

Insekticidni učinak eteričnih ulja na imago žitnog kukuljičara (*Rhyzopertha dominica*) i rižinog žiška (*Sitophilus oryzae*) na pšenici

Brlas, Latica

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:151:715680>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-15**



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

Latica Brlas

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**INSEKTICIDNI UČINAK ETERIČNIH ULJA NA IMAGO ŽITNOG KUKULJIČARA
(*Rhizopertha dominica*) I RIŽINOG ŽIŠKA (*Sitophilus oryzae*) NA PŠENICI**

Diplomski rad

Osijek, 2023.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Latica Brlas

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**INSEKTICIDNI UČINAK ETERIČNIH ULJA NA IMAGO ŽITNOG KUKULJIČARA
(*Rhizopertha dominica*) I RIŽINOŽIŠKA (*Sitophilus oryzae*) NA PŠENICI**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Anita Liška, predsjednik
2. doc. dr. sc. Pavo Lucić, mentor
3. doc. dr. sc. Marija Ravlić, član

Osijek, 2023.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 2. Pregled literature | 4 |
| 2.1. Eterično ulje | 4 |
| 2.1.1. Eterično ulje lavande | 5 |
| 2.1.2. Eterično ulje mente..... | 6 |
| 2.1.3. Eterično ulje kombinacije mandarine i naranče | 7 |
| 2.1.4. Eterično ulje čajevca..... | 7 |
| 2.2. Štetnici uskladištenog prostora..... | 8 |
| 2.2.1. Žitni kukuljičar | 9 |
| 2.2.2. Rižin žižak | 10 |
| 3. Materijali i metode rada | 12 |
| 3.1. Materijal rada | 12 |
| 3.2. Metode rada..... | 12 |
| 3.2.1. Uzgoj testnih kukaca | 12 |
| 3.2.2. Testiranje eteričnih ulja | 13 |
| 4. Rezultati | 12 |
| 4.1. Rezultati insekticidnog djelovanja eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na žitnog kukuljičara | 15 |
| 4.2. Rezultati insekticidnog djelovanja eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na rižinog žiška..... | 17 |
| 5. Rasprava | 19 |
| 6. Zaključak | 22 |
| 7. Literatura | 24 |
| 8. Sažetak | 30 |
| 9. Summary | 31 |
| 10. Popis tablica | 32 |
| 11. Popis slika..... | 33 |

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CARD

1. Uvod

Rižin žižak i žitni kukuljičar predstavljaju ozbiljan izazov za očuvanje žitarica proizvedenih širom svijeta. Poznati su kao štetnici uskladištenih žitarica, nanose značajne ekonomske gubitke poljoprivrednicima i prehrambenoj industriji, dovodeći do smanjenja kvalitete i količine uskladištenih žitarica. U borbi protiv ovih štetnika, postavlja se pitanje očuvanja žitarica bez korištenja štetnih kemijskih insekticida. Jedan od potencijalno ekološki prihvatljivih pristupa ovom problemu je primjena eteričnih ulja. Ekotoksikološke, ekološke i društvene posljedice koje su se proširile uporabom kemijskih pesticida u poljoprivredi naveli su znanstvenike da pronadu ekološko prihvatljivije i održive alternative od sintetičkih kemikalija (Pavela, 2015.) Uporaba insekticida koje su na bazi eteričnih ulja privlače sve veći interes i kod znanstvenika i potrošača. Među botaničkim ekstraktima koji se koriste kao insekticidi, eterična ulja obećavajuća su alternativa zbog svoje dostupnosti diljem svijeta i relativne isplativosti. Eterična ulja su sekundarni metaboliti koje sintetiziraju biljke, a imaju vrlo važnu ulogu u obrani biljaka i signalizaciji procesa, uključujući i privlačenje oprašivača i korisnih kukaca (Zuzartu i Salgueiru, 2015.; Campolo i sur. 2018.). Sjeme je živi organizam koji iziskuje posebne uvjete prilikom njegovog skladištenja da bi se očuvala njegova kvaliteta te kako bi ono omogućilo razvoj zdravih biljaka. Zbog navedenog, sjeme visoke kvalitete smatra se preduvjetom uspješne proizvodnje biljaka (Malešević i sur., 2015.). Postoje dvije vrste čimbenika koje mogu utjecati na kakvoću i kvantitetu uskladištenog sjemena: biološki i mehanički. Biološki čimbenici koji utječu na kakvoću i kvantitetu uskladištenog sjemena su :

- disanje
- proklijavanje
- samozagrijavanje
- kukci i grinje
- štete od glodavaca
- štete od ptica
- mikroorganizmi

Mehanički čimbenici su:

- ozljede
- lom zrna
- rasipanje

Cilj istraživanja ovog rada je ispitati insekticidno djelovanje eteričnih ulja (*Lavandula angustifolia* L., *Mentha arvensis* L., kombinacije *Citrus reticulata* Blanco i *Citrus sinensis* L. i *Melaleuca alternifolia* L.) na dva primarna štetnika: žitni kukuljičar *Rhizopertha dominica* (Fab.) i rižin žižak *Sitophilus oryzae* (L.).

Prema načinu ishrane navedeni štetnici se ubrajaju u primarne štetnike zato što njihovim djelovanjem može doći do oštećenja potpuno zdravog i suhog sjemena, njihovog razmnožavanja i razvijanja unutar njega. Kako bi se štetnici u skladištu suzbili, koriste se razni pripravci koji mogu imati direktan utjecaj na održivost, proizvodnju, zdravlje i cjelokupan okoliš (Malešević i sur., 2015.).

U posljednjih nekoliko godina povećan je postotak javljanja rezistentnosti štetnika na većinu korištenih pripravaka, stoga je učinkovita zaštita postala zahtjevna te se sve više nastoje koristiti biopesticidi. U biopesticide ubrajamo eterična ulja koja posjeduju insekticidno, repelentno, antifidantno, fungicidno i ovicidno djelovanje te zbog toga predstavljaju alternativno rješenje u zaštiti uskladištenog sjemena (Malešević i sur., 2015.).

Za određena eterična ulja koja se koriste kao mirisi i arome u industriji parfema i hrane, već dugo se zna da privlače i kukce (Koul i sur. 2008.). Brojna istraživanja su potvrdila da ne samo da privlače, već i da imaju insekticidno djelovanje prema velikom broju vrsta kukaca (Baskar i sur. 2011; Jovanović i sur. 2007.) Koul i sur. (2008.) navode da biljne vrste kao što je citronela javanska (*Cymbopogon winterianus*), ružmarin (*Rosmarinus officinalis*), eukaliptus (*Eucalyptus globulus*), timijan (*Thymus vulgaris*), metvica paprena (*Mentha piperita*), divlji pelin (*Artemisia vulgaris*), čajevac (*Melaleuca alternifolia*), geranij (*Pelargonium graveolens*), bosiljak (*Ocimum basilicum*) i lavanda (*L. angustifolia*) dokazano imaju insekticidno djelovanje zbog čega se koriste u zaštiti ljudi i životinja od najezde kukaca, poznatih kao vektori različitih bolesti. Neka eterična ulja pokazuju izrazitu otrovnost za kukce, dok ostala mogu imati repelentan utjecaj (Watanabe i sur., 1993.), sprječavati hranjenje kukaca (Hough-Goldstein, 1990.), te sprječavati ili usporavati njihov rast, razvoj i razmnožavanje. (Coats i Karr, 1992.) Zbog navedenih svojstava, eterična ulja su se pokazala najbolja alternativa u suzbijanju štetnika koji čine štete na uskladištenim proizvodima (Regnault i sur., 1993; Sarac i Tunc, 1995.). Eterična ulja koja se dobiju destilacijom ili ekstrakcijom pomoću organskih otapala, predstavljaju smjese od nekoliko stotina različitih komponenti. No pored takvog bogatstva, samo pojedine komponente pokazuju insekticidna svojstva. Eterična ulja sadrže 20 do 60 različitih biljnih komponenti u različitim koncentracijama, a samo 2 do 3 komponente koje ih karakteriziraju se nalaze u visokim koncentracijama (20-70 %) u odnosu na druge komponente koje su prisutne u

tragovima (Bakkali i sur. 2008.). Biljne aktivne komponente koje su toksične za kukce u obliku para su: monoterpeni, sumporne tvari, alkaloidi, aldehidi, esteri, alkoholi, 13 fenoli te drugi (Gillij i sur. 2008.).

