

# Izravna i rezidualna toksičnost insekticida na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus*

---

Miholić, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:807962>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Luka Miholić

**Izravna i rezidualna toksičnost insekticida na  
predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus***

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Luka Miholić

**Direct and residual toxicity of insecticides to  
the predatory mirid *Macrolophus pygmaeus***

Master thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za entomologiju na Zavodu za poljoprivrednu zoologiju Agronomskog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Renate Bažok, te komentorstvom prof. dr. sc. Ivančice Ternjej. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistar znanosti o okolišu

*U ovom dijelu diplomskog rada bih se htio zahvaliti svima koji su mi pomogli i pratili me u mom školovanju i tokom izrade ovog rada*

*Prvenstveno želim zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Renati Bažok i komentorici prof. dr. sc. Ivančici Ternjej što su mi omogućile izradu ovog rada i pomogle prilikom pisanja*

*Želio bih zahvaliti i asistentici Martini Kadoić Balaško i svim asistenticama i studentima koji su mi pomogli u tehničkoj izvedbi ovog rada*

*Zahvaljujem svim svojim prijateljima koji su bili uz mene u svim mojim veselim, radosnim, stresnim i tužnim trenucima studiranja od početka do kraja*

*Na kraju se i posebno zahvaljujem svojoj mami, tati, bratu i sestri koji su mi uvijek bili podrška i omogućili mi da slijedim svoje želje i snove i pružili mi bezuvjetnu podršku i ljubav*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

## Izravna i rezidualna toksičnost insekticida na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus*

Luka Miholić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

U integriranoj zaštiti biljaka često se nameće potreba istovremenog suzbijanja štetnika upotrebom kemijskih sredstava i pomoću prirodnih neprijatelja. U takvim je slučajevima od izuzetne važnosti poznavati učinak pojedinih insekticida na što veći broj prirodnih neprijatelja. Predatorska stjenica *Macrolophus pygmaeus* Rambur koristi se za suzbijanje štitastih moljaca, tripsa, koprivine grinje, lisnih uši i drugih značajnih štetnika u stakleničkoj proizvodnji plodovitog povrća. Cilj ovog rada bio je utvrditi izravnu i rezidualnu (1, 3 i 7 dana nakon tretiranja) toksičnost insekticida na osnovi djelatnih tvari azadiraktin, spinosad, piretrin, lambda-cihalotrin, acetamiprid, abamectin i lufenuron primijenjenih u tri koncentracije na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus*. Hipoteza je da osjetljivost vrste *Macrolophus pygmaeus* ovisi o vrsti insekticida i primijenjenoj koncentraciji pri čemu je osjetljivost pri izravnom tretiranju najveća, a u slučaju ispuštanja stjenica na tretirane biljke osjetljivost raste s porastom koncentracije primijenjenog insekticida dok se smanjuje s protokom vremena koje je prošlo od tretiranja do izlaganja stjenice insekticidu. Rezultati su pokazali da izravni kontakt insekticida ima jači utjecaj od rezidualnog, dok kod rezidualnog utjecaj opada sa starošću depozita insekticida. Učinak insekticida u oba pokusa je jačao s protekom vremena od izlaganja stjenica insekticidima. Porast koncentracije insekticida nije imao značajan učinak na osjetljivost stjenice.

Ključne riječi: održiva poljoprivreda, prirodni neprijatelji, integrirana zaštita bilja  
(45 stranica, 16 slika, 9 tablica, 36 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski, 1 prilog)  
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof.dr.sc. Renata Bažok  
Komentor: prof.dr.sc. Ivančica Ternjež

Ocjenitelji:

Doc. dr. sc.

Izv. prof. dr. sc. (prije imena nastavnika navesti njihove titule)

Prof. dr. sc.

Rad prihvaćen: (navesti datum sjednice Povjerenstva za diplomske radove na kojoj je rad prihvaćen)

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Master thesis

Direct and residual toxicity of insecticides to the predatory mirid

*Macrolophus pygmaeus*

Luka Miholić

Rooseveltovej trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

In integrated plant protection, there is often a need to control pests at the same time using chemical agents and natural enemies. In such cases, it is extremely important to know the effect of individual insecticides on as many natural enemies as possible. The predatory bug *Macrolophus pygmaeus* Rambur is used to control shield moths, thrips, nettle mites, aphids and other significant pests in the greenhouse production of fruit-bearing vegetables. The aim of this work was to determine the direct and residual (1, 3 and 7 days after treatment) toxicity of insecticides based on the active substances azadirachtin, spinosad, pyrethrin, lambda-cyhalothrin, acetamiprid, abamectin and lufenuron applied in three concentrations to the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. The hypothesis is that the sensitivity of the *Macrolophus pygmaeus* species depends on the type of insecticide and the applied concentration, where the sensitivity is the highest during direct treatment, and in the case of the release of mirids on treated plants, the sensitivity increases with the increase in the concentration of the applied insecticide, while it decreases with the passage of time that has passed from treatment to exposure of mirids to insecticide. The results showed that direct insecticide contact has a stronger impact than residual one, while the residual impact decreases with the age of the insecticide deposit. The effect of the insecticides in both experiments increased with the passage of time after the exposure of the mirids to the insecticides. The differences in the concentrations of insecticides weren't significant.

Keywords: sustainable agriculture, natural enemies, integrated plant protection

(45 pages, 16 figures, 8 tables, 36 references, original in: croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Renata Bažok, PhD

Co-mentor: Prof. Ivančica Ternjej, PhD

Reviewers:

Asst. Prof. , PhD

Assoc. Prof. , PhD

Prof. , PhD

Thesis accepted:

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD .....   | 2  |
| 1.1. Biološko suzbijanje nametnika .....                            | 2  |
| 1.1.1. Definicija i metode biološkog suzbijanja .....               | 2  |
| 1.1.2. Augmentativni način biološkog suzbijanja .....               | 3  |
| 1.1.3. Najčešće korišteni organizmi za biološko suzbijanje.....     | 4  |
| 1.2. Stjenica <i>Macrolophus pygmaeus</i> Rambur.....               | 4  |
| 1.2.1. Sistematika i morfologija .....                              | 4  |
| 1.2.2. Životni ciklus i ekologija .....                             | 6  |
| 1.2.3. Korištenje u biološkom suzbijanju.....                       | 8  |
| 1.3. Sintetski insekticidi .....                                    | 8  |
| 1.3.1. Mehanizam dobivanja dozvole sredstava za zaštitu bilja ..... | 8  |
| 1.3.2. Podjela insekticida po mehanizmu djelovanja .....            | 10 |
| 1.3.3. Ekološki prihvatljivi insekticidi .....                      | 11 |
| 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....                                       | 13 |
| 3. MATERIJALI I METODE .....  | 14 |
| 3.1. Insekticidi uključeni u pokus .....                            | 14 |
| 3.2. Rezidualni test toksičnosti .....                              | 17 |
| 3.3. Test izravnog kontaktnog djelovanja .....                      | 21 |
| 3.4. Statistička analiza rezultata .....                            | 21 |
| 4. REZULTATI.....   | 23 |
| 4.1. Rezidualni test toksičnosti .....                              | 23 |
| 4.2. Test izravnog kontaktnog djelovanja .....                      | 28 |
| 5. RASPRAVA .....   | 33 |
| 6. ZAKLJUČAK .....  | 38 |
| 7. LITERATURA .....   | 39 |
| 8. ŽIVOTOPIS.....   | 43 |



# 1. UVOD

## 1.1. Biološko suzbijanje nametnika

S globalnim porastom stanovništva raste i potreba za proizvodnjom hrane. U većini poljoprivrednih strategija prioriteta su: povećan prinos, zaštita usjeva i zaštita ljudskog zdravlja i okoliša (Meerman i sur. 1996). Poljoprivrednici danas moraju ulagati sve veći napor i sredstva da bi zaštitili usjeve od korova, patogena i herbivornih kukaca – štetnika koji uvelike smanjuju prinos usjeva (Daily 2012).

Sve vrste biljnih štetnika imaju brojne i različite prirodne neprijatelje koji uz abiotičke čimbenike i čovjeka reguliraju populacije štetnika. Nastojanje da se svim mogućim postupcima zaštite biljke, a što manje naštetiti prirodnim neprijateljima osnovni je temelj integrirane zaštite bilja a time i održive poljoprivrede i očuvanja biološke raznolikosti (Igrc Barčić i Maceljki 2001).

Integrirana zaštita bilja je dio održive poljoprivrede te je njezin cilj integriranje svih raspoloživih mjera za zaštitu bilja i suzbijanje štetnih organizama. Potiče se kombinacija upotrebe selektivnih pesticida i prirodnih neprijatelja u svrhu što učinkovitije zaštite (Barzman i sur. 2015). Integrirana zaštita bilja potiče biološko suzbijanje štetnika, a posebice onih u zaštićenim područjima.

### 1.1.1. Definicija i metode biološkog suzbijanja

Biološko suzbijanje biljnih štetočina podrazumijeva izravno ili neizravno korištenje različitih organizama i njihovih proizvoda u svrhu suzbijanja štetnika. Najpoznatiji i vjerojatno najstariji primjer jest korištenje mačaka za suzbijanje miševa (Igrc Barčić i Maceljki 2001).

Biološko suzbijanje štetnika provodi se na tri osnovna načina:

konzervacijski način – očuvanje i (ili) stvaranje povoljnih uvjeta autohtonim prirodnim neprijateljima

augmentativni način – uzgoj, razmnožavanje i ispuštanje autohtonih prirodnih neprijatelja

klasični način – unos (introdukcija) prirodnih neprijatelja iz njihovog podneblja na neko novo područje na koje je unesen njihov domaćin.

Prilikom primjene augmentativnih i klasičnih postupaka biološkog suzbijanja upotrebljavaju se biopesticidi (Igrc Barčić i Maceljki 2001). Biopesticidi su proizvodi koji se koriste za suzbijanje štetnika. Najčešće su podijeljeni na makrobiološka sredstva (predatori, parazitoidi, nematode), mikrobiološka sredstva (bakterije, virusi, gljive itd.), prirodne pesticide i derivate određenih organizama (Bažok 2022b).

### 1.1.2. Augmentativni način biološkog suzbijanja

Augmentativni način primjenjuje se kada u prirodi postoje neki učinkoviti prirodni neprijatelji, ali ih nema dovoljno da značajno smanje brojnost štetnika. U ovoj metodi pokušavaju se uzgojiti sojevi učinkovitih prirodnih neprijatelja koji se ispuštaju na željeno područje. Važno je naglasiti da se u ovoj metodi koriste isključivo autohtone vrste prirodnih neprijatelja. U augmentativnom načinu moguće je koristiti i razne mikrobiološke pripravke dobivene iz bakterija, virusa i gljivica da bi se smanjio broj štetnika (Igrc Baričić i Maceljki 2001).

Ova metoda implementira se na nekoliko načina: uzgoj prirodnih neprijatelja u laboratoriju i ispuštanje u polje, sakupljanje prirodnih neprijatelja na jednom području te njihov transport na polje gdje se želi vršiti biološko suzbijanje i nabava prirodnih neprijatelja kod ovlaštenih proizvođača/dobavljača.

Za uspješnu upotrebu prirodnih neprijatelja potrebni su: točna i precizna identifikacija štetnika, točna i na vrijeme procijenjena prijetnja, odabir optimalnog prirodnog neprijatelja za specifične uvjete, određivanje optimalnog omjera između broja štetnika i broja prirodnih neprijatelja, povjerenje u proizvođača/dobavljača prirodnog neprijatelja koji garantira kvalitetu i isporuku na vrijeme, ispravno pripremljeno spremište za prirodnog neprijatelja prije ispuštanja, obavljene prethodne mjere u polju u koje se prirodni neprijatelj ispušta (Bažok 2022b).

### 1.1.3. Najčešće korišteni organizmi za biološko suzbijanje

Prirodni neprijatelji su člankonošci i ostali beskralježnjaci koji se hrane štetnicima (Hajek i Eilenberg 2018). Grabežljivci i parazitoidi koji se hrane kukcima nazivaju se entomofagi, a oni koji se hrane grinjama akarifagi. U prirodne neprijatelje ubrajaju se i bolesti štetnika uzrokovane bakterijama, gljivicama, virusima, fitoplazmama i protozoama (Igrc Baričić i Maceljski 2001). Najpoznatiji primjer prirodnih neprijatelja su božje ovčice, Coccinellidae, koje se hrane lisnim ušima. Još neki od često upotrebljivanih prirodnih neprijatelja su i parazitske osice *Encarsia formosa* Gahan i *Trichogramma cacoeciae* March. te grabežljiva grinja *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot. Parazitska osica *Encarsia formosa* je vrlo učinkovita i naveliko korištena protiv štitastog moljca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood koji je čest štetnik povrća u staklenicima. Grabežljiva grinja *Phytoseiulus persimilis* se koristi protiv crvenih pauka, Tetranychidae, a grabežljive grinje *Neoseiulus cucumeris* Oudemans i *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot protiv resokrilaca, red Thysanoptera (Hajek i Eilenberg 2018).

## 1.2. Stjenica *Macrolophus pygmaeus* Rambur

### 1.2.1. Sistematika i morfologija

Sistematska pripadnost stjenice *Macrolophus pygmaeus* Rambur prikazana je u tablici 1.

Tablica 1. Prikaz sistematske pripadnosti *Macrolophus pygmaeus* Rambur (URL 1)

|          |                             |
|----------|-----------------------------|
| Koljeno  | Arthropoda                  |
| Razred   | Insecta                     |
| Red      | Hemiptera                   |
| Podred   | Heteroptera                 |
| Porodica | Miridae                     |
| Rod      | <i>Macrolophus</i>          |
| Vrsta    | <i>Macrolophus pygmaeus</i> |

*Macrolophus pygmaeus* (slika 1) vrsta je stjenice koja pripada u porodicu Miridae koja je s više od 10 000 vrsta najveća porodica u redu raznokrilaca, Heteroptera (Habdija i sur. 2011, Grimaldi i Engel 2005).

