprijatelji štetnika. Imaju fumigantne, insekticidne, atraktivne i odbijajuće aktivnosti protiv širokog spektra insekata s određenom selektivnošću. Razvoj eteričnih ulja u prehrambenim i parfemskim industrijama omogućila je bržu komercijalizaciju pesticida na bazi eteričnih ulja. Ovi "zeleni pesticidi" mogu se pokazati učinkovitima u poljoprivredi, posebno za proizvodnju organske hrane (Koul i sur., 2008). Nedavna istraživanja pokazuju da neki kemijski sastojci eteričnih ulja ometaju živčani sustav insekata. U ovom radu se to i utvrdilo, saznajemo da su formulacije nanoemulzije i emulzije insekticidno djelovale u suzbijanju odraslog stadija *T. castaneum* i to u rasponu mortaliteta 3,1 do 66,2 % ovisno o dozi. Doza od 500 ppm je i kod emulzije i nanoemulzije bila najučinkovitija, dok je doza od 1000 ppm gotovo neučinkovita, čak je pri toj dozi zabilježeno povećanje broja potomstva. Što znači da nam veća doza, ne znači ujedno i veći mortalitet. Iako se u neposrednoj budućnosti biopesticidi mogu i dalje ograničavati uglavnom na posebnim tržištima i na nekim manjim, postoji veliki potencijal za dugoročni rast i razvoj, u samostalnoj primjeni ili u kombinaciji s drugim metodama i aktivnim tvarima (Copping i Menn., 2000.). Ali izravna upotreba eteričnih ulja za suzbijanje štetočina ima neke nedostatke, naime, kratak vijek trajanja, hlapljivost i regulatorna pitanja za njihovo slobodno ispuštanje u okoliš. Stoga su potrebna dodatna istraživanja zbog većeg uvida kako bi se prevladale barijere upotrebe eteričnih ulja kao sredstva za suzbijanje štetočina, poput istraživanja materijala za fiksiranje za produljeno oslobađanje, metoda primjene i protokola, rezidualne fitoksičnosti, upravljanja ekološkim problemima prevladavanja regulatornih barijera i toksikoloških. Treba imati na umu kako, svi prirodni proizvodi nisu uvijek sigurniji, a učenje iz naše prošlosti, velika uporaba kemikalija bez procjene njezinih dugoročnih učinaka bila je pogreška. Stoga bi se biološki pesticidi morali znanstveno potvrditi kako bi se mogli dugoročno koristiti i puštati u promet (Singh i Pandey, 2018.).

6. Zaključak

Nakon provedenih testiranja insekticidne djelotvornosti razvijenih formulacija NanoEm i Em na odrasle jedinke *T. castaneum* u tretmanima aplikacije na zrno pšenice te na osnovu dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće:

1. Aplicirane emulzije (NanoEm i Em) pokazale su slabo insekticidno djelovanje na odrasle jedinke kestenjastog brašnara.
2. Pri aplikaciji nanoemulzije NanoEm najučinkovitije insekticidno djelovanje je izraženo pri dozi od 800 ppm, dok je najveći utjecaj na smanjenje broja potomstva postignuto pri dozi od 500 ppm; za 65%. Pri najvišoj dozi (od 1000 ppm) uočeno je povećanje broja potomstva u odnosu na kontrolni tretman za čak 21,5%.
3. U tretmanu sa zrnom pšenice testirana formulacija Em pokazala je najznačajnije insekticidno djelovanje pri 500 ppm pri kojoj je istovremeno zabilježen i najveći utjecaj na smanjenje broja potomstva od 66,2%.
4. Prema dobivenim rezultatima na temelju insekticidne djelotvornosti i utjecaja na potomstvo, razvijene formulacije se nisu značajnije razlikovale te primjena nanotehnologije u ovom testu nije utjecala na povišenje djelotvornosti formulacije.
5. Rezultati procjene oštećenja zrna pšenice ukazuju na to da i pored vrlo slabog insekticidnog djelovanja, razvijene formulacije su bolje sačuvale pšenicu od kvantitativnog gubitka nastalog ishranom kukaca. Smanjenje mase pšenice tretirane nanoemulzijom NanoEm i emulzijom Em bilo je niže u odnosu na smanjenje mase pšenice u kontrolnom tretmanu.
6. Za bolji insekticidni učinak potrebno je dalje razvijati formulacije u različitim omjerima sastavnih tvari te testirati kombinaciju eteričnih ulja s nekim drugim tvarima, primjerice inertnim prašivima i silica gelom.