U zadnjih 15 do 20 godina značajno je porastao interes za korištenjem bioinsekticida kao rezultat ekološke osviještenosti, ali i sve veće rezistentnosti kukaca na konvencionalna sredstva. Ekološki aspekt se ogleda u činjenici što su biljni insekticidi, u odnosu na sintetičke uglavnom niske toksičnosti za sisavce te se brzo razgrađuju i time imaju manji utjecaj na okoliš i druge biljne vrste (Katz i sur. 2008; Kühne 2008). Isman (2006.) smatra se da će zbog novih svjetskih nastojanja za uporabom sigurnijih alternativa za sintetske insekticide, biljni insekticidi uskoro pokrivati 10-15 % tržišta insekticida. U biološkoj kontroli člankonošci su navedeni kao prirodni neprijatelji (Ivezić, 2008.). Prirodni su neprijatelji, uz klimatske prilike i postupke čovjeka, glavni regulator dinamike populacije svih štetnika (Igrc-Barčić i Maceljski, 2001.). Bioinsekticidi su najzastupljeniji među biopesticidima. To su parazitoidi, grabežljivci, biljni insekticidi, grabežljivci i proizvodi različitih organizama. Svjetski priručnici o biopesticidima u njih najčešće uključuju makrobiološke agense (grabežljivci, parazitoidi) i mikrobiološke agense (bakterije, gljivice, virusi itd.), prirodne pesticide i derivate nekih organizama (Igrc-Barčić i Maceljski, 2001.). Eterična ulja koje sintetiziraju biljke igraju ključnu ulogu u signalnim procesima biljaka, uključujući i privlačnost prema oprašivačima i korisnih insekata (Campolo i sur. 2018.).

Unatoč svim naporima koji se ulažu na suzbijanje štetnika, oko 35 % ukupne proizvodnje usjeva gubi se upravo zbog njih. Iz tog razloga, biološke kontrole koje se koriste za kontrolu 67 000 vrsta štetnika koje postoje diljem svijeta treba proširiti i unaprijediti. (Pimentel, 1991.).

2. Pregled literature

2.1. Eterično ulje

Biljne vrste koje proizvode eterična ulja (preko 17 000 vrsta) nazivaju se aromatičnim biljkama i rasprostranjene su diljem svijeta (Campolo i sur., 2018.) Još u srednjem vijeku su se eterična ulja koristila u razne svrhe, kao npr. baktericidi, virociidi, fungicidi, antiparaziti, insekticidi, u medicinske i kozmetičke primjene, a danas su najučestalija u farmaceutskoj, sanitarnoj, kozmetičkoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji. Trenutno je poznato oko 3 000 eteričnih ulja, od kojih je 300 komercijalno važno, posebno za farmaceutsku, agronomsku, prehrambenu, sanitarnu, kozmetičku i parfemsku industriju (Bakkali i sur., 2008.). Eterična ulja su zapravo smjese načinjene od biološki aktivnih spojeva te su također i ekstrakti koji se dobivaju destilacijom iz različitih dijelova biljke, kao na primjer korijen, stabljika, cvijet i slično. Potrebno je eterična ulja koristiti u malim količinama, ali treba biti oprezan pri korištenju. Naime, za dobivanje eteričnih ulja upravo destilacijom, potrebno je osigurati opremu, prostor i ambalažu koja odgovara, ali i prostor za čuvanje toga proizvoda. Također, neke biljke poput ruže, sadrže eterična ulja u cvjetovima, dok druge biljke u matičnjaku listova. Narančino stablo sadrži tri vrste eteričnog ulja u cvjetovima (*neroli*), listovima (*petitgrain*) i u kori plodova. Eterično ulje cvjetova se sastoji i od nekoliko stotina sastojaka (poveznica 1.). Eterična ulja su smjese velikog broja različitih kemijskih spojeva. Više od 500 kemijskih spojeva ulazi u njihov sastav, dok pojedina ulja mogu sadržavati više od 60 sastojaka. Spojevi koji ulaze u sastav eteričnih ulja pripadaju različitim grupama organskih spojeva kao što su ugljikovodici, fenolini, laktoni i drugi (Kalodera, 1998.). Ekstrakciju eteričnih ulja možemo definirati kao proces izolacije kemijskih spojeva iz ljekovitog bilja i njihovo koncentriranje. Dvije najčešće metode ekstrakcije su vodena destilacija i tiještenje. Općenito, metode ekstrakcije biološki aktivnih komponenti iz biljnog materijala mogu se podijeliti na klasične i na suvremene metode.

Klasične metode ekstrakcije su :

- vodena destilacija,
- Soxhlet ekstrakcija,
- maceracija,
- hladno prešanje.

Suvremene metode ekstrakcije su:

- ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima,
- ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom,
- ekstrakcija potpomognuta visokim hidrostatskim tlakom,
- ekstrakcija potpomognuta enzimima,
- ekstrakcija pomoću superkritičnih plinova,
- ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem,
- ubrzana ekstrakcija pri povišenom tlaku (Azmir i sur, 2013.).

Koji će se postupak primijeniti ovisi o vrsti i svojstvu sirovine, kvalitativnom i kvantitativnom sastavu eteričnog ulja, a posebno o njegovoj primjeni (Gulin, 2014.). Biljke imaju potencijal za korištenje u insekticidne svrhe jer su bogate izvorom bioaktivnih kemikalija (Wink, 1993.; Kim i sur., 2003.). Sastav i kvaliteta eteričnih ulja mogu varirati ovisno o podneblju, vrsti tla, genetskim svojstvima biljke, sezoni berbe, zemljopisnom porijeklu i dijelu biljke koji se koristi za njegovo dobivanje. Eterična ulja dobivena iz zelenih biljaka, ubranih tijekom ili neposredno nakon cvjetanja, posjeduju najveću antimikrobnu aktivnost. Isto tako, sastav eteričnog ulja s različitih dijelova iste biljke može se razlikovati (Burt, 2004.; Tiwari i sur., 2009.). Način proizvodnje ulja (metoda hladnog prešanja, destilacija parom, ekstrakcija s nevodenim otapalima) mijenjaju aktivne tvari i uz njih vezane sastojke u krajnjem proizvodu (Windisch i sur., 2008.).

Njihovi proizvodi su biorazgradivi i netoksični i zbog toga su prikladni za upotrebu i u integriranoj i ekološkoj poljoprivredi. Uvođenjem bioinsekticida u praksu, osigurala bi se sigurnija zaštita za uskladištene proizvode, unatoč njihovom izvrsnom farmakološkom djelovanju, malo je truda uloženo za uvođenje istih (Tang i Eisenbrand, 1992.).

2.1.1. Eterično ulje lavande

Lavanda (*L. angustifolia*) pripada porodici usnača (Lamiaceae), Ona je biljka iz koje su ljudi stoljećima stvarali razne hibride i podvrste. Cvjetovi su joj ljubičaste boje te je vrlo prepoznatljiva i posjeduje intenzivan i prepoznatljiv miris. U Hrvatskoj je najčešće je viđena na mediteranu kako raste na svom prirodnom staništu. Bogata je izvorom različitih skupina fenolnih spojeva (fenolnih kiselina i flavonoida) kojima se pripisuju antioksidativna, antimikrobna, antiseptička, protuupalna i druga svojstva (Koul i sur. 2008.). Lavanda se

lako, spontano križa, pa postoje mnogi križanci, podvrste, varijeteti i forme (Kuštrak, 2005.) Eteričnog ulja u cvjetovima lavande ima u količini 0,5-1,5 %, dok ga je kod hibridne nešto više 0,9-3 %. Ulje se dobiva destilacijom svježih cvjetova uz pomoć vodene pare (Kišgeci, 2008.).

Glavne komponente eteričnog ulja lavande (*L. angustifolia*) čine linalol (16-28 %), linalil acetat (26-47,5 %), 1,8-cineol (5,1-15,5 %), lavandulil acetat (1,3-4,3 %) te α -terpineol (2,3-3,75 %) (Hassiotis i sur., 2010.; Verman i sur., 2010.).

Svjetlost je najvažniji čimbenik u uzgoju lavande jer pri nedovoljnoj količini svjetlosti cvatnja staje, što dovodi do znatnog smanjenja sadržaja eteričnog ulja u cvatu i količine estera sadržanih u eteričnom ulju (poveznica 2.).

Kvaliteta i kvantiteta eteričnog ulja lavande direktno ovisi o količini dobivenog sunca. Pri oblačnom vremenu količine eteričnog ulja se mogu smanjiti za 30-50 %. Lavanda ne podnosi kisela i vlažna tla, te na parceli se ne smije zadržavati voda, a optimalna pH vrijednost tla koja joj odgovara je između 6,5-7,5 (Pohajda, 2006.).