Raznokrilci se od drugih kukaca razlikuju po strukturi krila. Naime, oni imaju dva para krila od kojih su stražnja uska i opnasta te služe za let. Prednja krila nazivaju se polupokrilja, ona nisu jednaka strukturom po cijeloj površini. Donji dio je hitiniziran a vršni dio opnast (Gotlin Čuljak i Juran 2016). Za vrijeme kada kukac ne leti prednja krila su položena na tijelo i u potpunost prekrivaju stražnja. Prednja krila služe kao mehanička zaštita, ali i za mimikriju zbog svoje obojanosti. Većina odraslih jedinki ima mirisne žlijezde koje se otvaraju bočno na prsima te ispuštaju neugodan miris kada su u opasnosti. Raznokrilci su brojna i rasprostranjena skupina te ih se može pronaći svugdje. Većina vrsta su kopnene no postoje i vodene vrste. Prema prehrani, većina vrsta su herbivori no neke su i karnivori. Neke herbivorne vrste su štetnici u poljoprivredi a neke karnivorne suzbijaju te štetnike. Nekoliko vrsta su i paraziti te se hrane krvlju čovjeka i životinja te mogu prenositi i brojne bolesti (Habdija i sur. 2011).

Pripadnici porodice Miridae većinom su duguljasti ili ovalni te mnogi imaju izraženu mimikriju (Habdija i sur. 2011). Boje variraju od smeđih i zelenih pa sve do crvenih i žutih. Najčešće se mogu naći na listovima biljaka zato što imaju specifično građena „stopala“ *tarsus* koja im omogućavaju lako hvatanje za listove. Zanimljivo je da mnoge vrste nalikuju na mrave. Ova vrsta mimikrije im služi za izbjegavanje predatora koji se drže podalje od mrava (Preston-Mafham i Preston-Mafham 2005). Većina pripadnika porodice Miridae je fitofagna, hrani se biljnim materijalom, no ima i predatorskih vrsta poput *Macrolophus pygmaeus*. Smatra se da se prvo pojavila predacija u ovoj porodici, a tek potom fitofagija (Grimaldi i Engel 2005). Većina pripadnika ove porodice se nalazi u tropskim krajevima no neke vrste žive i u umjerenim krajevima Sjeverne Amerike i Europe (Preston-Mafham i Preston-Mafham 2005).

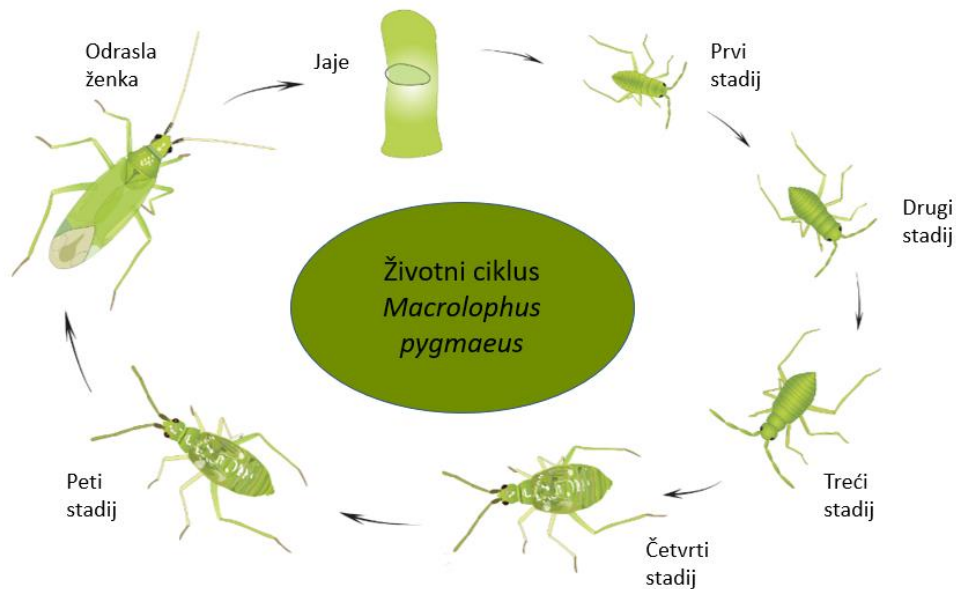


Slika 1. *Macrolophus pygmaeus* Rambur ( URL 2)

Odrasle jedinke *Macrolophus pygmaeus* su dugačke 3-3.5 milimetara, izražajno zelene su boje s crnom točkicom u sredini. Ticala, noge i krila su dugački i bezbojni, a baza ticala je crna kao i tamne mrlje iza očiju (URL 3).

### 1.2.2. Životni ciklus i ekologija

Ženka ove vrste polaže 100-250 jaja četiri tjedna nakon oplodnje. Jaja su vrlo malena te nisu vidljiva golim okom no područje oko položenih jajašaca je svjetlo smeđe boje. Ženka položi jaja unutar lista ili stabljike (slika 2). Nakon 15 dana izlegnu se malene ličinke koje su žuto-zelene boje (URL 3). Preobrazba je paurometabolna i obuhvaća pet ličinačkih stadija. Paurometabolna preobrazba je ona u kojoj nedostaje stadij kukuljice, dakle nepotpuna preobrazba. I nimfe i odrasle jedinke su slični po vanjskom izgledu. Postupnim presvlačenjem nimfe se razvijaju u odrasle kukce koji su veći, imaju funkcionalna krila i kopulatorne organe (Habdija i sur. 2011). Životni vijek odrasle jedinke je od 30 do 40 dana (URL 3).



Slika 2. Životni ciklus *Macrolophus pygmaeus* Rambur (URL 4)

Duljina razvoja ličinki ovisi i o vrsti prehrane. Tako je dokazano da razvoj dulje traje ako se ličinke hrane jajima južnoameričkog moljca rajčice *Tuta absoluta* Meyrick negoli jajima brašnenog moljca *Ephestia kuehniella* Zeller ili ličinkama duhanovog štitastog moljca *Bemisia tabaci* Gennadius. Također se u istom slučaju smanjio i fertilitet ženki stjenica (Sylla i sur. 2016).

Na nižim temperaturama razvoj stjenica traje dulje, a pri temperaturi od 10°C ne dolazi do presvlačenja ličinki ili razmnožavanja. Temperatura iznad 30°C smrtonosna je za jaja, a iznad 40°C za ličinke (URL 3).

Vrsta *Macrolophus pygmaeus* vrlo učinkovito kontrolira populaciju štetnika na povrtnim kulturama. Svi ličinački stadiji i odrasli stadij hrane se štetnicima. Primjerice, u istraživanjima je pokazano kako samo jedna ženka stjenice *Macrolophus pygmaeus* u jednom danu može pojesti 15 ličinki lisne uši *Myzus persicae* Sulzer (Perdikis i Lykouressi 2004).

*Macrolophus pygmaeus* je omnivorna vrsta koja u nedostatku plijena može preživjeti hraneći se biljnim materijalom. De Backer i suradnici (2015) dokazali su da se prilikom traženja hrane oslanja na svoj njuh te pomoću njega može otkriti na kojoj se biljci nalaze štetnici a na kojoj ne. Većina znanstvenika smatra ovu vrstu bezopasnom za usjeve te ju i dalje preporučuje u biološkom suzbijanju štetnika. Međutim Moerkens i suradnici su 2016. objavili da ova stjenica

može izazvati ekonomsku štetu u kulturama rajčice bez obzira na prisutnost plijena. Stoga su daljnja istraživanja ekologije ove vrste vrlo važna (Maselou i sur. 2019).

### 1.2.3. Korištenje u biološkom suzbijanju

Predatorska stjenica *Macrolophus pygmaeus* se koristi za suzbijanje štitastih moljaca, resokrilaca, grinja, lisnih uši i štetnika iz reda Lepidoptera. No jedna vrsta štetnika često nije dostatna hrana za održavanje populacije stjenica već je potreban i alternativan izvor hrane. Primjerice, laboratorijsko istraživanje je pokazalo da isključivo hranjenje s jajima južnoameričkog moljca rajčice *Tuta absoluta* nije dovoljno da se populacija *Macrolophus pygmaeus* održi. Razlog tome je vrlo mala nutritivna vrijednost tih jaja. No kada su se stjenice hranile i jajima brašnenog moljca *Ephestia kuehniella*, populacija stjenica je ostala stabilna i biološko suzbijanje je bilo uspješno. Znanstvenici pretpostavljaju da je stoga i u polju važno da stjenice imaju više izvora hrane kako bi biološko suzbijanje bilo učinkovito (Sylla i sur. 2016).

Stjenice se mogu ispuštati preventivno ili kurativno ako je već došlo do pojave štetnika. Neki od primjera puštanja i doziranja stjenica su: u svrhu prevencije štitastih moljaca ispušta se 0,5-1 stjenica po m<sup>2</sup> po cijelom polju u 2-4 navrata u intervalu 1-2 tjedna. U svrhu prevencije moljca rajčice *Tuta absoluta* ispušta se 1,5-2 stjenice po m<sup>2</sup> po cijelom polju u 2-4 navrata u intervalu 1-2 tjedna. U kurativnom suzbijanju ispušta se znatno više stjenica da bi suzbijanje započelo što ranije i bilo što učinkovitije (URL 3). Primjerice, kod jakog napada kurativno suzbijanje provodi se sa 4 stjenice po m<sup>2</sup> (URL 5) te se postupak ponavlja po potrebi. *Macrolophus pygmaeus* dobro podnosi niske temperature pa se ispušta rano u sezoni, mjesec i pol do dva mjeseca nakon sadnje povrća. Optimalna temperatura za ispuštanje je oko 20°C (URL 3).

## 1.3. Sintetski insekticidi

### 1.3.1. Mehanizam dobivanja dozvole sredstava za zaštitu bilja

Sva sredstva za zaštitu bilja koja su u prometu u Hrvatskoj moraju biti odobrena od Ministarstva poljoprivrede. Europska unija nastoji različitim mjerama postići da se u svim državama članicama mjere zaštite bilja primjenjuju sukladno načelima održivosti te se što je više

moгуće smanji primjena pesticida. U tu svrhu osmišljen je zakonodavni okvir i brojne mjere kojima se stvaraju preduvjeti za održivu uporabu pesticida (Barić i Bažok 2020). Takozvani „EU pesticide package“ obuhvaća brojne zakonodavne propise o registraciji pesticida, maksimalno dopuštenim količinama ostataka pesticida u hrani (MRL), obvezi vođenja statističkih podataka o uporabi pesticida, obvezi donošenja nacionalnih akcijskih planova za postizanje održive uporabe pesticida te obvezi redovite kontrole uređaja za primjenu pesticida (Barić i Bažok 2020). Zakonska regulativa Republike Hrvatske u tom je smislu potpuno usklađena sa zakonskom regulativom Europske unije po pitanju proizvodnje, prometa i upotrebe sredstava za zaštitu bilja.

U Hrvatskoj su doneseni brojni zakoni, od ulaska u Europsku uniju 2013., sve da bi se omogućila izravna primjena uredbi iz područja sredstava za zaštitu bilja i ostataka pesticida u hrani. To su Zakon o provedbi Uredbe (EZ) br. 1107/2009 o stavljanju na tržište sredstava za zaštitu bilja i Zakon o provedbi Uredbe (EZ) br. 296/2005 o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani te hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla (80/2013). Zakonom o održivoj upotrebi pesticida (NN14/2014) i njegovim nadopunama iz 2018. i 2020. godine, kao i novim Zakonom o održivoj uporabi pesticida donesenim u travnju 2022. godine (NN 46/2022) regulira se sustav distribucije i prodaje pesticida, rukovanje, skladištenje i postupanje s ambalažom pesticida i ostacima u ambalaži te brojni drugi poslovi.

Postupak registracije sredstva za zaštitu bilja (SZB) propisan je Uredbom Europske Unije (EC1107/2009)). Ova se Uredba izravno primjenjuje i u zakonodavstvu Republike Hrvatske. Prema ovoj regulativi aktivne tvari pesticida odobravaju se na razini EU-a nakon vrlo stroge procjene i evaluacije pozitivnih i negativnih učinaka od strane svih država članica i Europske agencije za sigurnost hrane. Nakon što Europska komisija odobri aktivnu tvar, države članice odobravaju pojedine proizvode za zaštitu bilja na svom teritoriju i osiguravaju usklađenost s propisima EU-a. Osnovno je da svaku aktivnu tvar moraju istražiti ovlašteni laboratoriji koji provode istraživanja toksikologije, ekotoksikologije i rezidua u okolišu. U tim studijima mora se dokazati da aktivna tvar nema nikakve negativne posljedice za zdravlje ljudi i životinja te da ne ostavlja neželjene ostatke u okolišu. Drugi, ne manje važan dio istraživanja su istraživanja učinkovitosti aktivne tvari u kojima se istražuje izravna učinkovitost te se provodi procjena rizika od pojave rezistentnosti, utvrđuju se neželjeni učinci SZB na bilje i biljne proizvode (fitotoksičnost) i neželjeni učinci na proizvodnju i proizvodne sustave (prirodni neprijatelji i



polinatori) (Bažok i sur. 2020). Takvi testovi provode se prvo u laboratorijima, a ako temeljem rezultata laboratorijskih testova nije moguće sredstvo klasificirati, tada se provodi test u polju (Hassan 1985; 1985 a; 1985 b; Oomen 1985; Provedbena uredba komisije (EU) 1107/2009). Sva istraživanja moraju se provoditi korištenjem propisanih standardnih metodika koje propisuje Europska organizacija za zaštitu bilja (European Plant Protection Organization- EPPO). EPPO smjernicama propisuje se istraživanje učinka na tri vrste prirodnih neprijatelja, parazitske osice *Encarsia formosa* Gahan (EPPO 2021.) i *Trichogramma cacoeciae* Meyer (EPPO 2021.a), te na grabežljivu grinju *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (EPPO 2021.b). te laboratorijska i terenska istraživanja učinkovitosti i fitotoksičnosti. EPPO smjernice za sada ne propisuju i ne daju metodiku za istraživanje negativnog učinka insekticida niti na jednu vrstu predatorskih stjenica.