7. Popis literature

1. Abreu, F.O.M.S., Oliveira, E.F., Paula, H.C.B., de Paula, R.C.M. (2012): Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydr. Polym.*, 89(4): 1277-1282.
2. Alanko K, Tuomi T, Vanhanen M, Pajari-Backas M, Kanerva L, Havu K, Saarinen K, Bruynzeel DP. (2000.) Occupational IgE-mediated allergy to *Tribolium confusum* (confused flour beetle) *Allergy* 55: 879-882.
3. Aloui, H., Khwaldia, K., Licciardello, F., Mazzaglia, A., Muratore, G., Hamdi, M., et al (2014.): Efficacy of the combined application of chitosan and Locust Bean Gum with different citrus essential oils to control postharvest spoilage caused by *Aspergillus flavus* in dates. *Int. J. Food Microbiol.* 170: 21–8.
4. Anjali, C.H., Sharma, Y., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. (2012.): Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsions as potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. *Pest. Mang. Sci.*, 68(2): 158-163.
5. Aswathanarayan, J.B., Vittal, R.R. (2019.): Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3(95). doi: 10.3389/fsufs.2019.00095
6. Auffan, M., Rose, J., Bottero, J.Y., Lowry, G.V., Jolivet, J.P., Wiesner, M.R. (2009.): Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety prospective. *Nat. Nanotechnol.* 4: 634-664.
7. Copping, L. G., & Menn, J. J. (2000.): Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 56(8), 651-676.
8. Debashri, M., & Tamal, M. (2012.): A Review on efficacy of *Azadirachta indica*. *A. Jussbased biopesticides: An Indian perspective. Research Journal of Recent Sciences*
9. Gašić, S., i Tanović, B. [2013.]: Formulacije biopesticida, mogućnosti primene i perspektive daljeg razvoja. *Pesticidi i fitomedicina*, 28(2), 97-102.
10. Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008.): Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides international*, 4(1), 63-84.
11. Kumar, R.S.S., Shiny, P.J., Anjali, C.H., Jerobin, J., Goshen, K.M., Magdassi, S. (2013.): Distinctive effects of nano-sized permethrin in the environment. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 20(4): 2593-2602.

12. Kumar, S., and A. Singh. "Biopesticides: present status and the future prospects." *J Fertil Pestic* 6.2 (2015.): 100-129.
13. Kah, M., Hofmann, T. (2014.): Nanopesticides research: current trends and future priorities. *Environment International*, 63, 224-235.
14. Lai, F., Wissing, S.A., Müller, R.H., Fadda, A.M. (2006.): *Artemisia arborescens* L. essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. *Aaps Pharmscitech.*, 7(1): 10–18.
15. Liška, A. (2011.): Insekticidna toksičnost 1,8-cineola, kamfora i eugenola na *Tribolium castaneum* (Herbst). Doktorski rad. Osijek: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
16. Maali, A., Hamed Mosavian, M.T: (2013.): Preparation and application of nanoemulsions in the last decade (2000-2010.). *Journal of Dispersion Science and Technology*, 34: 92-105. Doi: 10.1080/01932691.2011.648498.
17. Mossa, A. T. H. (2016.): Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. *Journal of environmental science and technology*, 9(5), 354.
18. Rozman, V., Liška, A.: Skladištenje ratarskih proizvoda, Priručnik za vježbe, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 13. Str
19. Shah, M.A., Wani, S.H., Khan, A.A. (2016.): Nanotechnology and insecticidal formulations. *Journal of Food Bioengineering and Nanoprocessing*, (3): 285-310.
20. Shahzad, K., Manzoor, F. (2018.): Nanoformulations and their mode of action in insects: a review of biological interactions. *Drug and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1525393>.
21. Singh, P., & Pandey, A. K. (2018.): Prospective of essential oils of the genus *Mentha* as biopesticides: A review. *Frontiers in plant science*, 9, 1295.
22. Tadros, T., Izquierdo, R., Esquena, J., Solans, C. (2004.): Formation and stability of nanoemulsions. *Adv. Coll. Interf. Sci.*, 108: 303-318.
23. Wang, L., Li. X., Zhang, G., Dong, J., Eastoe, J. (2017.): Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *J. Colloid Interface Sci.*, 314: 230-235.
24. Yang, F.L., Li, X.G., Zhu, F., Lei, C.L. (2009.): Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Agric. Food Chem.*, 57: 10156-10162.