Prije podizanja nasada lavande, navodi Mihovilović (2005.) važno je dobro pripremiti tlo jer se radi o višegodišnjim nasadima. Tlo svojom teksturom i pH utječe na kvalitativna i kvantitativna svojstva lavande. Nadmorska visina utječe na sadržaj aktivnih tvari te kvalitetu eteričnog ulja u biljci. Što su nasadi na višim položajima više je glikozida i linolne kiseline, a manje kamfora u lavandi.

Lavandino eterično ulje dobiva se parnom destilacijom svježih (u praksi i uvenulih) cvjetova, odnosno vršaka stabljike s cvatovima. Lavandino ulje je bezbojna ili žućkasta tekućina, karakteristična ugodna mirisa i aromatična, ljuta i gorka okusa. (Grunwald i Janicke, 2006.). Najzastupljenije komponente u eteričnom ulju lavande su: linalol (31,01 %), linalil antranilat (15,60 %), lavandulil acetat (15,01 %), cis-linalol oksid (4,96 %), α -terpinol (4,02 %), lavandulol (2,49 %), dok su geraniol, borneol, neril acetat, 1,8-cineol i dr. spojevi zastupljeni u manjim količinama (Rashed i sur. 2017.). Ovo ulje je poznati insekticid pa ulazi u sastav sprejeva za zatvorene prostore (Kuštrak, 2005.).

2.1.2. Eterično ulje mente

Eterično ulje mente je intenzivnog mirisa, a sadrži mentol, menton, cineol i nekoliko drugih tvari. Listovi su najčešće korištena čajna droga. (Kremer, 2007.). Ljekovito djelovanje mente potječe od eteričnog ulja, kojeg ima oko 1-1,5 % (u cijeloj biljci). U listovima ga ima 1,5 do 3,5 %, tj. prosječno 2 %. Mentol je glavni sastojak eteričnog ulja, kojega ima oko 50 % i 15-

25 % mentona. Dobiva se destilacijom uz pomoć vodene pare iz nadzemnih dijelova biljke. Ulje je bistra, žućkasta, viskozna tekućina, ugodnog mirisa na mentol i osvježavajućeg ukusa. (Kišgeci, 2008.).

2.1.3. Eterično ulje kombinacije mandarine i naranče

Eterično ulje naranče (*C. sinensis*) dobiva se iz kore zrelih plodova koji se ekstrahiraju staromodnom tehnikom hladnog prešanja. Za pripravak eteričnog narančinog ulja potrebno je 1-5 oguljenih kora organskih zrelih naranči, 50 ml vode, 100 g čiste vodke te sterilizirana staklenka. Kako bi se dobilo eterično ulje potrebno je dobro oprati koru naranče i posušiti ju. Zatim, ukloniti nožem samo narančastu koru (bez bijelog dijela) te koru nasjeći na komadiće. Za bolju ekstrakciju, koru treba samljati te ju staviti u steriliziranu staklenku, dodati vodu i vodu u omjeru 2:1 (jedan dio vode na dva dijela votke) dok se ne napuni cijela staklenka. Koncentrirano ulje naranče (eterično) spremaju se u male tamne bočice s kapaljkom (poveznica 3.).

Eterično ulje mandarine (*R. sinensis*) se više nalazi u prehrambenoj nego u kozmetičkoj ili parfemskoj industriji. Zbog svog blagog i ugodnog mirisa te umirujućeg djelovanja probave kod djece, mandarinino eterično ulje naziva se i „ulje dječje radosti“. Ovo ulje u sebi sadrži tri glavna kemotipa: sabinen/linalol, linalol/γ-terpinen i metil N-metil antranilat. Ipak, najdjelotvorniji kemotip je metil N-metil antranilat. Ulje mandarine se najčešće radi iz kore mandarina koje prolazi hladno prešanje. Tom metodom se dobije najprirodniji miris, ali može se ekstrahirati i parnom destilacijom, ekstrakcijom pomoću organskog otapala te pomoću ugljivog dioksida koji je u tekućem stanju (Ferenčić i sur., 2016.).

2.1.4. Eterično ulje čajevca

Čajevac (*M. alternifolia*) je biljka čiji je naziv nastao kada su pomorci kapetana Jamesa Cook-a bili na istraživačkom putovanju u Australiju 1770. godine i koristili listove čajevca kao zamjenu za čaj (Southwell, 1999.). Pripada porodici mirtovki (Myrtaceae). Australaska flora je bogata biljkama i drvećem baš iz te porodice. U istoimenoj porodici rodovi *Eucalyptus* i *Melaleuca* poznati su po uljnim žlijezdama na listu koje sadrže mnoštvo vrijednih sastavnica. Plantaže se osnivaju iz presadnica koje se prethodno uzgajaju u staklenicima. Vrijeme od prve berbe varira od jedne do tri godine ovisno o klimi.

Prirodno rastuće stablo raste od 5-8 m, a tijekom listopada i studenoga drveće starije od tri godine obično cvate malim, pahuljastim, bijelim do bež cvjetovima skupljenim u 3-5 cm dugačak otvoreni klas. Plod je suhi, drvenasti, kožasti tobolac s puno sjemenki. Izduženi igličasti listovi, u kojima se nalaze uljne žlijezde s eteričnim uljem, naizmjenično su raspoređeni duž stabljike (Pejić, 2019.).

Eterično ulje čajevca dobiva se parnom destilacijom listova i vrhova grančica biljke. Najvažnije sastavnice ulja su monoterpeni i seskviterpeni koji čine 80-90 % njegovog sastava (poveznica 4.). Od toga se izdvajaju najvažnije aktivne sastavnice: monoterpenski alkohol 4-terpineol, kojeg ima više od 30 %, te 1,8-cineol, γ -terpinen, α -terpinen i p-cimen koje nose snažna ljekovita svojstva ulja (Pejić, 2019.).

2.2. Štetnici uskladištenog prostora

Kukci koji su potpuno prilagodili svoj životni ciklus reprodukciju, razvojne faze, hranjenje, i sl.) na uskladištenim poljoprivrednim proizvodima te njihovim prerađevinama u zatvorenom prostoru nazivaju se štetnicima uskladištenog prostora. Štetnim ih nazivamo jer oni svojim prisustvom i štetama koje rade, uz povoljne uvjete (temperatura i vlaga) mogu biti opasni po zdravlje ljudi i životinja. Najčešće posljedice prisustva tih kukaca su:

- kontaminiranje hrane,
- gubitci na nutritivnoj vrijednosti,
- promjena boje, mirisa i okusa napadnutog proizvoda,
- gubitak na masi,
- gubitak na kvaliteti i kvantiteti,
- smanjenje cijene na tržišnoj vrijednosti,
- povećani troškovi kontrole.

Da bi se takve nepravilike izbjegle, potrebno je tijekom cijelog razdoblja skladištenja pratiti pojave štetnika uz primjenu preventivnih mjera sa ciljem bolje zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda. Suzbijanje štetnika kemijskim mjerama trebalo bi se poduzimati samo u krajnjem slučaju. Postoje vrste štetnika koje napadaju samo određenu vrstu hrane, ali najveći broj štetnika napada mnoge proizvode i prerađevine žitarica. Postoje štetnici koje je teško locirati jer cijeli život provedu u zrnu. Štetnici se prema njihovom štetnom djelovanju dijele na: primarne, sekundarne, mikrofagne i slučajne vrste (Kalinović, 1993.). Glavne dvije skupine skladišnih štetnika se dijeli na primarne i sekundarne vrste:

Primarni štetnici napadaju cjelovito neoštećeno zrno, te su sposobni prodrijeti kroz neoštećenu sjemenu ljusku kako bi se hranili klicom, endospermom ili kotiledonom. Oni jajašca odlažu unutar zrna ili ispod vanjskog omotača zrna te se životni ciklus nižih razvojnih stadija (jajašce, ličinka, kukuljica) odvija unutar samoga zrna. Radi toga se nazivaju unutarnji štetnici (Liška i sur., 2019.).

Sekundarne vrste se hrane zrnjem ili zrnatim proizvodima koji su prethodno oštećeni primarnim vrstama ili su mehanički oštećeni tijekom transporta i slično. Za razliku od primarnih, sekundarne vrste imaju vrlo širok raspon odabira hrane, uključujući oštećeno zrno, mljevene proizvode, poluproizvode i gotove proizvode biljnog i animalnog podrijetla. Sekundarni štetnici polažu jajašca na površini proizvoda ili u neposrednoj blizini proizvoda, te se zbog toga nazivaju vanjski štetnici. (Liška i sur., 2019.).