### 1.3.2. Podjela insekticida po mehanizmu djelovanja

Insekticidi se mogu razvrstati u različite skupine s obzirom na razne kriterije. Ti kriteriji mogu bit: način prodora insekticida, mehanizam djelovanja, podrijetlo, ponašanje na tretiranoj biljci, kemijska pripadnost ili način uporabe.

Negativno djelovanje insekticida na prirodne neprijatelje, korisne kukce i grinje usko je povezano s brojnim karakteristikama insekticida, ali i prirodnog neprijatelja. Posebno je važan put prodora insekticida u tijelo kukca te mehanizam djelovanja. Insekticidi koji u organizam kukca ulaze putem hrane, dakle oralno, manje su štetni za prirodne neprijatelje jer se oni ne hrane tretiranom biljkom pa je manje vjerojatno da će unijeti insekticid u svoje tijelo. Insekticidi koji imaju sistemično djelovanje, odnosno ulaze u tretiranu biljku i šire se provodnim snopovima tretirane biljke, a na kukce djeluju nakon što oni sišu biljne sokove, također manje štete prirodnim neprijateljima. Mehanizam djelovanja je skup učinaka vezanja neke tvari na određeni protein u tijelo štetnika te njegova aktivacija ili inhibicija i svih simptoma koji nastaju prilikom tog djelovanja (Bažok 2022a). S obzirom da je posjedovanje određenog proteina na koji se insekticid veže karakteristika pojedinih vrsta kukaca, moguće je da neki insekticidi ne djeluju na prirodne neprijatelje zato jer te vrste ne posjeduju protein na koji se insekticid veže. Tako da neki insekticidi mogu selektivno djelovati ne samo na štetnike nego i na prirodne neprijatelje. Poznavanje mehanizma djelovanja insekticida neophodno je da bi se što bolje isplanirala strategija za

suzbijanje štetnika i izbjegla moguća rezistentnost kukaca i grinja na te insekticide te da bi se smanjio negativan utjecaj na prirodne neprijatelje. Insekticide po mehanizmu djelovanja još dijelimo i u četiri grupe ovisno o sustavu u tijelu na koji djeluju (Bažok 2022a). Tako razlikujemo četiri osnovne grupe insekticida, insekticide koji djeluju na mišićni i živčani sustav, insekticide koji djeluju na respiratorni sustav, regulatore rasta i razvoja te mikrobiološke insekticide.

Insekticidi koji djeluju na živčani i mišićni sustav djeluju vrlo brzo, a mjesto njihova djelovanja je prijenos signala u živčanom i mišićnom sustavu. Također brzo djeluju i insekticidi koji djeluju na respiratorni sustav s obzirom da djeluju na proces staničnog disanja i ometaju stvaranje energije. Regulatori rasta i razvoja djeluju na preobrazbu kukaca. Preobrazbu inače potiče i kontrolira odnos dvaju hormona: juvenilnog hormona i ekdisona. Ovi insekticidi djeluju kao jedan od ta dva hormona pa time ometaju normalan tijek preobrazbe. Regulatori rasta i razvoja djeluju sporo. Mikrobiološki insekticidi su sačinjeni od mikroorganizama, gljiva, bakterija i virusa. Najčešće se radi o sporama i toksinima bakterija koje djeluju na membranu probavnog sustava i uzrokuju različita oboljenja kukaca. Djelovanje mikrobioloških insekticida je također sporo.

Međunarodna organizacija koja se bavi rezistentnošću kukaca i grinja (Insecticide Resistance Action Committee- IRAC) sve insekticide i akaricide razvrstava u 34 skupine različitih mehanizama djelovanja, a potom se razvrstavaju još u podskupine. Svaka skupina ima svoju međunarodno priznatu i poznatu šifru. Vrlo je važno naglasiti da se pri suzbijanju kukaca i grinja trebaju izmjenjivati insekticidi koji djeluju različitim mehanizmima djelovanja kako bi se što više spriječio razvoj rezistentnosti kukaca i grinja na insekticide (Bažok 2022a).

### 1.3.3. Ekološki prihvatljivi insekticidi

Prilikom odabira sredstva za zaštitu bilja potrebno je poznavati toksikološka i ekotoksikološka svojstva tog sredstva kao i učinkovitost i ekonomičnost. Pri odabiru bi ekotoksikološka i toksikološka svojstva trebala imati prednost u odnosu na učinkovitost i ekonomičnost. Postoje brojne međunarodne inicijative čiji je cilj dodjeljivanje ocjena sredstvima za ekološku prihvatljivost. Takva ocjena naziva se ekološki faktor ili agroekološki indikator ili ekološki kvocijent. Bez obzira kako se zvao, on je važan da bi se birala i koristila sredstva koja su

što manje štetna za prirodne neprijatelje štetnika, ostale životinje, plodnost tla i zdravlje ljudi (Igrc Barčić i Maceljski 2001).

Na popisu insekticida dozvoljenih u poljoprivredi nalaze se i insekticidi koji su dozvoljeni u ekološkoj proizvodnji. Takva sredstva svakako se mogu smatrati ekološki prihvatljivima. Prema podacima iz FIS baze (Ministarstvo poljoprivrede 2022) u ekološkoj poljoprivredi dozvoljeni su insekticidi prikazani u prilogu 1.

Osim tih insekticida ekološki prihvatljivijim insekticidima smatraju se i insekticidi koji djeluju kao regulatori rasta i razvoja. Temelj njihove ekološke prihvatljivosti je njihova selektivnost, odnosno činjenica da djeluju na fiziološke procese pojedinih skupina štetnih kukaca među kojima najčešće nema prirodnih neprijatelja.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Hipoteza rada je da osjetljivost vrste *Macrolophus pygmaeus* ovisi o vrsti insekticida i primijenjenoj koncentraciji pri čemu je osjetljivost pri izravnom tretiranju najveća, a u slučaju ispuštanja stjenica na tretirane biljke osjetljivost raste s porastom koncentracije primijenjenog insekticida dok se smanjuje s protokom vremena koje je prošlo od tretiranja do izlaganja stjenice insekticidu.

Sa svrhom testiranja hipoteze postavljen je cilj ovog rada a to je utvrditi izravnu i rezidualnu (1, 3 i 7 dana nakon tretiranja) toksičnost insekticida na osnovi djelatnih tvari azadiraktin, spinosad, piretrin, lambda-cihalotrin, acetamiprid, abamectin i lufenuron primijenjenih u tri koncentracije na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus*.

### 3. MATERIJALI I METODE

U dva laboratorijska pokusa istražio sam učinak insekticida na osnovi djelatnih tvari azadiraktin, spinosad, piretrin, lambda-cihalotrin, acetamiprid, abamectin i lufenuron primijenjenih u tri koncentracije na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus*. Predatorsku stjenicu u obliku proizvoda Mirical nabavili smo od proizvođača Koppert (slika 3). Predatorsku stjenicu ispuštao sam na listove maćuhice *Viola tricolor* L. Biljke maćuhice tretirao sam insekticidima po metodi IRAC No7 (metoda umakanja listova u škropivo). U pokusima sam koristio tri koncentracije svakog insekticida (ukupno 21 varijanta) koje odgovaraju 100%-tnoj, 50%-tnoj i 25%-tnoj preporučenoj koncentraciji pojedinog insekticida. Određenu količinu insekticida odmjerio sam u jednoj litri vode te promiješao staklenim štapićem.



Slika 3. Posuda sa stjenicama, proizvod Mirical (autorska fotografija)

#### 3.1. Insekticidi uključeni u pokus

Neemazal T/S (slika 4) – azadiraktin – to je biljni insekticidi koji se dobiva ekstrakcijom iz indijskog jorgovana *Azadirachta indica* A. Jus. Najveća koncentracija azadiraktina nalazi se u sjemenkama jorgovana. Poznat je i kao neem ekstrakt. S obzirom da je biljnog podrijetla, ima manje štetan utjecaj na zdravlje ljudi, životinja i okoliša nego kemijski insekticidi. Njegov spektar djelovanja na štetne kukce je širok pa tako djeluje kao: repelent, ometa ishranu, djeluje kao regulator rasta i razvoja, ometa ovipoziciju, utječe na plodnost i pokretljivost kukca. Azadiraktin se smatra netoksičnim za sisavce, ribe i oprašivače (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija azadiraktina bila je 0,3% odnosno 3 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 1,5 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,75 ml u 1 l vode.

Asset five (slika 4) – piretrin – to je prirodni piretrin koji je sadržan u biljci dalmatinski buhač *Tanacetum cinerariifolium* Trevir. Ovaj piretrin se sastoji od piretrina 1, piretrina 2, cinerina 1 i cinerina 2 te jasmolina 1 i 2. Početna toksičnost mu je visoka, ali kratko djeluje. Piretrin 1 je taj koji djeluje odmah, a piretrin 2 se pojavljuje nekoliko sati nakon upotrebe te ima visoki „knock-down“ efekt. Piretrini su kontaktni otrovi koji vrlo lako prodiru u živčani sustav kukaca. Brzo se razgrađuju na svjetlu, zraku i visokim temperaturama, a sporo u vodi. Stoga je piretrin vrlo toksičan za ribe i vodene beskralježnjake ali zbog brzog raspada pripada u neznatno opasne insekticide pa je dozvoljen u ekološkoj proizvodnji. (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija piretrina bila je 0,09% odnosno 0,9 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 0,45 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,225 ml u 1 l vode.



Slika 4. Insekticidi Neemazal T/S (lijevo) i Asset five (desno) (autorska fotografija)

Laser (slika 5) – spinosad – pripada u spinosine, insekticide koji nastaju kao nusprodukt fermentacijskog procesa bakterije *Saccharopolyspora spinosa*. Spinosad se sastoji od dva učinkovita spinosina a to su spinosin A i spinosin D. Spinosini prema klasifikaciji pripadaju u naturalite, proizvode koji su dobiveni kao nusproizvod metabolizma mikroorganizama. Prema široj klasifikaciji mogu se smatrati mikrobiološkim insekticidima. Spinosad ubija kukce tako što dovodi do pojačane ekscitacije živčanog sustava odnosno do pretjeranog pobuđivanja živčanih stanica. Dozvoljen je u ekološkoj proizvodnji uz obavezu obavještanja nadležnih kontrolnih tijela o primjeni ovog insekticida (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija spinosada bila je 0,02% odnosno 0,2 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 0,1 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,05 ml u 1 l vode.

Karate Zeon (slika 5) – lambda-cihalotrin – piretroid četvrte generacije širokog spektra djelovanja. Zbog tog širokog spektra djelovanja može imati negativan utjecaj na prirodne neprijatelje. Svi sintetski piretroidi, pa tako i lambda-cihalotrin, koriste se u vrlo niskim dozama čime je smanjen negativni utjecaj na okoliš (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija lambda-cihalotrina bila je 0,02% odnosno 0,2 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 0,1 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,05 ml u 1 l vode.

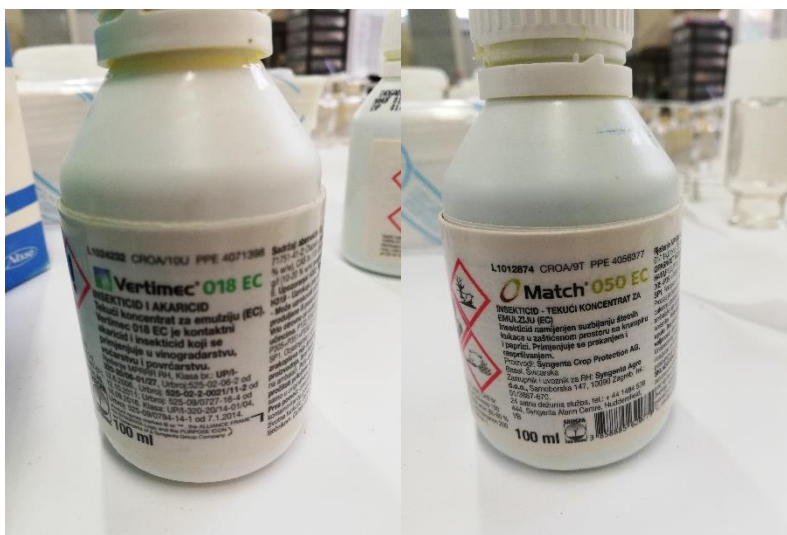
Mospilan (slika 5) – acetamiprid – pripada u skupinu neonikotinoida. Oni djeluju na živčani sustav tako što uzrokuju ekscitaciju živčanih stanica koja dovodi do paralize i smrti. Acetamiprid nije perzistentan u tlu iako ima nekih neonikotinoida koji jesu (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija acetamiprida bila je 0,025% odnosno 0,25 g u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 0,125 g u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,0625 g u 1 l vode.