Internet stranice :

1. <https://gospodarski.hr/nekategorizirano/najznacajnji-stetnici-u-skladistima/> 2.9.2020.
2. <https://rezistentnost-szb.hr/stetnici/agronomija/kestenjasti-brasnar> 2.9.2020.
3. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/urban/beetles/red_flour_beetle.htm 2.9.2020.
4. <https://gospodarski.hr/uncategorized/cuvanje-i-zastita-poljoprivrednih-proizvoda-na-gospodarstvu/>
8.9.2020.
5. <https://www.poljosfera.rs/agrosfera/agro-teme/ratarstvo/kukuruz-stetocine-u-skladistu/> 8.9.2020.
6. https://dlscrib.com/download/emulzije_598f0c11dc0d607862300d1a_pdf 12.9.2020.
7. (http://www.lavanda-lavandin.com/Karakteristike_lavande_i_lavandina.htm) 12.9.2020.
8. <https://images.app.goo.gl/sbKeH5KHo4rKBuv18> 18.9.2020.
9. <https://myoffdays.com/razlika-izmedu-lavande-i-lavandina/> 18.9.2020.

8. SAŽETAK

Danas se sve više javlja potreba za iznalaženje novih načina za suzbijanje štetnika koja su neškodljiva ili su manje štetna za ljude i okoliš, a istovremeno dovoljno učinkovita u kontroli ciljanog organizma. Eterična ulja u ovom pravcu zauzimaju sve veći značaj. Nanotehnologija omogućuje nove smjernice u poboljšanju primjene eteričnih ulja. Cilj istraživanja upravo u ovom radu bio je ispitati učinkovitost eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* u suzbijanju odraslog stadija *Tribolium castaneum* (Herbst). U pokusu su pripravljene dvije formulacije nanoemulzija i emulzija. Nanoemulzija je sadržavala eterično ulje lavandina (15%), emulgator polisorbit Tween®80 (5%) i destiliranu vodu (80%). U pokusu je testirana i emulzija (oznake Em) s istim sastavom ali pripravljena bez ultrazvučnog homogenizatora. Emulzije su aplicirane na zrno pšenice u četiri doze: 500, 700, 800 i 1000 ppm. Najveći mortalitet zabilježen je pri dozi 500 ppm nakon 14 dana ekspozicije. Mortalitet je iznosio 66,2% za Em i 65,3 % za NanoEm. Između formulacija nije bilo značajnijih razlika u učinkovitosti.

Ključne riječi : *Lavandula x intermedia*, *Tribolium castaneum*, skladišni štetnici, uskladištena pšenica

9. SUMMARY

Nowdays, there is an urgent need of new ways for pest control that would be safe or less harmful for human and the environment, but at the same time efficient enough for the pest organism control. Nanotechnology offers new perspective for the improvement of essential oil usage. The aim of the research in this paper was to test the effectiveness of *Lavandula x intermedia* essential oil in control of the adult stage of *Tribolium castaneum* (Herbst). In the experiment, two formulations, nanoemulsion and emulsion, were prepared. The nanoemulsion contained lavender essential oil (15%), emulsifier polysorbate Tween®80 (5%) and distilled water (80%). An emulsion (marked Em) with the same composition but without using an ultrasonic homogenizer was also tested. Emulsion were applied to a wheat grain in four different doses: 500, 700, 800 and 1000 ppm. The highest mortality was recorded at the dose of 500 ppm after 14 days postexposure. Mortality was 66.2% for Em and 65.3% for NanoEm. There was no significant difference in efficacy between formulations.

Key words : *Lavanda x intermedia*, *Tribolium castaneum*, stored product pests, stored wheat

10. PRILOZI

10.1. Popis tablica

| | |
|--|----|
| Tablica 1. Eterična ulja nekih biljaka koje imaju repelentno djelovanje na štetnike..... | 12 |
| Tablica 2. Prikaz istraživanja koja se temelje na razvoju nanoformulacija insekticida na bazi eteričnih ulja..... | 14 |
| Tablica 3. Insekticidna djelotvornost nanemulzije (NanoEm) na odrasle jedinke <i>T. castaneum</i> pri ekspoziciji od 7 i 14 dana te utjecaj na razvoj potomstva F1 generacije..... | 21 |
| Tablica 4. Insekticidna djelotvornost emulzije (Em) na odrasle jedinke <i>T. castaneum</i> pri ekspoziciji od 7 i 14 dana te utjecaj na razvoj potomstva F1 generacije..... | 22 |
| Tablica 5. Promjena u masi pšenice, u kontrolnim uzorcima i u pšenici tretiranoj emulzijama Em i NanoEm, u odnosu na početnu masu pšenice..... | 23 |