2.2.1. Žitni kukuljičar

Žitni kukuljičar (*R. dominica*) pripada u red Coleoptera, te u porodicu Bostrichidae. Jedan je od glavnih primarnih štetnika u skladištu. Tijelo mu je dugo 2,3-3 mm, tamnosmeđe boje, valjkastog oblika. Vratni štitić u potpunosti prekriva glavu (slika 1.). Ženka odloži 100-500 jajašaca na razne proizvode. Ličinka ima razvijena tri para nogu, bijele je boje i pokrivena je kratkim dlačicama (Korunić, 1990.). Štetan je za žitarice, razmnožava se u kukuruzu, riži, pšenici i drugim supstratima koji sadrže škrob (Chittenden, 1911.).

Ženka polaže 300-500 jajašaca direktno u samo zrno. Ličinke se razvijaju i hrane u zrnu i mogu pojesti i onečistiti 70 % sjemena. Cjelokupan razvoj kukuljičara traje u ljetnom periodu. Kao što je prethodno spomenuto *R. dominica* pripada primarnim štetnicima uskladištenih proizvoda koji oštećuju zdrava zrna žitarica, sušeno korjenasto bilje i slično. Kako bi se suzbilo i zaustavilo njihovo štetno djelovanje, potrebno je primijeniti higijenske i mehaničke mjere poput čišćenja skladišnog objekta, primjena niske i visoke temperature te primjenom insekticida. Prisutnost imaga žitnog kukuljičara može se ustanoviti mjerenjem vlage uskladištenog proizvoda ili prisutnošću specifičnog mirisa u skladištu. Iako je vrlo sitan insekt, poznat je po uzrokovanju velikih šteta u skladištima žita, ali teško upečatljiv jer se zavlači u zrna te tako čini štetu (poveznica 5.).



Slika 1. Žitni kukuljičar

(Izvor: <https://www.ekozastita.com/zitni-kukuljicar>)

2.2.2. Rižin žižak

Rižin žižak *Sitophilus oryzae* (L.) je iz porodice pipa (Curculionidae) te spada u polifagne štetnike. Radi štete u skladištima ili silosima uništavanjem žitarica, ali hrani se i zrnjem uljarica ili prehrambenim proizvodima kao npr. tjestetnina. Tijelo mu je crnosmeđe boje sa crvenožutim pjegama na pokrildu (slika 2.). Ženka odloži 100-500 jajašaca na razna mjesta u skladištu. Može narasti od 2,5-4 mm, a više temperature mu pospješuju rast (Rotim i Ostojić, 2014.).



Slika 2. Rižin žižak

Izvor: (<https://en.wikipedia.org>)

Za razvoj je potrebna temperatura od 30 °C. Ličinke rižinog žiška su bjelakaste s kratkim dlačicama i imaju tri para nogu. Rade štetu tako da se ubušuju u zrno te se hrane endospermom. Prisutnost rižinog žiška u skladištu se očituje slatkastim mirisom pri ulasku u prostoriju (Korunić, 1990.). Nakon žetve, kada su temperature još visoke, rižinom žišku su idealni uvjeti za razmnožavanje tako da se već nakon mjesec dana u uskladištenim žitaricama nalazi velik broj ovog štetnika. Godišnje može razviti 3-4 generacije, ali pri visokim temperaturama i više. Slabim napadom se smatra kada su 1-2 jedinke na 1 kg, srednjim 3-5 jedinki na 1 kg, jakim 6-10 jedinki na 1 kg i vrlo jakim kada je broj jedinki veći od 10 na 1 kg uskladištene robe. No, ako se uoči i jedna živa jedinka na 1 kg uskladištene robe, potrebno je poduzeti potrebne mjere za njihovo suzbijanje (Rotim i Ostojić, 2014.).

Mjere suzbijanja su sljedeće:

- higijenske mjere (čišćenje skladišnog objekta i robe od primjesa),
- fizikalne i mehaničke mjere (primjena visoke i niske temperature, hermetičko čuvanje, inertna prašiva),
- biološke mjere (primjena predatora i parazita),
- kemijske mjere (primjena insekticida i fumigacija) (Korunić, 1990.).

3. Materijali i metode rada

Laboratorijsko testiranje insekticidne učinkovitosti eteričnih ulja lavande, mente, čajevca i kombinacije mandarine i naranče provedeno je u Laboratoriju za posliježetvene tehnologije na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek tijekom 2023. godine.

Plan istraživanja:

1. Uzgoj F1 generacije odraslih testnih kukaca žitnog kukuljičara i rižinog žiška;
2. Laboratorijska istraživanja učinkovitosti eteričnih ulja lavande, mente, čajevca i kombinacije mandarine i naranče na pšenici u suzbijanju žitnog kukuljičara;
3. Laboratorijska istraživanja učinkovitosti eteričnih ulja lavande, mente, čajevca i kombinacije mandarine i naranče na pšenici u suzbijanju rižinog žiška.

3.1. Materijal rada

Vrste eteričnih ulja:

1. eterično ulje lavande
2. eterično ulje mente
3. eterično ulje čajevca
4. eterično ulje kombinacije mandarine i naranče

3.2. Metode rada

3.2.1. Uzgoj testnih kukaca

Uzgoj testnih kukaca je obavljen u kontroliranim uvjetima pri 28 °C i relativnoj vlazi zraka od 75 %. U svrhu pokusa koristile su se F1 generacija odraslih testnih kukaca žitnog kukuljičara i rižinog žiška. Za uzgojni medij korištena je pšenica koja je prethodno prosijana kroz sito od 2,0 mm i 500 µm (slika 3.) i sterilizirana.



Slika 3. Prosijavanje pšenice od primjesa (Izvor: L. Brlas)

Staklene posude su ispunjene s pšenicom te se u njih stavilo 200 jedinki žitnog kukuljičara oba spola. Isti uzorci su postavljeni i s rižinim žiškom. Nadalje, staklenke su se zatvorile sa čepovima koji imaju otvore za zrak te su postavljene u kontrolirane uvjete. Nakon mjesec dana pojavile su se odrasle jedinke F1 generacije koje smo koristili u istraživanju.

3.2.2. Testiranje eteričnih ulja

Eterična ulja su aplicirana pomoću pipete (slika 4.) u staklene posude volumena 200 ml koje su prethodno napunjene sa 100 g sterilizirane pšenice (slika 5.). Svaka vrsta eteričnog ulja posebno. Tretmani su ponavljani četiri puta s tri različite doze 50, 100 i 150 μ l te kontrolni tretman. Staklene posude su hermetički zatvorene poklopcem i ručno promiješane u trajanju od 60 s. Nakon toga je stavljeno 20 odraslih jedinki *S. oryzae* po tretmanu, isto tako i za *R. dominica*. Zatim su staklene posude prekrivene perforiranim poklopcima i odložene u kontrolirane uvjete (temperatura od 28 °C i relativna vlaga zraka 75 %). Očitanje mortaliteta vršilo se nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije.



Slika 4. Apliciranje eteričnog ulja pomoću pipete (Izvor: L. Brlas)



Slika 5. Odvaga 100 g pšenice za tretmane (Izvor: L. Brlas)

4. Rezultati

4.1. Rezultati insekticidnog djelovanja eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na žitnog kukuljičara

Prikupljeni podaci ukazuju na različito insekticidno djelovanje na žitnog kukuljičara ovisno o tretmanu. U tablici 1. je prikazano insekticidno djelovanje eteričnog ulja lavande na žitnog kukuljičara kroz tri ekspozicije na pšenici (5., 12 i 19. dan). Mortalitet žitnog kukuljičara pri nižim dozama je postignut tek pri ekspoziciji od 19 dana (1,25 %) dok je pri dozi od 150 μ l ostvaren već nakon 5. dana ekspozicije i bio je nepromjenjen do 19. dana. To ukazuje da je mortalitet izraženiji pri većoj dozi tretmana. Rezultat istraživanja kod tretmana sa eteričnim uljem kombinacije mandarine i naranče ukazuje da mortalitet primjenom najviše doze (150 μ l) nije statistički značajan (2,50 %) u odnosu na rezultate pri nižim dozama i kontroli kod koje se je tek uz produljenje ekspozicije do 19. dana mortalitet ostvario za 1,25 %. Rezultati istraživanja s tretmanom mente na žitnom kukuljičaru ukazuju već nakon 5. dana ekspozicije mortalitet od 100 % u odnosu na kontrolu gdje se nije bilo mortaliteta. Kod tretmana s eteričnim uljem čajevca ostvario se najviši mortalitet (100 %) koji je statistički značajan za razliku od tretmana kontrole (0 %). Statistički značajne razlike između doza nije zabilježeno u svim tretmanima.