Slika 5. Insekticidi Laser (lijevo), Karate Zeon (sredina) i Mospilan (desno) (autorska fotografija)

Vertimec (slika 6) – abamectin – to je proizvod mikroorganizma *Streptomyces avermitilis* izoliranog iz tla. Djeluje na živčani i mišićni sustav izazivajući paralizu. Abamectinom se smije tretirati samo nakon cvatnje i oprašivanja, a udisanje izmaglice škropiva može uzrokovati zdravstvene probleme (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija abamectina bila je 0,1% odnosno 1 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 0,5 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,25 ml u 1 l vode.

Match (slika 6) – lufenuron –pripada u skupinu regulatora rasta i razvoja odnosno u inhibitore biosinteze hitina. Lufenuron djeluje na kukce koji sišu i grizu. Osim što je inhibitor biosinteze hitina on je i selektivni želučani insekticid (Bažok 2022a). U sva četiri pokusa maksimalna koncentracija lufenurona bila je 0,2% odnosno 2 ml u 1 l vode, 50%-tna koncentracija je iznosila 1 ml u 1 l vode, a 25%-tna koncentracija je iznosila 0,5 ml u 1 l vode.



Slika 6. Insekticidi Vertimec (lijevo) i Match (desno) (autorska fotografija)

### 3.2. Rezidualni test toksičnosti

Prvo sam pripremio otopine insekticida prema tablici 2.



Tablica 2. Prikaz količine i koncentracije pripravaka za otopine insekticida

| Varijanta i doza u odnosu na preporučenu (%) | Proizvod     | Koncentracija pripravka (%) | Količina proizvoda u 1 l vode |
|--|--------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Kontrola                                     |              |                             |                               |
| Azadiraktin 100%                             | Neemazal T/S | 0,3                         | 3 ml                          |
| Azadiraktin 50%                              |              | 0,15                        | 1,5 ml                        |
| Azadiraktin 25%                              |              | 0,075                       | 0,75 ml                       |
| Piretrin 100%                                | Asset five   | 0,09                        | 0,9 ml                        |
| Piretrin 50%                                 |              | 0,045                       | 0,45 ml                       |
| Piretrin 25%                                 |              | 0,0225                      | 0,225 ml                      |
| Spinosad 100%                                | Laser        | 0,02                        | 0,2 ml                        |
| Spinosad 50%                                 |              | 0,01                        | 0,1 ml                        |
| Spinosad 25%                                 |              | 0,005                       | 0,05 ml                       |
| Lambda-cihalotrin 100%                       | Karate Zeon  | 0,02                        | 0,2 ml                        |
| Lambda-cihalotrin 50%                        |              | 0,01                        | 0,1 ml                        |
| Lambda-cihalotrin 25%                        |              | 0,005                       | 0,05 ml                       |
| Acetamiprid 100%                             | Mospilan     | 0,025                       | 0,25 g                        |
| Acetamiprid 50%                              |              | 0,0125                      | 0,125 g                       |
| Acetamiprid 25%                              |              | 0,00625                     | 0,0625 g                      |
| Abamectin 100%                               | Vertimec     | 0,01                        | 1 ml                          |
| Abamectin 50%                                |              | 0,05                        | 0,5 ml                        |
| Abamectin 25%                                |              | 0,025                       | 0,25 ml                       |
| Lufenuron 100%                               | Match        | 0,2                         | 2 ml                          |
| Lufenuron 50%                                |              | 0,1                         | 1 ml                          |
| Lufenuron 25%                                |              | 0,05                        | 0,5 ml                        |

Potom sam u pripremljena škropiva uronio biljke maćuhice tako što sam biljke okrenuo i uronio (slika 7), a da sam pritom pazio da tlo ne uđe u škropivo. Da bi spriječio da se tlo istrese u škropivo stavio sam zaštitnu foliju ispod biljke. U razne insekticide sam umočio ukupno 21 maćuhicu i jednu kontrolnu varijantu koju sam umočio u čistu vodu. Nakon tretiranja, tegle s tretiranim maćuhicama označio sam datumom tretiranja i pripadajućim brojem varijante (slika 8).



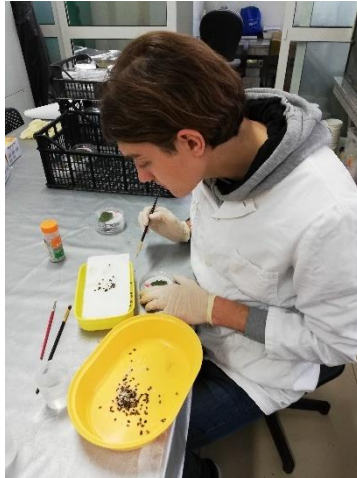
Slika 7. Uranjanje maćuhica u škropivo (autorska fotografija)



Slika 8. Označene maćuhice nakon uranjanja u škropivo (autorska fotografija)

Za tri pokusa rezidualne toksičnosti tretiranje sam obavio sedam (5.11.2021.), tri (9.11.2021.) i jedan dan (11.11.2021.) prije ispuštanja stjenica. Na dan postavljanja stjenica (12.11.2021.) kod sva tri pokusa pojedinačne listove tretiranih maćuhica postavio sam u Petrijeve posude koje su na dnu imale navlažen filter papir. Važno je bilo da su svi listovi razvijeni, dovoljno veliki i otprilike jednake veličine. Na svaki list ispuštao sam predatorske stjenice koje su od dobavljača stigle dan prije ispuštanja i to po 10 stjenica u svaku Petrijevu posudu (slika 9). Svaka

varijanta primijenjena je u 4 ponavljanja. Petrijeve posudice označio sam datumom tretiranja (broj pokusa), brojem varijante (1-22) te rimskim brojem koji označuje ponavljanje (I-IV) (slika 10).



Slika 9. Prenošenje stjenica kistom u Petrijeve posude (autorska fotografija)



Slika 10. Stjenice u označenim Petrijevim posudama (autorska fotografija)

Petrijeve posude sam zatvorio i tijekom trajanja pokusa čuvane su u termo komori na 24°C i dnevno noćnom režimu 14:10 (dan:noć). Prvo očitavanje proveo sam 24 sata nakon ispuštanja stjenica, a drugo 72 sata nakon ispuštanja stjenica. U očitavanju sam za svaku Petrijevu posudu utvrdio broj živih i mrtvih stjenica (slika 11).



Slika 11. Očitavanje rezultata (autorska fotografija)

### 3.3. Test izravnog kontaktnog djelovanja

Pokus kojim je utvrđeno izravno kontaktno djelovanje insekticida postavio sam s istim varijantama insekticida na način da su za svaku varijantu insekticida korištene Petrijeve posudice (ukupno 88 posudica) prethodno označene brojem varijante (1-22) i ponavljanja (I-IV). Tretiranje je obavljeno 25.11.2021. Na dno posudice sam postavio filter papir te sam prskao odgovarajućim insekticidom. Nakon tretiranja filter papir je ostao vlažan, ali ne mokr. U svaku posudu postavio sam po 10 stjenica. Nakon tretiranja zatvorene Petrijeve posude su čuvane u termo komori u istim uvjetima kao i u prethodnom pokusu. Očitavanje sam obavio 24 i 72 sata nakon tretiranja. U očitavanju sam za svaku Petrijevu posudu utvrdio broj živih i mrtvih stjenica.

### 3.4. Statistička analiza rezultata

Za svaku posudu izračunao sam mortalitet stjenica ((mrtve stjenice u posudi / ukupan broj stjenica u posudi) x 100 ). Temeljem prosječnog mortaliteta na kontroli i mortaliteta u pojedinim posudama izračunao sam učinak insekticida koristeći se formulom Schneider-Orelli (1947)

$$\% \text{ učinkovitosti} = \frac{\% \text{ mortaliteta na tretmanu} - \% \text{ mortaliteta na kontroli}}{100 - \% \text{ mortaliteta na kontroli}} \times 100$$

Podatke o postignutoj učinkovitosti u svakom očitavanju zasebno u sva četiri pokusa (rezidualni test toksičnosti- 3 pokusa i test izravnog djelovanja) analizirao sam dvosmjernom analizom varijance (ANOVA). Nakon što je ANOVA pokazala da postoje statistički opravdane razlike između tretmana, srednje vrijednosti pojedinih tretmana u svakom očitavanju su testirane uz pomoć Tukey testa i razvrstane u rangove. Po potrebi da bi se normalizirala distribucija pojedinih skupova podataka (očitanja), podatci o učinkovitosti automatski su transformirani primjenom  $\log x+1$  transformacije. Za rezidualni test toksičnosti je uz pomoć faktorijelne metode uz korištenje tri faktora: insekticid, koncentracija i vrijeme koje je prošlo od tretiranja, utvrđeno koji od navedenih faktora i/ili njihova interakcija najviše utječe na štetan učinak insekticida (učinkovitost) 24 i 72 sata nakon ispuštanja predatorske stjenice. Na isti je način za test izravnog kontaktnog djelovanja provedena faktorijelna analiza uz korištenje dva faktora: insekticid i koncentracija te je utvrđeno koji od navedenih faktora i/ili njihova interakcija najviše utječe na štetan učinak insekticida. Statistička obrada provedena je uz pomoć programa ARM7 (Gylling Data Management, 2022).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Rezidualni test toksičnosti

Tablicama 3 i 4 prikazani su rezultati rezidualnog testa toksičnosti iz kojih je vidljivo da postoji velika varijabilnost između insekticida i između primijenjenih doza u mortalitetu koji izazivaju pri čemu postoji i velika varijabilnost i u odnosu na starost depozita insekticida. Očigledno je da se učinak insekticida (mortalitet) na svim varijantama (neovisno o insekticidu i dozi kao ni o starosti depozita) povećava protekom vremena pa je tako utvrđeno da je učinak insekticida porastao u očitavanju 72 sata nakon ispuštanja stjenica (tablica 4) u odnosu na očitavanje provedeno 24 sata nakon ispuštanja stjenica (tablica 3).

Tablica 3. Učinak insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus* utvrđen 24 sata nakon ispuštanja stjenica u rezidualnom testu i rezultati statističke analize

| Insekticid         | Aktivna tvar      | Doza (%) u odnosu na preporučenu | Koncentracija pripravka (%) | Učinak (%) na stjenice ispuštene na depozit insekticida star |          |         |
|--------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|----------|---------|
|                    |                   |                                  |                             | 1 dan  | 3 dana   | 7 dana  |
| Neemazal T/S       | Azadiraktin       | 100                              | 0,3                         | 56,4 bcd*  | 21,1 d   | 31,6 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,15                        | 10,3 g   | 26,3 cd  | 38,2 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,075                       | 26,3 efg   | 52,6 bcd | 27,6 ab |
| Asset five         | Piretrin          | 100                              | 0,09                        | 61,5 bc  | 68,4 ab  | 27,6 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,045                       | 41,0 c-f   | 73,7 ab  | 47,4 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,0225                      | 16,0 g   | 68,4 ab  | 36,8 ab |
| Laser              | Spinosad          | 100                              | 0,02                        | 46,2 c-f   | 63,2 abc | 36,8 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 51,3 b-e   | 63,2 abc | 17,1 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 61,5 bc  | 42,1 bcd | 22,4 ab |
| Karate Zeon        | Lambda-cihalotrin | 100                              | 0,02                        | 56,4 bcd   | 22,4 d   | 42,1 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 53,9 bcd   | 42,1 bcd | 13,2 b  |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 59,0 bc  | 27,6 cd  | 38,2 ab |
| Mospilan           | Acetamiprid       | 100                              | 0,025                       | 97,4 a   | 94,7 a   | 57,9 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,0125                      | 66,7 bc  | 68,4 ab  | 68,4 a  |
|                    |                   | 25                               | 0,00625                     | 59,0 bc  | 63,2 abc | 36,8 ab |
| Vertimec           | Abamectin         | 100                              | 0,01                        | 76,9 ab  | 79,0 ab  | 52,6 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,05                        | 64,1 bc  | 52,6 bcd | 36,8 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,025                       | 61,5 bc  | 52,6 bcd | 17,1 ab |
| Match              | Lufenuron         | 100                              | 0,2                         | 30,8 d-g   | 63,2 abc | 22,4 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,1                         | 46,2 c-f   | 22,4 d   | 17,1 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,05                        | 23,1 fg  | 52,6 bcd | 47,4 ab |
| <b>HSD p=0,05%</b> |                   |                                  |                             | 22,5   | 31,4     | 53,8    |

\*vrijednosti označene istim slovom pripadaju u isti rang temeljem Tukey HSD testa

Tablica 4. Učinkak insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus* utvrđen 72 sata nakon ispuštanja stjenica u rezidualnom testu i rezultati statističke analize

| Insekticid         | Djelatna tvar     | Doza (%) u odnosu na preporučenu | Koncentracija pripravka (%) | Učinkak (%) na stjenice ispuštene na depozit insekticida star |          |         |
|--------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------------------|---|----------|---------|
|                    |                   |                                  |                             | 1 dan   | 3 dana   | 7 dana  |
| Neemazal T/S       | Azadiraktin       | 100                              | 0,3                         | 78,8 a-d*   | 71,8 abc | 83,8 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,15                        | 76,8 bcd  | 76,1 abc | 77,5 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,075                       | 86,4 a-d  | 77,5 abc | 77,5 ab |
| Asset five         | Piretrin          | 100                              | 0,09                        | 83,0 a-d  | 64,0 bc  | 88,9 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,045                       | 74,2 cd   | 92,0 ab  | 94,3 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,0225                      | 84,1 a-d  | 82,3 abc | 71,8 ab |
| Laser              | Spinosad          | 100                              | 0,02                        | 86,1 a-d  | 100,0 a  | 76,1 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 91,9 a-d  | 87,3 abc | 94,3 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 97,3 ab   | 60,4 c   | 54,0 ab |
| Karate Zeon        | Lambda-cihalotrin | 100                              | 0,02                        | 89,7 a-d  | 64,1 bc  | 100,0 a |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 71,7 d  | 87,3 abc | 67,6 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 94,7 abc  | 83,8 abc | 60,4 ab |
| Mospilan           | Acetamiprid       | 100                              | 0,025                       | 100,0 a   | 100,0 a  | 94,3 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,0125                      | 100,0 a   | 100,0 a  | 100,0 a |
|                    |                   | 25                               | 0,00625                     | 100,0 a   | 100,0 a  | 100,0 a |
| Vertimec           | Abamectin         | 100                              | 0,01                        | 97,3 ab   | 97,3 a   | 82,3 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,05                        | 94,4 abc  | 100,0 a  | 83,8 ab |
|                    |                   | 25                               | 0,025                       | 89,5 a-d  | 77,5 abc | 82,3 ab |
| Match              | Lufenuron         | 100                              | 0,2                         | 79,2 a-d  | 77,5 abc | 64,1 ab |
|                    |                   | 50                               | 0,1                         | 86,1 a-d  | 88,9 ab  | 50,0 b  |
|                    |                   | 25                               | 0,05                        | 78,8 a-d  | 77,5 abc | 65,3 ab |
| <b>HSD p=0,05%</b> |                   |                                  |                             | 17,1  | 22,0     | 47,0    |

\*vrijednosti označene istim slovom pripadaju u isti rang temeljem Tukey HSD testa

Rezultati faktorijelne analize (tablica 5) pokazali su da učinak insekticida 24 sata nakon ispuštanja značajno ovisi o sva tri faktora, insekticidu, starosti depozita i koncentraciji primjene i međusobnoj interakciji sva tri faktora, te da je interakcija između insekticida i starosti depozita statistički značajna dok interakcija između insekticida i koncentracije primjene i starosti depozita nije statistički značajna. Učinak insekticida na predatorsku stjenicu utvrđen 72 sata nakon njenog ispuštanja značajno ovisi o insekticidu i starosti depozita, ali ne ovisi o koncentraciji primjene. Također, 72 sata nakon ispuštanja utvrđena je statistički značajna interakcija između starosti depozita i koncentracije primjene te između sva tri istraživana faktora.