10.2. Popis slika

| | |
|--|----|
| Slika 1. Kestenjasti brašnar..... | 2 |
| Slika 2. Biljka nim..... | 5 |
| Slika 3. Clavenger aparat..... | 8 |
| Slika 4. Kemijske strukture nekih monoterpena iz eteričnih ulja koji imaju insekticidno djelovanje..... | 9 |
| Slika 5. Lavandin..... | 11 |
| Slika 6. Emulgator polisorbat Tween®80 dodan kap po kap u staklenu posudu i miješan magnetskom miješalicom u trajanju od 10 min..... | 17 |
| Slika 7. Kestenjasti brašnar – izdvajanje odraslog stadija..... | 18 |
| Slika 8.. Kestenjasti brašnar – uzgoj..... | 18 |
| Slika 9. Priprema tretmana s pšenicom..... | 19 |

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij bilinogojstva, smjer Zaštita bilja

Diplomski rad

Insekticidnost nanoemulzije na bazi eteričnog ulja lavandina na kestenjastog brašnara (*Tribolium castaneum* Herbst)

Matej Balić

Sažetak

Danas se sve više javlja potreba za iznalaženje novih načina za suzbijanje štetnika koja su neškodljiva ili su manje štetna za ljude i okoliš, a istovremeno dovoljno učinkovita u kontroli ciljanog organizma. Eterična ulja u ovom pravcu zauzimaju sve veći značaj. Nanotehnologija omogućuje nove smjernice u poboljšanju primjene eteričnih ulja. Cilj istraživanja upravo u ovom radu bio je ispitati učinkovitost eteričnog ulja *Lavandula x intermedia* u suzbijanju odraslog stadija *Tribolium castaneum* (Herbst). U pokusu su pripravljene dvije formulacije nanoemulzija i emulzija. Nanoemulzija je sadržavala eterično ulje lavandina (15%), emulgator polisorbitat Tween®80 (5%) i destiliranu vodu (80%). U pokusu je testirana i emulzija (oznake Em) s istim sastavom ali pripravljena bez ultrazvučnog homogenizatora. Emulzije su aplicirane na zrno pšenice u četiri doze: 500, 700, 800 i 1000 ppm. Najveći mortalitet zabilježen je pri dozi 500 ppm nakon 14 dana ekspozicije. Mortalitet je iznosio 66,2% za Em i 65,3 % za NanoEm. Između formulacija nije bilo značajnijih razlika u učinkovitosti.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: izv. prof. dr. sc. Anita Liška

Broj stranica: 31

Broj grafikona i slika: 9

Broj tablica: 5

Broj literaturnih navoda: 24

Broj priloga: 2

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: *Lavandula x intermedia*, *Tribolium castaneum*, skladišni štetnici, uskladištena pšenica

Datum obrane: 07.10.2020.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. Pavo Lucić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Anita Liška, mentor
3. prof. dr. sc. Vlatka Rozman, član

Rad je pohranjen u: Knjižnici fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Studies, Plant protection**

Graduate thesis

Insecticity of nanoemulsia based on lavender essential oil on red flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst)

Matej Balić

Abstract:

Nowadays, there is an urgent need of new ways for pest control that would be safe or less harmful for human and the environment, but at the same time efficient enough for the pest organism control. Nanotechnology offers new perspective for the improvement of essential oil usage. The aim of the research in this paper was to test the effectiveness of *Lavandula x intermedia* essential oil in control of the adult stage of *Tribolium castaneum* (Herbst). In the experiment, two formulations, nanoemulsion and emulsion, were prepared. The nanoemulsion contained lavender essential oil (15%), emulsifier polysorbate Tween®80 (5%) and distilled water (80%). An emulsion (marked Em) with the same composition but without using an ultrasonic homogenizer was also tested. Emulsion were applied to a wheat grain in four different doses: 500, 700, 800 and 1000 ppm. The highest mortality was recorded at the dose of 500 ppm after 14 days postexposure. Mortality was 66.2% for Em and 65.3% for NanoEm. There was no significant difference in efficacy between formulations.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: Associate professor Anita Liška

Number of pages: 31

Number of figures: 9

Number of tables: 5

Number of references: 24

Number of appendices: 2

Original in: Croatian

Key words: *Lavanda x intermedia*, *Tribolium castaneum*, stored product pests, stored wheat

Thesis defended on date: 07.10.2020.

Reviewers:

1. PhD Pavo Lucić, chair
2. PhD Anita Liška, associate professor, mentor
3. PhD Vlatka Rozman, full professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1