Tablica 1. Insekticidno djelovanje eteričnih ulja *L. angustifolia*, kombinacije *C. reticulata* i *C. sinensis*, *M. arvensis* i *M. alternifolia* na *R. dominica* nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije na pšenici

| | | Mortalitet (%)±StD ^{1,2} | | | | |
|-------------------------------|-----------|-----------------------------------|----------------|----------------|------|--------|
| Tretman | Doza (μl) | Ekspozicija | | | F. | P |
| | | 5. dan | 12. dan | 19. dan | | |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 0 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 1,25±2,50 aA | 1,00 | 0,4053 |
| | 50 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | - | - |
| | 100 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 1,25±2,50 aA | - | - |
| | 150 | 10,00±7,07 bA | 10,00±7,07 bA | 10,00±7,07 bA | 0,27 | 0,7674 |
| | F | 8,00 | 8,00 | 5,47 | | |
| | P | 0,0034 | 0,0034 | 0,0133 | | |
| Mandarina + naranča | 0 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 1,25±2,50 aA | 1,00 | 0,4053 |
| | 50 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | - | - |
| | 100 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | - | - |
| | 150 | 1,25±2,50 aA | 2,50±2,88 aA | 2,50±2,88 aA | 0,27 | 0,7674 |
| | F | 1,00 | 3,00 | 1,57 | | |
| | P | 0,4262 | 0,0728 | 0,2476 | | |
| <i>Mentha arvensis</i> | 0 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 1,00 | 0,4053 |
| | 50 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 100 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 150 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | F | - | - | 6241,00 | | |
| | P | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | |
| <i>Melaleuca alternifolia</i> | 0 | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 0,00±0,00 aA | 1,00 | 0,4053 |
| | 50 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 100 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 150 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | F | - | - | 6241,00 | | |
| | P | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | |

¹Prosječne vrijednosti u istoj koloni pri istoj ekspoziciji označene istim malim slovom nisu statistički značajno različite (Tukey's HSD, P<0.05)

²Prosječne vrijednosti u istom redu pri istoj dozi pojedinog tretmana označene istim velikim slovom nisu statistički značajno različite (Tukey's HSD, P<0.05)

4.2. Rezultati insekticidnog djelovanja eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na rižinog žiška

Tablica 2. prikazuje rezultate insekticidnog djelovanja eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na rižinom žišku (*S. oryzae*) kroz tri ekspozicije (5., 12. i 19. dana) na pšenici. Svaki tretman sa odabranim eteričnim uljem je ponovljen 4x u dozama od 50 µl, 100 µl, 150 µl te tretman kontrole.

Tretmani s eteričnim uljem lavande pri višim dozama (100 i 150 µl) ostvarili su jednaki mortalitet nakon 5. dana ekspozicije (5 %) u odnosu na niže doze i tretmanu kontrole od 1,25 %. S produljenjem ekspozicije na 19 dana rastao je mortalitet kod svih tretmana, a kod tretmana kontrole je zabilježen statistički značajan mortalitet (6,25 %) u odnosu na ekspoziciju od 5. dana. U tretmanu s eteričnim uljem kombinacije mandarine i naranče, statistički je postignut značajno viši mortalitet (6,25 %) pri dozi od 150 µl u odnosu na niže doze pri ekspoziciji od 12 dana. Produljenjem ekspozicije značajno je postignut veći mortalitet kod tretmana kontrole koji je bio jednak s tretmanom pri dozi od 150 µl (6,25 %). Rezultati tretmana s eteričnim uljem mente ukazuju da je postignut statistički značajno viši mortalitet pri svim dozama (100 %) u odnosu na kontrolu koja je i 19. dana ekspozicije ostvarila mortalitet od samo 6,25 %. Mortalitet rižinog žiška pod utjecajem insekticidnog djelovanja eteričnog ulja čajevca postignut je već 5. dana ekspozicije, pri svim dozama od 100 %. Statistički značajne razlike između doza nije zabilježeno u svim tretmanima.

Tablica 2. Insekticidno djelovanje eteričnih ulja *L. angustifolia*, kombinacije *C. Reticulata* i *C. sinensis*, *M. arvensis* i *M. alternifolia* na *S. oryzae* nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije na pšenici

| | | Mortalitet (%)±StD ^{1,2} | | | | |
|-------------------------------|-----------|-----------------------------------|----------------|----------------|------|--------|
| Tretman | Doza (μl) | Ekspozicija | | | F | P |
| | | 5. dan | 12. dan | 19. dan | | |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 0 | 1,25±2,50 aA | 6,25±6,29 aA | 6,25±6,29 aA | 1,17 | 0,3532 |
| | 50 | 1,25±2,50 aA | 1,25±2,50 aA | 3,75±2,50 aA | 1,33 | 0,3111 |
| | 100 | 5,00±10,00 aA | 5,00±10,00 aA | 5,00±10,00 aA | 0,00 | 1,0000 |
| | 150 | 5,00±7,07 aA | 7,50±8,66 aA | 8,75±7,50 aA | 0,24 | 0,7905 |
| | F | 0,46 | 0,53 | 0,36 | | |
| | P | 0,7176 | 0,6712 | 0,7824 | | |
| Mandarina x naranča | 0 | 1,25±2,50 aA | 6,25±6,29 aA | 6,25±6,29 aA | 1,17 | 0,3532 |
| | 50 | 0,00±0,00 aA | 1,25±2,50 aA | 2,50±2,88 aA | 1,29 | 0,3227 |
| | 100 | 1,25±2,50 aA | 2,50±2,88 aA | 3,75±4,78 aA | 0,50 | 0,6224 |
| | 150 | 3,75±4,78 aA | 6,25±2,50 aA | 6,25±2,50 aA | 0,71 | 0,5191 |
| | F | 1,12 | 1,76 | 0,73 | | |
| | P | 0,3804 | 0,2084 | 0,5500 | | |
| <i>Mentha arvensis</i> | 0 | 1,25±2,50 aA | 6,25±6,29 aA | 6,25±6,29 aA | 1,17 | 0,3532 |
| | 50 | 97,50±5,00 bA | 97,50±5,00 bA | 100,00±0,00 bA | 0,50 | 0,6224 |
| | 100 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 150 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | F | 1227,93 | 535,06 | 888,16 | | |
| | P | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | |
| <i>Melaleuca alternifolia</i> | 0 | 1,25±2,50 aA | 6,25±6,29 aA | 6,25±6,29 aA | 1,17 | 0,3532 |
| | 50 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 100 | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | 150 | 100,00±c0,00 bA | 100,00±0,00 bA | 100,00±0,00 bA | - | - |
| | F | 6241,00 | 888,16 | 888,16 | | |
| | P | <.0001 | <.0001 | <.0001 | | |

¹Prosječne vrijednosti u istoj koloni pri istoj ekspoziciji označene istim malim slovom nisu statistički značajno različite (Tukey's HSD, P<0.05)

²Prosječne vrijednosti u istom redu pri istoj dozi pojedinog tretmana označene istim velikim slovom nisu statistički značajno različite (Tukey's HSD, P<0.05)

5. Rasprava

Rezultati ovog rada ukazuju na insekticidno djelovanje eteričnih ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na žitnog kukuljičara i rižinog žiška. Djelotvornost ovih eteričnih ulja ovisila je o primijenjenoj dozi te dužini ekspozicije. Prikupljenim podacima ovog istraživanja dobili smo uvid na potencijalno prirodan način suzbijanja dvaju primarnih štetnika u uskladištenim prostorima. Mada se u svijetu većinom i dalje koriste sintetski pesticidi koji se koriste za suzbijanje kukaca, kako navode Ainane i sur. (2007.), veliki naponi su uloženi da se razviju zdraviji i ekološki prihvatljiviji pesticidi. Zbog svojih insekticidnih svojstava, botanička eterična ulja, smatraju se obećavajućom alternativom korištenja sintetskih insekticida. Međutim, malo je poznato o mehanizmima koji leže u pozadini insekticidnog djelovanja većine ovih prirodnih spojeva.

Ainane i sur. (2007.) proučavali su kontaktnu toksičnost i načine djelovanja eteričnog ulja mente protiv rižinog žiška. Kvantitativnim proteomičkim pristupom obilježavanja otkrili su da eterično ulje mente izaziva dramatične fiziološke promjene kod rižinog žiška. Većina proteina s različitom ekspresijom je regulirana na gore i povezana je s razvojem i funkcioniranjem mišićnog i živčanog sustava, staničnog disanja, sinteze proteina i detoksikacije. Ovi rezultati sugeriraju da je eterično ulje *M. arvensis* sposobno utjecati na različite biološke procese štetnika i daje nadu za mehanizme kontrole koji se primjenjuju na štetnim kukcima.