Tablica 5. Faktorijska analiza učinka insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus*

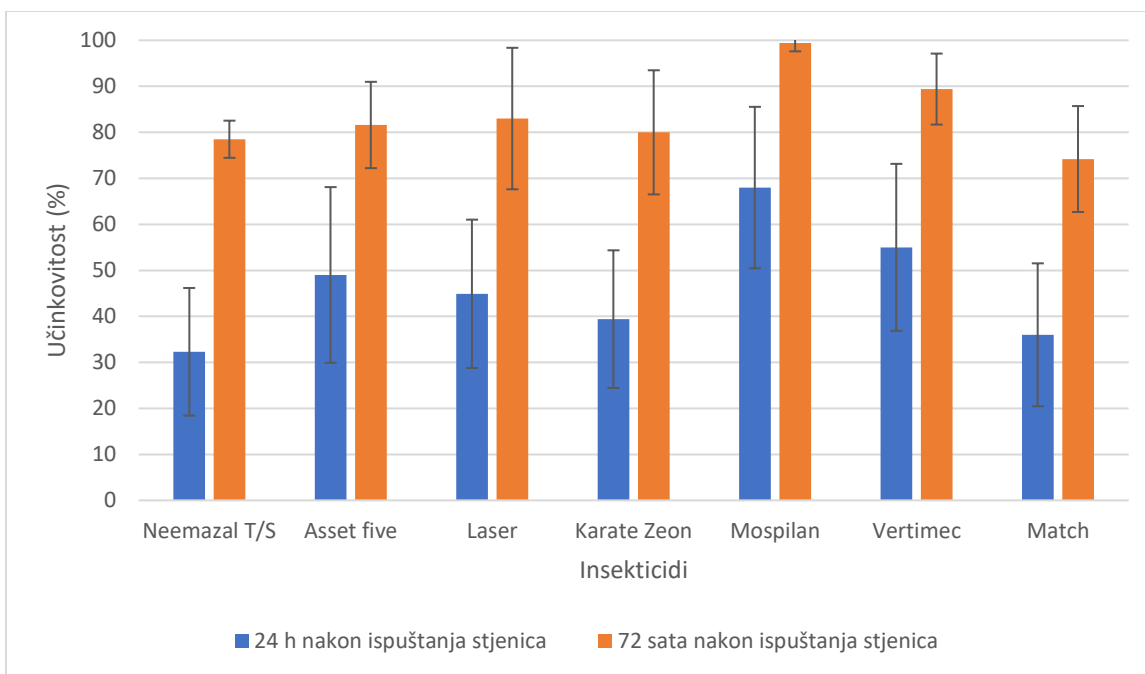
| Izvor varijabilnosti       | df  | 24 sata nakon ispuštanja stjenica |              | 72 sata nakon ispuštanja stjenica |              |
|----------------------------|-----|-----------------------------------|--------------|-----------------------------------|--------------|
|                            |     | p                                 | HSD (p=0,05) | p                                 | HSD (p=0,05) |
| Ukupno                     | 251 |                                   |              |                                   |              |
| Ponavljjanja               | 3   | 0,0481                            |              | 0,8635                            |              |
| Insekticid (A)             | 6   | 0,0001**                          | 14,03        | 0,0001**                          | 11,73        |
| Starost depozita (B)       | 2   | 0,0001**                          | 7,28         | 0,0033**                          | 6,25         |
| AxB                        | 12  | 0,0002**                          | 29,53        | 0,1004                            | 21,86        |
| Koncentracija primjene (C) | 2   | 0,0017**                          | 7,28         | 0,1921                            | 6,26         |
| AxC                        | 12  | 0,0625                            | 29,53        | 0,2526                            | 25,08        |
| BxC                        | 4   | 0,596                             | 16,75        | 0,0274*                           | 13,94        |
| AxBxC                      | 24  | 0,001**                           | 58,95        | 0,0303*                           | 43,48        |
| Greška                     | 186 |                                   |              |                                   |              |

\*- značajnost na razini 99% ( $p < 0,01$ )

\*\* - značajnost na razini 95% ( $p < 0,05$ )

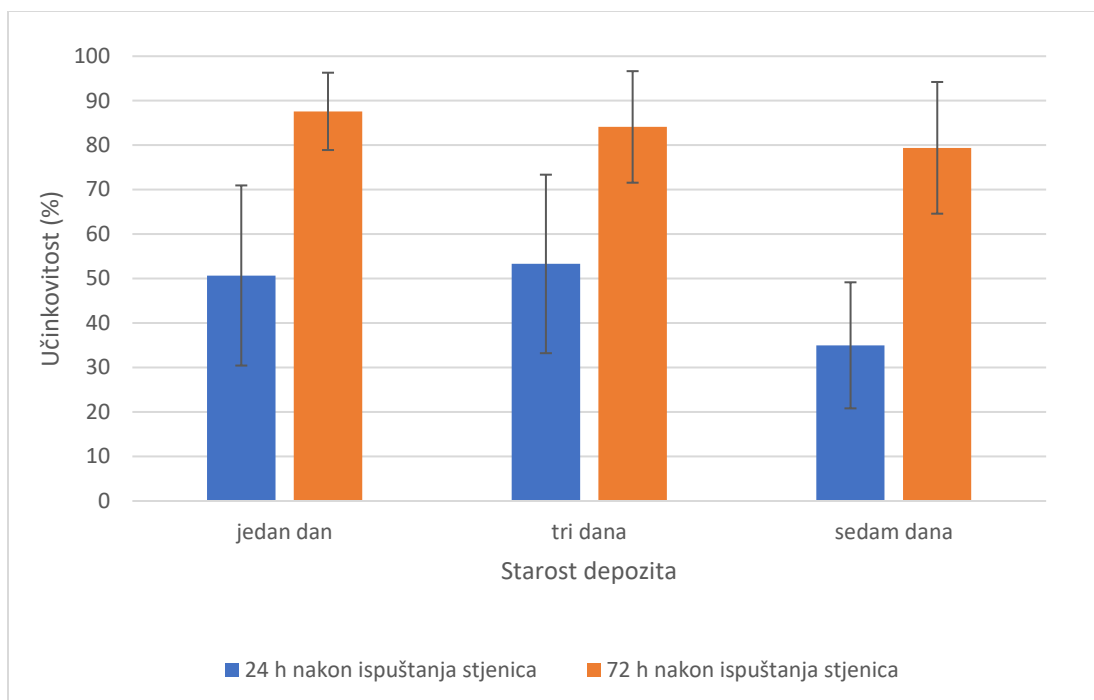
Iz slike 12 koja prikazuje prosječnu učinkovitost svih doza i starosti depozita postignutu kod pojedinih insekticida, vidljivo je da su najblaži učinak na stjenice imali insekticidi Neemazal T/S, čija je djelatna tvar azadiraktin, i Match, čija je djelatna tvar lufenuron. Najjače djelovanje imao je insekticid Mospilan čija je djelatna tvar acetamiprid. Kod svih sedam insekticida učinak je bio jači 72 sata nakon ispuštanja stjenica u Petrijeve posude nego što je to bio nakon 24 sata.





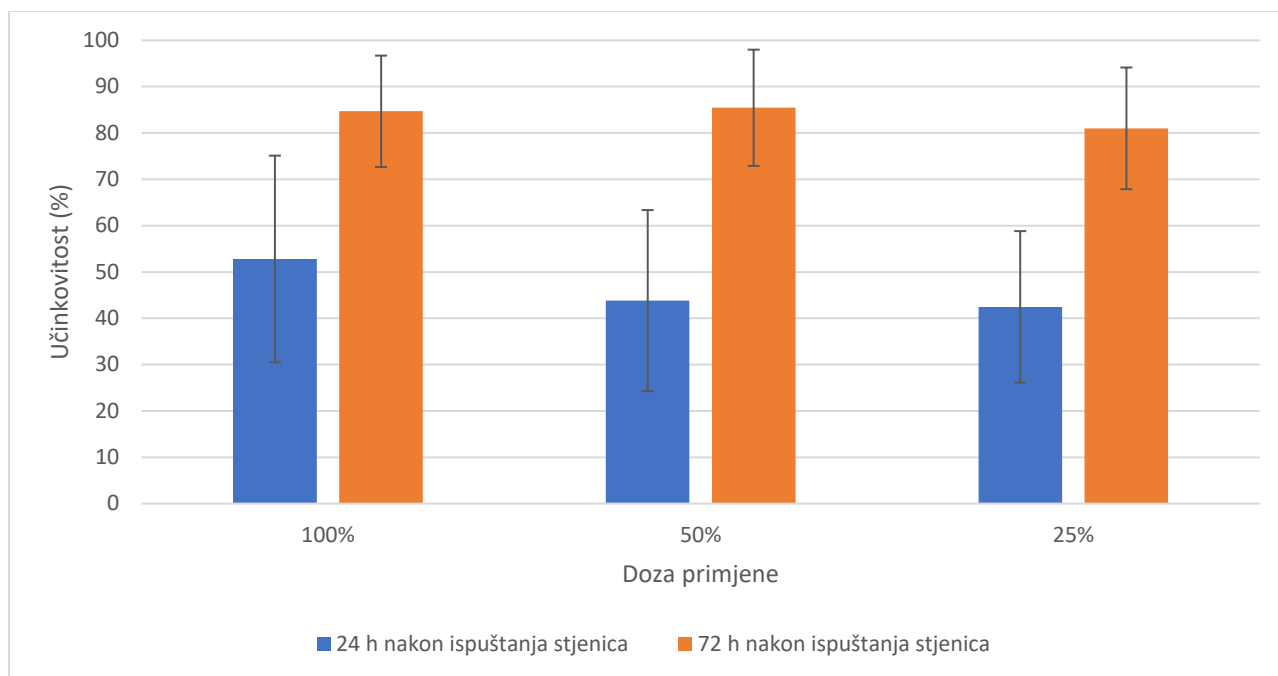
Slika 12. Prosječni učinak insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus* 24 i 72 sata nakon ispuštanja stjenica i rezultati statističke analize

Slikom 13 prikazan je prosječni učinak insekticida različite starosti depozita. Vidljivo je da je kod svih insekticida, bez obzira koliko dana stari bili, jači negativni učinak bio 72 sata nakon ispuštanja stjenica u Petrijeve posude nego što je to 24 sata nakon ispuštanja. Kod svih je insekticida također i najslabiji negativni učinak postignut na biljkama na kojima je insekticidni depozit star sedam dana. Insekticidi stari jedan i tri dana kod većine insekticida pokazuju učinak koji se ne razlikuju značajno.



Slika 13. Prosječni učinak (mortalitet) zabilježen na depozitima insekticida različite starosti na *Macrolophus pygmaeus* 24 i 72 sata nakon ispuštanja stjenica i rezultati statističke analize

Iz slike 14 vidljivo je da je kod svih insekticida, učinak najviše doze nakon 24 sata najveći. Ove razlike u učinku između koncentracija nisu statistički značajno opravdane 72 sata nakon tretiranja. Bez obzira na koncentraciju, učinak svih doza je 72 sata nakon ispuštanja stjenica u Petrijeve posude porastao u odnosu na učinak utvrđen 24 sata nakon ispuštanja.



Slika 14. Prosječni učinak (mortalitet) različitih doza insekticida na *Macrolophus pygmaeus* 24 i 72 sata nakon ispuštanja stjenica i rezultati statističke analize

## 4.2. Test izravnog kontaktnog djelovanja

Tablicom 6 prikazani su rezultati testa izravnog kontaktnog djelovanja insekticida utvrđeni 24 i 72 sata nakon tretiranja predatorskih stjenica. Kao i kod rezidualnog testa toksičnosti izražena je varijabilnost rezultata između insekticida i između doza u oba termina očitavanja. Nakon 24 sata od tretiranja jedino je na acetamipridu jasno uočeno smanjenje učinkovitosti smanjenjem koncentracije primjene, tzv. dose-response. Ista pravilnost uočena je kod azadiraktina 72 sata nakon tretiranja dok kod ostalih insekticida to najčešće nije slučaj. No negativan učinak insekticida utvrđen 72 sata nakon tretiranja vrlo je visok (iznad 80%) kod svih insekticida u svim primijenjenim dozama.