Arab i sur. (2022.) su testirali insekticidni potencijal eteričnih ulja bosiljka (*Ocimum basilicum* L.) i mandarine (*C. reticulata*) na rižinom žišku te žitnom kukuljičaru na pšenici. Dobiveni rezultati pokazali su da oba ulja imaju dobar insekticidni učinak na ispitivane kukce. Tretman pri dozi od 150 μ l sa eteričnim uljem bosiljka je ostvario mortalitet (90,72 %), te pri istoj dozi, eterično ulje mandarine (81,25 %).

Aermann i sur. (2022.) su istraživali insekticidno djelovanje eteričnih ulja: kadifice (*Tagetes minuta* L.), zelenog propolisa (*Baccharis dracunculifolia* DC), ljekovite kadulje (*Salvia officinalis* L.), mente (*M. arvensis*) i čajevca (*M. alternifolia*) na rižinom i kukuruznom žišku, te su statističkom analizom utvrdili da su samo eterična ulja *T. minuta* i *M. arvensis* pokazali insekticidno djelovanje. Eterično ulje mente je imalo najveću učinkovitost od 71,58 % na *S. oryzae* i 67,31 % na *S. zeamais*. Stoga tvrde da eterično ulje mente ima najveći potencijal za razvoj kao novi bioinsekticid za kontrolu odraslih žižaka uskladištenih proizvoda.

U potrazi za alternativnim proizvodima za suzbijanje štetnika uskladištenih proizvoda Callander i James (2012.) su istraživali insekticidno i repelentno djelovanje ulja čajevca (*M. alternifolia*) protiv *Lucilia cuprina*. Formulacije koje su sadržavale 1 % čajevca uzrokovale su 100 % smrtnosti jajašca *L. cuprina* i ličinki 1. stupnja, a 2,5 % čajevca uzrokovalo je smrtnost većine ličinki drugog i trećeg stupnja. U pokusima u kojima su ličinke trećeg stadija umočene u formulacije na 60 s, koncentracije do 50 % dale su manje od 50 % mortaliteta. Koncentracije od 0,5, 2 i 5 % bile su snažan repelent za ličinke trećeg stadija i uzrokovale su da napuste tretirana područja.

Aurash i sur. (2007.) istraživali su insekticidno djelovanje jedanaest eteričnih ulja u kojima je bilo i eterično ulje naranče, na bukovu lisnu uš te rižinog žiška. U tretmanima s ekstraktom naranče nije postignut statistički značajan rezultat.

Yang i sur. (2020.) su u svome istraživanju ispitivali bioinsekticidno djelovanje 28 eteričnih ulja i njihovu aktivnost inhibicije privlačenja zrna riže korištenjem odraslih jedinki *S. zeamais* u laboratoriju. U tretmanima su koristili eterična ulja u dozi od 200 μ l koji su skupa sa acetonom nanijeti na filter papir. Pustili su ga dvije minute da se osuši, a zatim su ga položili u petrijevu zdjelicu i nju pustili 10 jednako odraslih jedinki *S. zeamais* te ih zatvorili parafilmom. Kukci u petrijevim zdjelicama su držani u kontroliranim uvjetima od 26 ± 1 °C, i rvz od 50–60 %. Ulje cimeta pokazalo je najveću toksičnost među testiranim uljima, a slijedila su ga ulja čajevca i kanange. Eterična ulja mažurana, paprene i bugarske metvice, ulja lavande su pokazala jaku kontaktnu toksičnost. Analiziran je i kemijski sastav eteričnih ulja plinskom spektrometrijom, a ispitivanje je provedeno na četiri najaktivnija ulja (ulja cimeta, čajevca, kanange i mažurana). Među ispitanim uljima, ulje cimeta bilo je najaktivnije i u kontaktu i u ostatku i fumigantnim biološkim ispitivanjima, te su pokazali snažnu inhibitornu aktivnost.

(Campolo i sur., 2018.) su procijenili istraživačke studije objavljene u posljednjih 15 godina u vezi s uporabe eteričnih ulja u uskladištenim prostorima. Rezultiralo je sa više od 50 % pronađenih radova koje su objavili su autori iz istočnih zemalja (Iran, Kina, Indija i Pakistan), istražujući različite aspekte vezane uz upravljanje kukcima (izloženost, učinak na ciljanog štetnika, i način djelovanja). Coleoptera je bila najproučavaniji red kukaca (85,41 %), a zatim Lepidoptera (11,49 %), dok je nekoliko studija bilo usmjereno na nove štetnike u nastajanju (npr. Psocoptera). Gotovo su svi pokusi provedeni u laboratorijskim uvjetima, dok niti jedno istraživanje nije provedeno u stvarnim radnim uvjetima.

Zaključili su da bi se buduća istraživanja o upotrebi eteričnih ulja kao insekticida, trebala usredotočiti na razvoj formulacija insekticida koji bi se mogli uspješno primijeniti na različite proizvodnje u stvarnom okruženju.

6. Zaključak

Nakon provedenog istraživanja u kojem se ispitivao insekticidni učinak eteričnog ulja lavande, kombinacije mandarine i naranče, mente i čajevca na rižinog žiška (*S. oryzae*) i žitnog kukuljičara (*R. dominica*) može se zaključiti:

- Svaki tretman ovisno o primijenjenoj dozi i ekspoziciji pokazao je različito insekticidno djelovanje;
- Kod većine tretmana se mortalitet povećavao sa povećavanjem doze i produljenjem ekspozicije dana;
- U kontrolnim tretmanima, na žitnom kukuljičaru ostvario se mortalitet nakon 19. dana ekspozicije (1,25 %), za razliku od kontrolnih tretmana na rižinog žiška gdje se nakon 5. dana ostvario mortalitet od (1,25 %) i povećavao se do 19. dana na 6,25 %;
- Eterično ulje lavande u tretmanima na rižinom žišku se uglavnom pokazalo učinkovito tek nakon 19. dana ekspozicije i to samo pri najvećoj dozi od 150 μ l (8,75 %) dok je u tretmanima na žitnom kukuljičaru pri istim uvjetima, ostvaren mortalitet od 10 % već nakon 5. dana i ostao je isti do kraja ekspozicije;
- Najneučinkovitije insekticidno djelovanje se pokazalo u tretmanima s eteričnim uljem kombinacije mandarine i naranče gdje se u tretmanu na rižinom žišku ostvario mortalitet pri najvećoj dozi 6,25 % a u tretmanu na žitnim kukuljičarom od 1,25 % pri 19. danu ekspozicije;
- Najdjelotvornije eterično ulje u ovom istraživanju pokazalo se eterično ulje mente, gdje je postignut maksimalni mortalitet na oba štetnika nakon 5. dana ekspozicije pri svim primijenjenim dozama;
- Nadalje, eterično ulje čajevca je također potvrdilo odličan insekticidni utjecaj nad rižinim žiškom te žitnim kukuljičarem. U jednom i drugom tretmanu postignut je mortalitet od 100 % već nakon 5. dana ekspozicije;
- Učinkovitost ovih prirodnih insekticida može varirati ovisno o uvjetima okoline i specifičnim vrstama štetnika. Također je važno pridržavati se sigurnosnih smjernica pri primjeni ovih ulja kako bi se osigurala sigurnost i učinkovitost pri korištenju.
- Eterična ulja mente, lavande, čajevca te kombinacije mandarine i naranče pokazala su se obećavajućim sredstvima za kontrolu rižinog žiška i žitnog kukuljičara u poljoprivredi. Njihova upotreba može pružiti održivu i ekološki prihvatljivu alternativu konvencionalnim insekticidima, smanjujući rizik od toksičnih ostataka u

hrani i negativnih utjecaja na okoliš. Ipak, daljnja istraživanja i ispitivanja potrebna su kako bi se bolje razumjeli mehanizmi djelovanja ovih ulja, razvile optimalne metode primjene te osigurala njihova učinkovitost u stvarnim poljoprivrednim uvjetima.

7. Literatura

1. Abo Arab, R.B., El-Tawelah, N.M., Abouelatta, A.M., Hamza, A.M. (2022.): Potential of selected plant essential oils in management of *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.) on wheat grains. Bulletin of the National Research Centre, 46(1), 192.
2. Ainane, A., Khammour, F., M'hammed, E.L., Talbi, M., Oussaid, A., Lemhidi, A., Ainane, T. (2019.): Evaluation of the toxicity of the essential oils of certain mints grown in the region of Settat (Morocco): *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* and *Mentha spicata* against, *Sitophilus Granarius*, *Sitophilus Oryzae* and *Sitophilus Zeamais*. Journal of Analytical Sciences and Applied Biotechnology, 1(1), 1-1.
3. Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A.K.M. (2013.): Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of food engineering, 117(4), 426-436.
4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008.): Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology, 46(2), 446-475.
5. Baskar K., Sasikumar, S., Muthu, C., Kingsley, S., Ignacimuthu, S. (2011.): Bioefficacy of *Aristolochia tagala* Cham. Against *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). Saudi Journal of Biological Sciences 18, 23-27.
6. Burt, S. (2004.): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology, 94(3), 223-253.
7. Campolo, O., Giunti, G., Russo, A., Palmeri, V., Zappalà, L. (2018.): Essential oils in stored product insect pest control. Journal of Food Quality, 2018, 1-18.
8. Chittenden, F.H. (1911.): The fig moth (No. 104). US Department of Agriculture, Bureau of Entomology.
9. Coats, J.R., Karr, L.L., Drewes, C.D. (1992.): Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids: In insects and earthworms. Naturally Occurring Pest Bioregulators. 449(20): 305-316.
10. Ferenčić, D., Gluhić, D., Dudaš, S. (2016.): Eterična ulja i nusproizvodi kore mandarine (*Citrus reticulata* Blanco). Glasnik zaštite bilja, 39(5), 44-49.
11. Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., Zygadlo, J.A. (2008.): Mosquito repellent Activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. Bioresource Technology 99, 2507-2515.

12. Grunwald, J., Janicke, C. (2006.): Zelena ljekarna, Mozaik knjiga, Zagreb. 416 str.
13. Gulin, I. (2014.): Smilje (*Helichrysum italicum*) kao izvor eteričnog ulja. Završni rad. Agronomski fakultet, Zagreb.
14. Hassiotis, C.N., Lazari, D.M., Vlachonasios, K.E. (2010.): The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolila* Mill., Fresenius Environmental Bulletin, 19(8): 1491-1498.
15. Hederić, I. (2020.): prema Kalinović, 1993 : Štetnici u našim skladištima i mogućnosti njihovog suzbijanja. Zbornik ZUPP–Zaštita uskladištenih poljoprivrednih proizvoda, 25(26), 1-8.
16. Hough-Goldstein, J. A. (1990.): Antifeedant effects of common herbs on the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Environmental Entomology. 19: 234 – 238.
17. Igrc-Barčić, J., Maceljiski, M. (2001.): Ekološki prihvatljiva zaštita bilja od štetnika. Zrinski, Čakovec, str:10,85, 121-122.
18. Isman, M.B. (2006.): Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.
19. Jokić, S., Aladić, K.: (2020.): Ekstrakcija i destilacija bioaktivnih komponenti iz ljekovitog i aromatičnog bilja. Razvojna Agencija Mrav d.o.o. U Prerađivač ljekovitog bilja, str. 63-86.
20. Jovanović, Z., Kostić, M., Popović, Z. (2007.): Grain-protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. Industrial Crops and Products 26, 100- 104.
21. Kalođera, Z., Blažević, N., Salopek, N., Jurišić, R. (1998.): Eterična ulja (aetherolea). Farmaceutski glasnik, 54(6), 195-210.
22. Katz, T.M., Miller, J.H., Hebert, A.A. (2008.): Insect repellents: Historical perspectives and new developments. Journal of the American Academy of Dermatology 58: 865-71.
23. Kim, S.I., Ahn, Y.J., Kwon, H.W. (2012.): Toxicity of aromatic plants and their constituents against coleopteran stored products insect pests. New Perspectives in Plant Protection, ed. AR Bandani (London: InTech), 93-120.
24. Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S., Ahn, Y.J. (2003.): Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of Stored products research, 39(3), 293-303.

25. Kišgeci, J. (2008.): Ljekovite i aromatične biljke. Beograd i Novi Sad: Partenon Beograd i Srpska književna zadruga.
26. Korunić, Z. (1990.): Štetnici uskladištenih poljoprivrednih proizvoda: biologija, ekologija i suzbijanje. *Gospodarski list*.
27. Korunić, Z., Rozman, V. (2012.): Biljni insekticidi. *Zbornik radova seminara DDD i ZUPP*, 24, 269-307.
28. Koul O., Walia, S., Dhaliwal, G.S. (2008.): Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International* 4, (1): 63-84.
29. Kremer, B. (2007.): Ljekovito bilje. Zagreb: Begen d.o.o.
30. Kuštrak, D. (2005.): Farmakognozija: fitofarmacija, Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb.
31. Liška, A., Rozman, V., Lucić, P. (2019.): Noviji pristup detekciji i monitoringu skladišnih kukaca. *Glasnik zaštite bilja*.
32. Malešević, S., Grdiša, M., Carović Stanko, K. (2015.): Uporaba eteričnih ulja u zaštiti uskladištenog sjemena. *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*, 77(1-2), 41-59.
33. Ngassoum, M.B., Tinkeu, L.S.N., Ngatanko, I., Tapondjou, L.A., Lognay, G., Malaisse, F., Hance, T. (2007.): Chemical composition, insecticidal effect and repellent activity of essential oils of three aromatic plants, alone and in combination, towards *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Natural Product Communications*, 2(12), 1934578X0700201207.
34. Pavela, R. (2015.): Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial crops and products*, 76, 174-187.
35. Pejić, P. (2019): Učinkovitost piretrina, eteričnog ulja čajevca i limunskog eukaliptusa u suzbijanju ličinki *Tribolium castaneum* (Doctoral dissertation, University of Zagreb. Faculty of Agriculture. Department of Seed Science and Technology).
36. Pimentel, D. (1991.): Diversification of biological control strategies in agriculture. *Crop protection*, 10(4), 243-253.
37. Pohajda, I. (2006.): Uzgoj lavande u kontinentalnom području. *Bilten HZPSS*, br. 116., 4.
38. Rashed, M.M.A., Tong, Q., Nagi, A., Li, J., Khan, N.U., Chen, L., Bakry, A.M. (2017.): Isolation of essential oil from *Lavandula angustifolia* by using ultrasonic-

- microwave assisted method preceded by enzymolysis treatment, and assessment of its biological activities. *Ind. Crops Prod.* 100, 236–245.
39. Regnault-Roger, C., Hamraoui, A., Holeman, M., Theron, E., Pinel, R. (1993.): Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Chemical Ecology.* 19(6): 1233 – 1244.
 40. Rotim, N., Ostojić, I. (2014.): Najvažniji štetnici uskladištenih poljoprivrednih proizvoda na području Bosne i Hercegovine. *Glasnik zaštite bilja*, 37(6), 40-45.
 41. Zimmermann, R.C., de Carvalho Aragão, C.E., Pereira de Araújo, P.J., Benatto, A., Chaaban, A., Nogueira Martins, C.E., do Amaral, W., Cipriano, R.R., Zawadneak, M.A.C. (2021.): Insecticide activity and toxicity of essential oils against two stored-product insects. *Crop Protection.* Volume 144, June 2021, 105575.
 42. Sarac A., Tunc I. (1995.): Residual toxicity and repellency of essential oils to stored-product insects. *Journal of Plant Diseases and Protection.* 102: 429 – 234.
 43. Southwell, I., Lowe, R. (1999.): *Tea tree: the genus Melaleuca.* CRC Press.
 44. Tang, W., Eisenbrand, G. (2013.): *Chinese drugs of plant origin: chemistry, pharmacology, and use in traditional and modern medicine.* Springer Science & Business Media.
 45. Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., Cullen, P. J. (2009.). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 5987-6000.
 46. Verman, R.S., Rahman, L.U., Chanotiya, C.S., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A., Yadav, A.K. (2010.): Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India, *J. Serb. Chem. Soc.*, 75(3): 343-348.
 47. Watanabe, K., Shono, Y., Kakimizu, A., Okada, A., Matsuo, N., Satoh, A., Nishimura, H. (1993.): New mosquito repellent from *Eucalyptus camaldulensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 2164-2166.
 48. Windisch, W, Schedle, K., Plitzner, C., Kroismayr, A. (2008.): Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 86:140-148.
 49. Wink, M. (1993.): Production and Application of Phytochemicals from an agricultural perspective. In: Beek, V.T.A. and Breteler, H., Eds., *Phytochemistry and Agriculture* Clarendon, Oxford, Vol. 34, 171-213.