Tablica 6. Učinak insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus* utvrđen 24 i 72 sata nakon tretiranja u izravnom testu toksičnosti i rezultati statističke analize

| Insekticid         | Aktivna tvar      | Doza (%) u odnosu na preporučenu | Koncentracija pripravka (%) | Učinkovitost |        |
|--------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------------------|--------------|--------|
|                    |                   |                                  |                             | 1 dan        | 3 dana |
| Neemazal T/S       | Azadiraktin       | 100                              | 0,3                         | 53,9 b-g*    | 100,0  |
|                    |                   | 50                               | 0,15                        | 43,6 efg     | 94,7   |
|                    |                   | 25                               | 0,075                       | 59,0 b-g     | 86,8   |
| Asset five         | Piretrin          | 100                              | 0,09                        | 74,3 a-f     | 86,8   |
|                    |                   | 50                               | 0,045                       | 86,6 abc     | 89,5   |
|                    |                   | 25                               | 0,0225                      | 79,5 a-e     | 94,7   |
| Laser              | Spinosad          | 100                              | 0,02                        | 46,2 d-g     | 100,0  |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 43,6 efg     | 89,5   |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 82,1 a-d     | 100,0  |
| Karate Zeon        | Lambda-cihalotrin | 100                              | 0,02                        | 46,2 d-g     | 84,2   |
|                    |                   | 50                               | 0,01                        | 35,9 g       | 89,5   |
|                    |                   | 25                               | 0,005                       | 46,2 d-g     | 84,2   |
| Mospilan           | Acetamiprid       | 100                              | 0,025                       | 100,0 a      | 100,0  |
|                    |                   | 50                               | 0,0125                      | 97,4 a       | 97,4   |
|                    |                   | 25                               | 0,00625                     | 89,7 ab      | 100,0  |
| Vertimec           | Abamectin         | 100                              | 0,01                        | 33,3 g       | 100,0  |
|                    |                   | 50                               | 0,05                        | 41,0 fg      | 100,0  |
|                    |                   | 25                               | 0,025                       | 33,3g        | 100,0  |
| Match              | Lufenuron         | 100                              | 0,2                         | 51,3 c-g     | 94,7   |
|                    |                   | 50                               | 0,1                         | 74,4 a-f     | 100,0  |
|                    |                   | 25                               | 0,05                        | 46,2 d-g     | 92,1   |
| <b>HSD p=0,05%</b> |                   |                                  |                             | 36,6         | n.s.   |

\*vrijednosti označene istim slovom pripadaju u isti rang temeljem Tukey HSD testa

Rezultati faktorijske analize (tablica 7) pokazali su da negativan učinak izravno primijenjenih insekticida 24 sata nakon tretiranja značajno ovisi o insekticidu, a ne ovisi o primijenjenoj dozi, ali i o međusobnoj interakciji ova dva faktora. U očitavanju nakon 72 sata utvrđeno je da negativan učinak ovisi samo o insekticidu dok utjecaj primijenjene doze kao ni interakcije insekticida i doze nije statistički značajan.

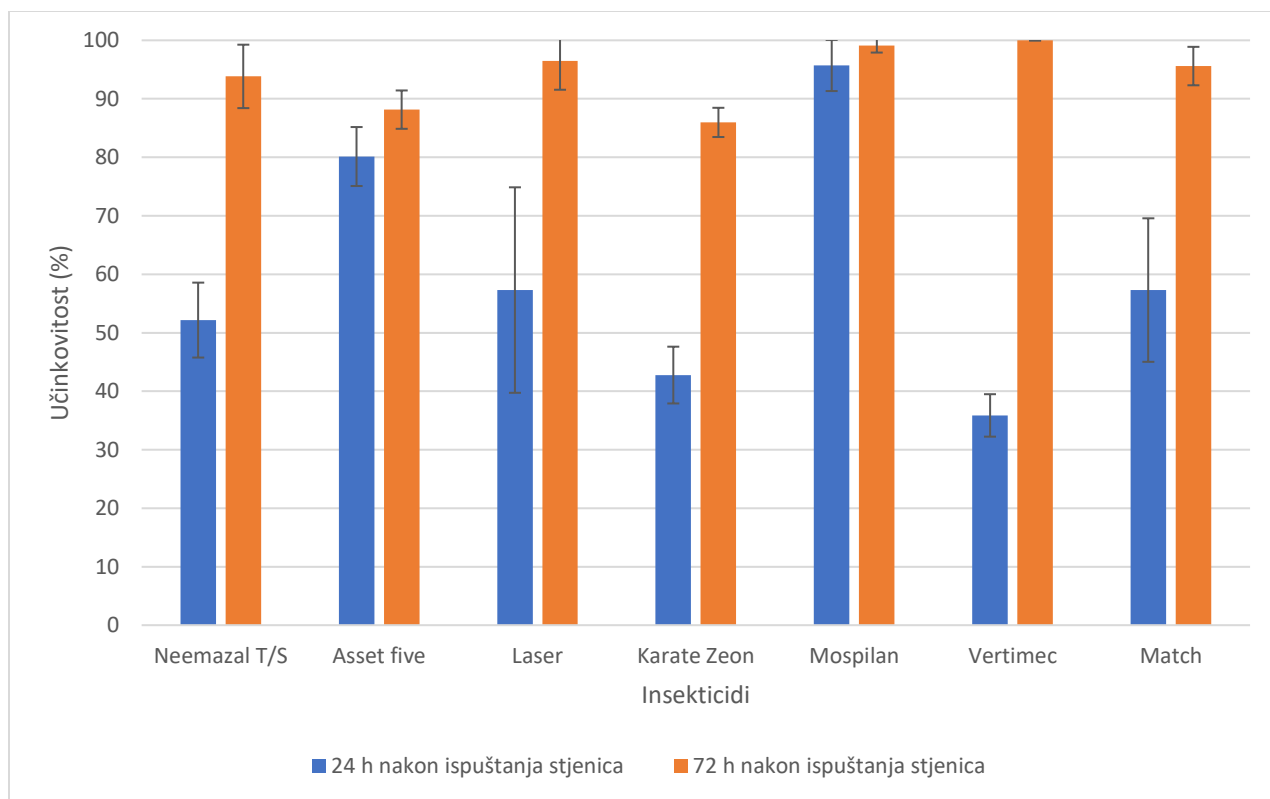
Tablica 7. Faktorijska analiza izravnog učinka insekticida na *Macrolophus pygmaeus*

| Izvor<br>varijabilnosti       | df | 24 sata nakon tretiranja |              | 72 sata nakon tretiranja |              |
|-------------------------------|----|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------|
|                               |    | p                        | HSD (p=0,05) | p                        | HSD (p=0,05) |
| Ukupno                        | 83 |                          |              |                          |              |
| Ponavljjanja                  | 3  | 0,2917                   |              | 0,7901                   |              |
| Insekticid (A)                | 6  | 0,0001**                 | 17,28        | 0,0168*                  | 11,86        |
| Koncentracija<br>primjene (B) | 2  | 0,4992                   | 8,91         | 0,7596                   | 6,12         |
| AxB                           | 12 | 0,0036**                 | 36,63        | 0,3984                   | 25,16        |
| Greška                        | 60 |                          |              |                          |              |

\*- statistički značajno na razini 99% ( $p < 0,01$ )

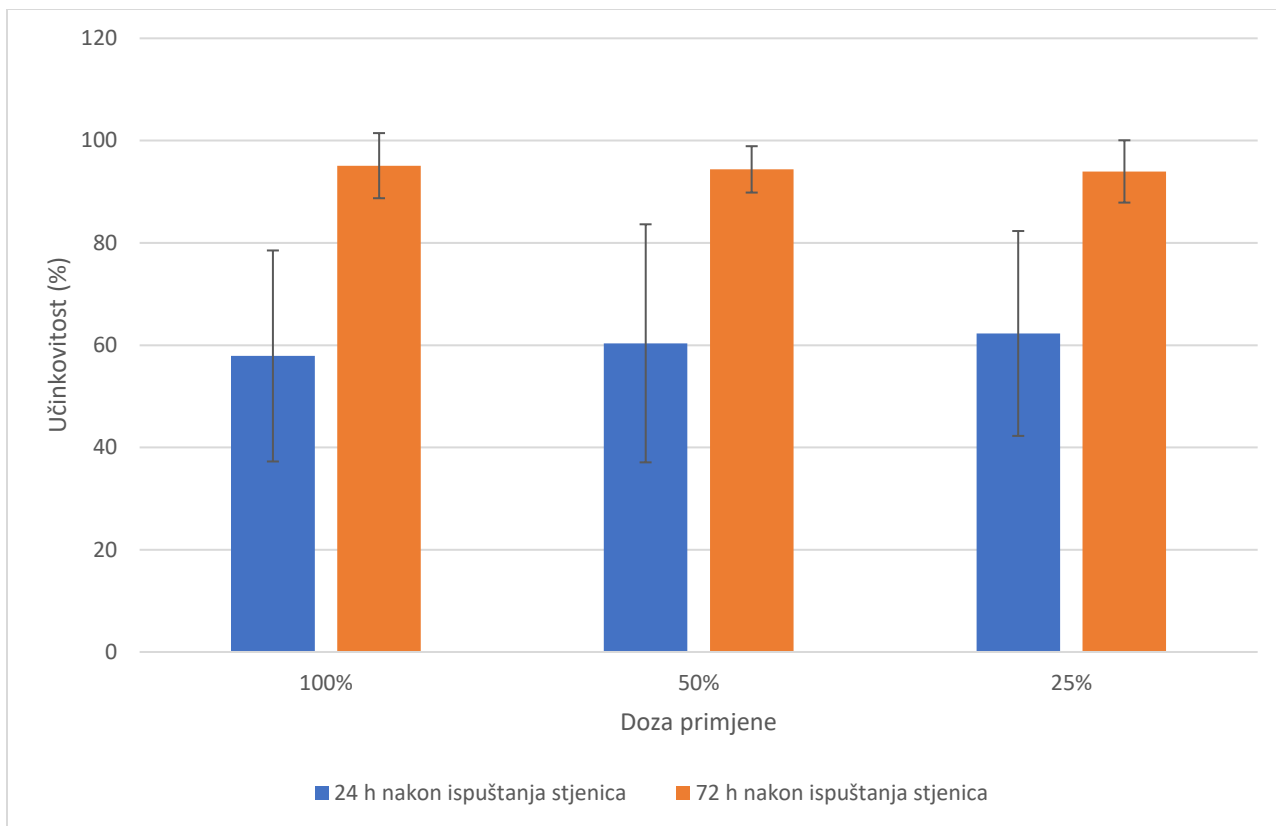
\*\* - statistički značajno na razini 95% ( $p < 0,05$ )

Iz slike 15 koja prikazuje prosječnu učinkovitost svih doza postignutu kod pojedinih insekticida, vidljivo je da su najblaži učinak na stjenice 24 sata nakon tretiranja imali insekticidi abamectin (Vertimec), azadiraktin (Neemazal T/S) i lambda-cihalotrin (Karate Zeon). Najjače djelovanje imao je piretrin (Asset five) i acetamiprid (Mospilan). Kod svih sedam insekticida učinak nakon 24 sata se povećao, no porast učinkovitosti najveći je kod abamectina (sa 35,90 na 100%) te kod spinosada, azadiraktina, lambda-cihalotrina i lufenurona.



Slika 15. Prosječni učinak insekticida (mortalitet) na *Macrolophus pygmaeus* Rambur 24 i 72 sata nakon ispuštanja stjenica i rezultati statističke analize

Iz slike 16 vidljivo je da je kod svih insekticida, bez obzira na koncentraciju, jači učinak 72 sata nakon ispuštanja stjenica u Petrijeve posude nego što je to 24 sata nakon ispuštanja. Nema statistički značajne razlike u jačini učinka s obzirom na koncentracije određenog insekticida.



Slika 16. Prosječni učinak (mortalitet) različitih doza insekticida na *Macrolophus pygmaeus* 24 i 72 sata nakon ispuštanja stjenica i rezultati statističke analize

## 5. RASPRAVA

U tablici 8 je vidljiva klasifikacija ocjena insekticida prema utjecaju na prirodne neprijatelje. Tu klasifikaciju izrađuje Međunarodna organizacija za biološku kontrolu IOBC (International Organisation for Biological control). Prema toj tablici svakom insekticidu se može ocijeniti njegova kategorija toksičnosti prema kukcima odnosno mortalitet koji uzrokuje. Svrha insekticida je postići što veći mortalitet tretiranih kukaca. Stoga što je veći mortalitet to je i jači učinak insekticida jer on ostvaruje svoju namjenu. A također prema klasifikaciji IOBC-a s porastom mortaliteta raste i toksičnost te su u daljnjem tekstu pojmovi toksičnost i učinkovitost insekticida u korelaciji. Ova tablica se koristi za ocjenjivanje utjecaja insekticida na prirodne neprijatelje u laboratorijskim uvjetima (Tomson i Hoffmann 2006). Neki prirodni neprijatelji imaju svoje specifične tablice za ocjenu utjecaja insekticida no *Macrolophus pygmaeus* nije među njima stoga se koristi dolje navedene općenita tablica (Hassan 1985).