50. Yang, Y., Isman, M.B., Tak, J.H. (2020.): Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing Cinnamomum cassia bark essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Insects*, 11(8), 474.
51. Yazdgerdian, A.R., Akhtar, Y., Isman, M.B. (2015.): Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Zool. Stud*, 3(3), 265-271.
52. Zuzarte, M., Salgueiro, L. (2015.): Essential oils chemistry. Bioactive essential oils and cancer, 19-61.

Poveznice s interneta:

1. <https://profokus.hr/etericna-ulja/> (19.08.2023.)
2. <https://krenizdravo.dnevnik.hr/ljepota/njega-tijela/kako-napraviti-ulje-od-lavande> (19.08.2023.)
3. [Eterično ulje naranče: Znamo kako napraviti ulje omiljenog citrusa koje smiruje, a odlično je i za lice i kosu | Kreni zdravo! \(dnevnik.hr\)](#) (23.8.2023.)
4. <https://www.futunatura.hr/cajevac> (06.09.2023.)
5. <https://www.ekozastita.com/zitni-kukuljicar> (06.09.2023.)

8. Sažetak

Provedeno je istraživanje insekticidnog djelovanja različitih eteričnih ulja na *S. oryzae* i *R. dominica* nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije. Provedeni su tretmani sa eteričnim uljima lavande (*L. angustifolia*), kombinacije mandarine i naranče (*C. reticulata* i *C. sinensis*), mente (*M. arvensis*) i čajevca (*M. alternifolia*) u dozama od 50 μ l, 100 μ l i 150 μ l. Najboljim su se pokazala eterična ulja mente i čajevca koja su postigla već 5. dana ekspozicije 100 % mortalitet pri svim dozama kod *S. oryzae* i *R. dominica*. Eterično ulje kombinacije mandarine i naranče imalo je najlošije rezultate, naime nakon 19. dana ekspozicije pri najvećoj dozi, kod *S. oryzae* ostvario se mortalitet od 6,25 %, dok je kod tretmana na *R. dominica*, pri istim uvjetima, mortalitet iznosio 2,50 %. Kod tretmana s eteričnim uljem lavande, mortalitet je rastao zajedno za povećanjem doze i ekspozicijom, tako je najveća doza od 150 μ l postigla najviši mortalitet kod *S. oryzae* (8,75 %) i kod *R. dominica* (10 %).

Ključne riječi: eterična ulja, ekspozicija, mortalitet, žitni kukuljičar, rižin žižak

9. Summary

Research was conducted on the insecticidal effects of various essential oils on the *S. oryzae* and *R. dominica* after the 5th, 12th, and 19th day of exposure. Treatments were carried out with essential oils: lavender (*L. angustifolia*) a combination of mandarin and orange (*C. reticulata* and *C. sinensis*), mint (*M. arvensis*), and tea tree (*M. alternifolia*) essential oils at doses of 50 μ l, 100 μ l, and 150 μ l. The most effective essential oils were *M. arvensis* and *M. alternifolia* oil, achieving 100% mortality in *S.oryzae* and *R. dominica* after only 5 days of exposure at all doses. The essential oil combination of mandarin and orange had the poorest results, with a mortality rate of 6.25% on *S. oryzae* and 2.50% on *R. dominica* after 19 days of exposure at the highest dose. In the case of lavender essential oil treatment, mortality increased with both dose and exposure duration. The highest dose of 150 μ l resulted in the highest mortality rates, reaching 8.75% on *S. oryzae* and 10% on *R. dominica*.

Keywords: essential oils, exposure, mortality, lesser grain borer, rice weevil

10. Popis tablica

| Red. br. | Naziv tablice | Str. |
|-----------------|---|-------------|
| Tablica 1. | Insekticidno djelovanje eteričnih ulja <i>L. angustifolia</i> , kombinacije <i>C. reticulata</i> i <i>C. sinensis</i> , <i>M. arvensis</i> i <i>M. alternifolia</i> na <i>R. dominica</i> nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije na pšenici | 16 |
| Tablica 2. | Insekticidno djelovanje eteričnih ulja <i>L. angustifolia</i> , kombinacije <i>C. reticulata</i> i <i>C. sinensis</i> , <i>M. arvensis</i> i <i>M. alternifolia</i> na <i>S. oryzae</i> nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije na pšenici | 18 |

11. Popis slika

| Red. br. | Naziv slike | Str. |
|-----------------|--|-------------|
| Slika 1. | Žitni kukuljičar (<i>R. dominica</i>) | 10 |
| Slika 2. | Rižin žižak (<i>S. oryzae</i>) | 10 |
| Slika 3. | Prosijavanje pšenice od primjesa | 13 |
| Slika 4. | Apliciranje eteričnog ulja pomoću pipete | 14 |
| Slika 5. | Odvaga 100 g pšenice za tretmane | 14 |

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Zaštita bilja

Insekticidni učinak eteričnih ulja na imago žitnog kukuljičara (*Rhizopertha dominica*) i rižinog žiška (*Sitophilus oryzae*) na pšenici

Latica Brlas

Sažetak

Provedeno je istraživanje insekticidnog djelovanja različitih eteričnih ulja na *S. oryzae* i *R. dominica* nakon 5., 12. i 19. dana ekspozicije. Provedeni su tretmani sa eteričnim uljima lavande (*L. angustifolia*), kombinacije mandarine i naranče (*C. reticulata* i *C. sinensis*), mente (*M. arvensis*) i čajevca (*M. alternifolia*) u dozama od 50 µl, 100 µl i 150 µl. Najboljim su se pokazala eterična ulja mente i čajevca koja su postigla već 5. dana ekspozicije 100 % mortalitet pri svim dozama kod *S. oryzae* i *R. dominica*. Eterično ulje kombinacije mandarine i naranče imalo je najlošije rezultate, naime nakon 19. dana ekspozicije pri najvećoj dozi, kod *S. oryzae* ostvario se mortalitet od 6,25 %, dok je kod tretmana na *R. dominica*, pri istim uvjetima, mortalitet iznosio 2,50 %. Kod tretmana s eteričnim uljem lavande, mortalitet je rastao zajedno za povećanjem doze i ekspozicijom, tako je najveća doza od 150 µl postigla najviši mortalitet kod *S. oryzae* (8,75 %) i kod *R. dominica* (10 %).

Glavne riječi: eterična ulja, ekspozicija, mortalitet, žitni kukuljičar, rižin žižak

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: doc. dr. sc. Pavo Lucić

Broj stranica: 35

Broj grafikona i slika: 5

Broj tablica: 2

Broj literaturnih navoda: 52

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Datum obrane: 28. rujna 2023.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Anita Liška, predsjednica
2. doc. dr. sc. Pavo Lucić, mentor
3. doc. dr. sc. Marija Ravlić, članica

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek.

Insecticidal effect of essential oils on imago of both lesser grain borer (*Rhizopertha dominica*) and rice weevil (*Sitophilus oryzae*) on wheat
Latica Brlas

Abstract:

Research was conducted on the insecticidal effects of various essential oils on the *S. oryzae* and *R. dominica* after the 5th, 12th, and 19th day of exposure. Treatments were carried out with essential oils: lavender (*L. angustifolia*) a combination of mandarin and orange (*C. reticulata* and *C. sinensis*), mint (*M. arvensis*), and tea tree (*M. alternifolia*) essential oils at doses of 50 µl, 100 µl, and 150 µl. The most effective essential oils were *M. arvensis* and *M. alternifolia* oil, achieving 100% mortality in *S.oryzae* and *R. dominica* after only 5 days of exposure at all doses. The essential oil combination of mandarin and orange had the poorest results, with a mortality rate of 6.25% on *S. oryzae* and 2.50% on *R. dominica* after 19 days of exposure at the highest dose. In the case of lavender essential oil treatment, mortality increased with both dose and exposure duration. The highest dose of 150 µl resulted in the highest mortality rates, reaching 8.75% on *S. oryzae* and 10% on *R. dominica*.

Key words: essential oils, exposure, mortality, lesser grain borer, rice weevil

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: Pavo Lucić, PhD, Assistant professor

Number of pages: 35

Number of figures: 5

Number of tables: 2

Number of references: 52

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Thesis defended on date: 28th September 2023

Reviewers:

1. Anita Liška, PhD, Full professor, chair
2. Pavo Lucić, PhD, Assistant professor, mentor
3. Marija Ravlić, PhD, Assistant professor, member

Thesis deposited at: Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, University of Osijek, Vladimir Prelog 1, 31000 Osijek.