Tablica 8. Ocjena insekticida prema utjecaju na prirodne neprijatelje (izvor: Rahmouni i Brahim 2011)

| Ocjena insekticida | Kategorija        | Učinak insekticida |
|--------------------|-------------------|--------------------|
| 1                  | Netoksičan        | Mortalitet <25%    |
| 2                  | Slabo toksičan    | Mortalitet 25-50%  |
| 3                  | Umjereno toksičan | Mortalitet 50-75%  |
| 4                  | Vrlo toksičan     | Mortalitet >75%    |

Kada gledamo prosječni učinak insekticida u testu rezidualne toksičnosti (slika 12), najslabiji učinak pokazali su azadiraktin i lufenuron. Lufenuron je regulator rasta i razvoja te djeluje sporije nego ostali insekticidi, a azadiraktin je ekološki prihvatljiv insekticid koji nije toliko toksičan (Bažok 2022a). Stoga ne čudi da su upravo ovi insekticidi imali najslabiji učinak. Uz azadiraktin i lufenuron u slabo toksične insekticide, prema IOBC klasifikaciji, mogu se temeljem postignutog učinka nakon 24 sata razvrstati i spinosad, lambda-cihalotrin i piretrin. Najjači učinak je imao acetamiprid. Njegov učinak 24 sata nakon ispuštanja bio je 68,06%, a čak iznad 99,00% 72 sata nakon ispuštanja. Acetamiprid je neonikotinoid te je vrlo toksičan za organizme, uzrokuje paralizu i smrt i djeluje brzo tako da je njegova iznimno visoka učinkovitost i očekivana (Bažok



2022a). Acetamiprid i abamectin bi se temeljem postignutog učinka nakon 24 sata mogli razvrstati u umjereno toksične insekticide.

Nakon 72 sata svi insekticidi pripadaju kategoriji vrlo toksičnih. Iz tih rezultata možemo ustvrditi da je kod svih insekticida došlo do porasta njihove učinkovitosti 72 sata nakon ispuštanja stjenica što potvrđuje našu hipotezu da je učinak insekticida jači što je stjenica dulje izložena njemu. To je zato što stjenice ipak provedu dulje vrijeme izložene insekticidima pa je stoga i učinak insekticida jači, a samim time i mortalitet stjenica veći.

Proučavajući insekticide stare 1, 3 i 7 dana u rezidualnom testu toksičnosti (slika 13) uočavamo da 24 sata nakon izlaganja insekticidi stari 1 i 3 dana imaju dosta jak učinak te po klasifikaciji pripadaju u umjereno toksične insekticide. Insekticidni depozit star 7 dana kod svih insekticida ima slabiji učinak na stjenicu u prvih 24 sata nakon ispuštanja. No 72 sata nakon izlaganja svi insekticidi, bez obzira na starost depozita, spadaju u vrlo toksične insekticide jer je njihov mortalitet iznad 75%. Iz ovih rezultata možemo zaključiti da depoziti insekticida stari 7 dana ipak imaju slabiji učinak nego oni stari 1 ili 3 dana te da s duljim vremenom izlaganja stjenica insekticidima raste i mortalitet stjenica.

Kod različitih doza insekticida uočeno je da su 100%-tne koncentracije insekticida najjače te pripadaju u umjereno toksične insekticide dok 25%-tne i 50%-tne koncentracije pripadaju u slabo toksične kada gledamo učinak 24 sata nakon izlaganja (slika 14). Međutim, kada gledamo učinak 72 sata nakon izlaganja svi insekticidi, bez obzira na koncentraciju, pripadaju vrlo toksičnim insekticidima.

Slično istraživanje su proveli Arno i Gabarra (2011). Oni su također istraživali rezidualni utjecaj insekticida azadiraktina i spinosada na odrasle ženke i ličinke stjenice *Macrolophus pygmaeus*. Njihov zaključak je bio da azadiraktin pripada u kategoriju slabo toksičnih insekticida za stjenicu *Macrolophus pygmaeus*, prema klasifikaciji Međunarodne organizacije za biološku kontrolu što se slaže s mojim istraživanjem. Spinosad pak pripada u kategoriju umjereno toksičnih insekticida dok u mom istraživanju pripada slabo toksičnim insekticidima. Učinak spinosada u njihovom radu je bio jači zato što su oni računali prosjek mortaliteta 24 sata nakon tretiranja i 7 dana nakon tretiranja. Kada uspoređujemo samo učinka spinosada 24 sata nakon tretiranja onda on u njihovom radu pripada bezopasnim insekticidima. No valja napomenuti da su u pokusu koristili pumpe koje su izvlačile sva moguća isparavanja insekticida dok su u mom pokusu

insekticidi isparavali i kondenzirali se u Petrijevim posudama. Koncentracije primjene su bile slične. Oni su koristili koncentraciju od 120 mg/L što otprilike odgovara mojoj 50%-tnoj koncentraciji otopine spinosada (Arno i Gabarra 2011).

U pokusu izravnog kontaktnog djelovanja (slika 15) najjači učinak 24 sata nakon ispuštanja imao je acetamiprid te piretrin. Najslabiji učinak imao je abamectin s 25,9% te lambda-cihalotrin s 42,74%. Oba ova insekticida stoga pripadaju slabo toksičnim insekticidima. Azadiraktin, spinosad i lufenuron možemo svrstati u umjereno toksične, a piretrin i acetamiprid u vrlo toksične insekticide. Međutim, 72 sata nakon tretiranja gotovi svi insekticidi su imali učinak iznad 90% dok je jedino lambda-cihalotrin imao nešto niži učinak. Stoga kada gledamo učinak 72 sata nakon tretiranja svi insekticidi prema klasifikaciji pripadaju u vrlo toksične insekticide. To nam govori da je učinak izravnog kontaktnog djelovanja svih ovih insekticida vrlo jak 72 sata nakon ispuštanja stjenica na tretiranu podlogu i kao što smo i očekivali mnogo je jači utjecaj nego u rezidualnom testu toksičnosti. To je zato jer u ovom slučaju stjenice dolaze u izravan kontakt sa pripremljenim insekticidom. To je vidljivo i na slici 16 gdje je jasno uočljivo da nema razlike u koncentraciji otopina insekticida, no učinak raste s protokom vremena.

Iako bi se očekivalo da ekološki prihvatljivi insekticidi – spinosad, azadiraktin i piretrin imaju slabiji učinak na prirodne neprijatelje od ostalih insekticida, rezultati to ne pokazuju. Primjerice, slabiji učinak u rezidualnom testu toksičnosti od piretrina i spinosada imaju lambda-cihalotrin i lufenuron. U testu izravnog kontaktnog djelovanja lambda-cihalotrin i abamectin imaju slabiji učinak od navedenih ekološki prihvatljivih insekticida. Stoga iako su oni ekološki prihvatljivi insekticidi to ipak ne znači da su bezopasni za prirodne neprijatelje. Piretrin je prirodni piretroid, a lambda-cihalotrin je sintetski piretroid. Zanimljivo je da je lambda-cihalotrin u oba pokusa imao slabiji učinak nego piretrin te ga po klasifikaciji svrstavamo u slabo toksične insekticide kada gledamo stanje 24 sata nakon tretiranja. Dakle uporaba prirodnog piretrina nema različiti učinak na prirodne neprijatelje od uporabe sintetskog piretroida.

Najslabiji učinak od svih insekticida 24 sata nakon tretiranja u pokusu izravnog kontaktnog djelovanja imao je abamectin koji je po mehanizmu djelovanja utječe na živčani sustav. Njegov utjecaj je slab nakon 24 sata, no već nakon 72 sata značajno raste i dostiže 100%-tni učinak (tablica 4 i tablica 6). U rezidualnom testu toksičnosti najslabije učinke pokazali su azadiraktin, lambda-cihalotrin i lufenuron. Insekticidi koji po mehanizmu djelovanja utječu na mišićni i živčani sustav,

a to su ovdje lambda-cihalotrin, acetamipird, azadiraktin, abamectin i piretrin, trebali bi imati znatno jači utjecaj od ostalih skupina insekticida. To je zato što insekticidi iz te skupine i inače vrlo brzo djeluju na mišićni i živčani sustav kukaca i uzrokuju smrt. Međutim, u mom rezidualnom testu toksičnosti to i nije baš tako. Tek nakon 72 sata je učinak bio znatno jači.

Lufenuron u rezidualnom testu ima slabo toksični učinak 24 sata nakon tretiranja dok 72 sata nakon tretiranja ima znatno jači učinak te po kategorizaciji pripada vrlo toksičnom insekticidu. U testu izravnog kontaktnog djelovanja ima umjereno toksičan utjecaj na predatorsku stjenicu nakon 24 sata i vrlo toksičan utjecaj nakon 72 sata. Kao regulator rasta i razvoja on bi trebao sporije djelovati od ostalih insekticida (Bažok 2022a) što je i vidljivo u ovom istraživanju. U rezidualnom testu toksičnost s depozitima starim 7 dana njegov prosječni učinak nakon 24 sata bio je 28,95% (tablica 3) što se smatra slabo toksičnim. Nakon 72 sata taj učinak raste na 59,8% što je umjereno toksično. Stoga čak i kada se koristi depozit star 7 dana on i dalje ima jak utjecaj nakon 72 sata te ga ne bismo mogli okarakterizirati kao ekološki prihvatljiv.

Ovo istraživanje je pokazalo da je zaista osjetljivost vrste *Macrolophus pygmaeus* najveća prilikom izravnog tretiranja kod svih vrsta insekticida čime je potvrđena hipoteza da je osjetljivost pri izravnom tretiranju najveća. Također je vrlo jasno da je smrtnost stjenica uvijek bila veća 72 sata nakon tretiranja u odnosu na 24 sata nakon tretiranja. Zanimljivo je da porast koncentracije insekticida nema značajan učinak na osjetljivost stjenice. Hipoteza o starosti depozita je bila ispravna jer se pokazalo točnim da sedam dana stari depoziti imaju slabiji učinak na stjenicu od onih starih jedan ili tri dana. Potvrđena je također hipoteza da učinak ovisi o vrsti insekticida, najjači učinak u oba pokusa je imao acetamiprid, a nakon njega je bio piretrin. Ti insekticidi po mehanizmu djelovanja pripadaju u skupinu insekticida koji djeluju na mišićni i živčani sustav kukaca. Najslabije učinke su imali azadiraktin, lambda-cihalotrin i lufenuron.

Rezultati ovih istraživanja su jako važni s praktičnog stajališta jer je informacija o učinku insekticida na prirodne neprijatelje vrlo korisna poljoprivrednim proizvođačima pri izboru insekticida i kreiranju strategija zaštite od štetnika. Pri tom je važno poznavanje učinka na više vrsta prirodnih neprijatelj. Za neke vrste je IOBC propisao smjernice, no *Macrolophus pygmaeus* nije među njima te za tu vrstu vrijede općenite vrijednosti i smjernice. S obzirom da provedeno istraživanje doprinosi spoznajama o utjecaju insekticida na manje istraženog prirodnog neprijatelja

*Macrolophus pygmaeus* bilo bi korisno da se ono nastavi u smjeru koji bi omogućio razvoj metodike koja bi se propisala za laboratorijske pokuse s ovim i sličnim organizmima.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju priloženih rezultata dobivenih istraživanjem izravne i rezidualne toksičnosti insekticida na predatorsku stjenicu *Macrolophus pygmaeus* Rambur utvrđeno je da je učinak kod svih vrsta insekticida značajno jači i da je mortalitet veći 72 sata nakon izlaganja u odnosu na 24 sata nakon izlaganja stjenica insekticidima.

Utvrđeno je i da učinak ne raste s porastom koncentracije insekticida kao što smo prvotno pretpostavili. Nije bilo značajnih razlika između utjecaja 100%-tnih, 50%-tnih i 25%-tnih otopina insekticida.

Utvrđeno je i da je učinak slabiji s protekom vremena koje je prošlo od tretiranja do izlaganja stjenica insekticidima kao što smo i pretpostavili. Depoziti stari 7 dana imali su značajno manji učinak na smrtnost stjenica nego depoziti stari 1 ili 3 dana. To se pokazalo točnim kod svih vrsta insekticida.

Utvrđeno je i da je izravni učinak znatno jači nego rezidualni kao što smo i pretpostavili.

Utvrđeno je i da je najjači učinak u oba pokusa imao insekticid acetamipird, a nakon njega piretrin. Ti insekticidi po mehanizmu djelovanja pripadaju insekticidima koji djeluju na mišićni i živčani sustav. Najslabiji učinak imali su insekticidi lufenuron, lambda-cihalotrin i azadiraktin.

Utvrđeno je i da ekološki prihvatljivi insekticidi azadiraktin, piretrin i spinosad nisu bezopasni za prirodne neprijatelje već su u prosjeku pokazivali umjereno toksičan utjecaj.

Utvrđeno je i da prirodni piretroid – piretrin nije manje štetan od sintetičkog piretroida – lambda-cihalotrina. Lambda-cihalotrin je čak imao malo manji učinak od piretrina.

Utvrđeno je i da bi bilo korisno nastaviti ova istraživanja na predatorskoj stjenici *Macrolophus pygmaeus* da bi se omogućio razvoj metodike koja bi se propisala za laboratorijske pokuse s ovim i sličnim organizmima.

## 7. LITERATURA

Arno, J., Gabarra, R. (2011): Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). **Journal of Pest Science** 84: 513:520

Barzman, M., Bàrberi, P., Birch, A. N. E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J. E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichane, J. R., Messean, A., Moonen, A. C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J. L., Sattin, M. (2015): Eight principles of integrated pest management. **Agronomy for Sustainable Development** 35: 1199–1215

Barić, K., Bažok, R. (2020): Razvoj legislative u zaštiti bilja. **Glasilo biljne zaštite** 20 (3): 378-383

Bažok, R., Krajinović, T., Gavić, E., Drmić, Z., Čaćija, M., Kadoić Balaško, M., Skendžić, S., Lemić, D., Jelovčan, S. (2020): Popratni učinak insekticida na prirodne neprijatelje i neciljane kukce. **Glasilo biljne zaštite** 20: (1-dodatak): 13-14.

Bažok, R. (2022a): Zoocidi. U: Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2022. godinu (ur. Bažok, R.). **Glasilo biljne zaštite** 22: (1-2): 9-116.

Bažok, R. (2022b): Methods and tools to manage pests. In: Training Manual for Plant Protection in Organic Farming (Ed. R. Bažok). University of Zagreb Faculty of Agriculture, dostupno na URL: <https://topplantportal.eu/mod/resource/view.php?id=852> (pristupljeno 26.7.2022.)

Daily, G. C. (2012): Nature's Services: Societal Dependence On Natural Ecosystems. Island Press, Washington, D.C.

De Backer, L., Megido, R. C., Haubruge, E., Verheggen, F. J. (2014): *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Europe. A review. **BASE** 18: 536-543

<https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=11671> (pristupljeno 26. 7. 2022.)

EC1107/2009 Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market

and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex%3A32009R1107>

EPPO, (2021): Efficacy Evaluation of Plant Protection Products: Side effects on *Encarsia formosa*. PP1/142(2). [https://pp1.eppo.int/standards/side\\_effects](https://pp1.eppo.int/standards/side_effects) (pristupljeno 26.7.2022.)

EPPO, (2021a): Efficacy Evaluation of Plant Protection Products: Side effects on *Trichogramma cacoeciae*. PP1/180(2). [https://pp1.eppo.int/standards/side\\_effects](https://pp1.eppo.int/standards/side_effects) (pristupljeno 26.7.2022.)

EPPO, (2021b): Efficacy Evaluation of Plant Protection Products: Side effects on *Phytoseiulus persimilis*. PP1/151(2). [https://pp1.eppo.int/standards/side\\_effects](https://pp1.eppo.int/standards/side_effects) (pristupljeno 26.7.2022.)

Gotlin Čuljak, T., Juran, I. (2016): Poljoprivredna entomologija – sistematika kukaca. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.

Grimaldi, D., Engel M. S. (2005): Evolution of insects. Cambridge University Press, Cambridge.

Gylling Data Management Inc. (2022): ARM 9® GDM Software, Revision 2022.2. April 17, B=39912), Brookings, South Dakota.

Habdija, I., Primc Habdija, B., Radanović, I., Špoljar, M., Matoničkin Kepčija, R., Vujčić Karlo, S., Miliša, M., Ostojić, A., Sertić Perić, M. (2011): Protista – Protozoa, Metazoa – Invertebrata. **Alfa**, Zagreb.

Hajek, A. E., Eilenberg J. (2018): Natural Enemies: An Introduction to Biological Control. Cambridge University Press, Cambridge.

Hassan, S. A. (1985): Standard methods to test the side effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by IOBC/WPRS Working Group „Pesticides and Beneficial Organisms“. **OEPP/EPPO Bulletin** 15: 213-255.

Hassan, S.A. (1985a): Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products, side-effects on *Phytoseiulus persimilis*. **OEPP/EPPO Bulletin** 14-255.

Hassan, S.A. (1985b): Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products, side-effects on *Trichogramma cacoeciae*. **OILB/SROP Bulletin** 165-172.

Maselou, D. A., Anastasaki, E., Milonas, P. G. (2019): The role of host plants, alternative food resources and herbivore induced volatile in choice behavior of an omnivorous predator. **Frontiers in Ecology and Evolution** 6: 241

Martinou, A. F., Seraphides, N., Stavriniades, M. C. (2013): Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere** 96: 167-173

Meerman, F., Van De Ven, G. W. J., Van Keulen, H., Breman, H. (1996): Integrated crop management: An approach to sustainable agricultural development. **International Journal of Pest Management** 42: 13-2

Perdikis, D. CH., Lykouressis, D. P. (2004): *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) Population Parameters and Biological Characteristics When Feeding on Eggplant and Tomato Without Prey. **Ecology and Behaviour** 97: 1291-1298

Preston-Mafham, R., Preston-Mafham, K. (2005): Encyclopedia of insects and spiders. Thunder Bay Press, San Diego.

Provedbena uredba (EZ) br. 1107/2009 Europskog parlamenta i Vijeća od 21. listopada 2009. o stavljanju na tržište sredstava za zaštitu bilja i stavljanju izvan snage direktiva Vijeća 79/117/EEZ i 91/414/EEZ.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex%3A32009R1107> (pristupljeno 26.7.2022.)

Rahmouni, R., Brahim, C. (2011): Comparative impact of Spinosad and Malathion on the evolution of parasitism caused by *Semiolachar petiolatus* Girault (Hymenoptera: Eulophidae), specific parasitoid of the citrus leafminer. **IOBC Bulletin** 6: 325-336

Schneider-Orelli, O. (1947): Entomologisches Praticum. HR Sauerlander and Co, Aarau.

Sylla, S., Brevault, T., Diarra, K., Bearez, P., Desneux, N. (2016): Life-history traits of *Macrolophus pygmaeus* with different prey foods. **Plos One** 11

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5117678/#> (pristupljeno 26.7.2022.)



Thomson, L. J., Hoffmann, A. A. (2006): Field validation of laboratory-derived IOBC toxicity ratings for natural enemies in commercial vineyards. **Biological Control** 39: 507-515

URL 1

[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=718523#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=718523#null)  
(Datum pristupanja: 14.8.2022.)

URL 2

<https://www.wikidata.org/wiki/Q10573776> (Datum pristupanja: 14.8.2022.)

URL 3 <https://www.biobestgroup.com/en/biobest/products/biological-pest-control-4463/beneficial-insects-and-mites-4479/macrolophus-system-4665/> (Datum pristupanja: 14.8.2022.)

URL 4

<https://www.biobee.com/solutions/biomacrolophus> (Datum pristupanja: 14.8.2022.)

URL 5

[https://biopol.nl/data/pam/public/productbladen/pi\\_-\\_macrolophus\\_pygmaeus\\_eng.pdf](https://biopol.nl/data/pam/public/productbladen/pi_-_macrolophus_pygmaeus_eng.pdf) (Datum pristupanja: 14.8.2022)

URL 6

<https://fis.mps.hr/trazilicaszb/> (Datum pristupanja: 14.8.2022).

## 8. ŽIVOTOPIS

Zovem se Luka Miholić. Rođen sam u Zagrebu 1997. godine. Završio sam XV. gimnaziju u Zagrebu i potom upisao studij Znanosti o okolišu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Od kolovoza 2018. radim kao edukator u Zoološkom vrtu Grada Zagreba. Na tom radnom mjestu održavam obrazovne programe, proslave rođendana i radionice za djecu svih uzrasta. Također sudjelujem u organizaciji, pripremi i provođenju raznih edukativno-zabavnih programa i izložbi namijenjenih posjetiteljima Vrta (osmišljavanje programa, izrada ukrasa i rekvizita, rad u timu...). Obavljam monitoring životinja te pomažem u brizi i treningu životinja korištenih u odjelu edukacije. Od 2014. godine održavam i instrukcije iz matematike, biologije, fizike i kemije za učenike osnovnih i srednjih škola. Odlično se služim engleskim jezikom. Posjedujem vozačku dozvolu B kategorije. Odlično se koristim sustavima MS Office i GIS.

## PRILOZI

Prilog 1. Insekticidi dozvoljeni za uporabu u ekološkoj proizvodnji (izvor: Bažok 2022a; FIS baza, Ministarstvo poljoprivrede 2022, URL 6)

| Mehanizam djelovanja        |                          | Djelatna tvar     | Naziv proizvoda  | Namjena  |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------|--|--|
| Grupa                       | Podgrupa                 |                   |  |  |
| 3 Modulatori kanala natrija | 3A piretrin i piretroidi | deltametrin       | Eco-trap<br><br>Decis trap – mediteranska voćna muha                                 | Meditranska voćna muha i maslinina muha na maslini, agrumima, breskvi, jabuci, vinovoj lozi,   |
|                             |                          | lambda-cihalotrin | Conetrap<br>Ceratitis<br><br>Conetrap<br>Bractrocera<br>Karatetrap B<br>Karatetrap C | Meditranska voćna muha i maslinina muha na maslini agrumima, breskvi, nektarini, šljivi, marelici, trešnji, jabuci, kruški, dunji i vinovoj lozi,<br>Maslinina muha na maslini<br><br>Meditranska voćna muha na agrumima, breskvi, nektarini, šljivi, marelici, trešnji, jabuci, kruški, dunji i, vinova loza, |
|                             |                          | piretrin          | Abanto   | Breskvina uš, američki cvrčak, cvrčak, duhanov štitasti moljac, staklenički štitasti moljac, salatna lisna uš, pamukova lisna up, crna repina uš na breskvi, nektarini, marelici, šljivi, trešnji, dinji, vinovoj lozi, tikvi, lubenici, rajčici, patlidžanu, paprici,   |

|  |           |          |                          |   |
|--|-----------|----------|--------------------------|---|
| 5 Alosterički aktivatori nikotinskog acetilkolinskog receptora | spinosini |          | Asset                    | krastavcu, tikvici, špinatu i zelenoj salati  |
|  |           |          | Asset five               | Ose šljivarice, lisne uši, stjenice, medeći cvrčak, maslinov moljac i mediteranska voćna muha na šljivi, lijeski, bademu, orahu, maslini, agrumima, smokvi, jagodi i duhanu   |
|  |           | spinosad | Pyregard<br>Direkt green | Lisne uši, štitasti moljci, zelena breskvina uš, jabučna lisna uš, cvrčci, tripsi na naranči, mandarini, breskvi, jabuci, kruški i vinovoj lozi<br>Zelena breskvina uš, američki cvrčak, cvrčak, duhanov štitasti moljac, staklenički štitasti moljac, salatina lisna uš, pamukova lisna up, crna repina uš na breskvi, nektarini, marelici, šljivi, trešnji, dinji, vinovoj lozi, tikvi, lubenici, rajčici, patlidžanu, paprici, krastavcu, tikvici, špinatu, salati |
|  |           |          | Laser                    | Pepeljasti groždani moljac, žuti groždani moljac, krumpirova zlatica, kalifornijski trips, muha lisni miner, jabučni savijač na vinovoj lozi, krumpiru, paprici, krastavcu, rajčici, jagodi, luku, češnjaku, orahu, bademu, kestenu, špinatu, brokuli, dinji, salati  |

|  |  |   |                                       |   |
|--|--|---|---------------------------------------|---|
| 11 Mikrobni uzročnici oštećenja membrane probavnog sustava | <i>Bacillus thuringiensis</i> i insekticidni proteini koje proizvode | <i>Bacillus thuringiensis</i> var. kurstaki | Succes bait                           | Voćne muhe, maslinina muha, mediteranska voćna muha na agrumima, maslini,   |
|  |  |   | Baturad WP                            | Maslinov moljac, gubar, kupusni bijelac na šumskim nasadima, voćkama, ukrasnom bilju, maslini, vinovoj lozi, povrtlarskim kulturama, dudovcu,   |
|  |  |   | Biobit WP                             | Maslinov moljac, pepeljasti groždani moljac, žuti groždani moljac na maslini, vinovoj lozi, voćkama, kupusnjačama, dudovacu   |
|  |  |   | Foray 48 B                            | Borov četnjak, gubar, mali mrazovac, hrastov savijač na šumskim nasadima  |
|  |  |   | Lepinox plus                          | Kupusni moljac, kupusni bijelac, sovica, breskvin savijač, breskvin moljac na jabuci, kruški, dunji, marelici, breskvi, šljivi, trešnji, kiviju, vinovoj lozi, dinji, lubenici, grahu, bosiljku, peršinu, komoraču, brokuli |
|  |  |   | Dipel DF                              | Moljci, granotoč, ražin savijač na agrumima, bademu, pistaciju, lijeski, jabuci, kruški, marelici, breskvi, trešnji, maslini, cvjetači, kupusu  |
| 31 Bakulovirusi  | Virus granuloze  | <i>Cydia pomonella</i> granulovirus (CpGV)  | Madex Granupom<br>Carpovirusine evo 2 | Jabučni savijač na jezgričavom voću<br>Šljivin savijač, breskvin savijač, jabučni savijač na  |

|  |   |                   |  |  |
|--|---|-------------------|--|--|
|  |   |                   |  | jabuci, kruški, dunji, orahu, breskvi, nektarini, marelici, šljivi   |
| UN<br>Komponente<br>za koje je<br>mehanizam<br>djelovanja<br>nepoznat                      | Azadiraktin                                     | Azadiraktin       | Neemazal-T/S   | Sovice, tripsi, lisne uši, staklenički štitasti moljac, korpivina grinja, krumpirova zlatica na krumpiru, kadulji, rajčici, krastavcu, bundevi, tikvi, smilju, lavandi, peršinu, jabuci, dunji, mušmuli  |
| UNM<br>Nespecifični<br>mehanički<br>disruptori<br>Nerazvrstana<br>sredstva prema<br>IRAC-u | Dijatomejska<br>zemlja<br><br>Mineralna<br>ulja | Mineralna<br>ulja | Silico-sec<br><br>Bijelo ulje<br>Mineralno<br>svijetlo ulje<br><br>Modro ulje<br><br>Promanal neu<br><br>Ovipron top | Skladišni štetnici, grinje na žitaricama, skladištima i mlinovima<br><br>Štitaste uši, lisne buhe, jabučni cvjetar, smokvin medić, crveni voćni pauk na voćkama, agrumima, maslini, oleandru, vinovoj lozi<br><br>Lisne uši, crveni voćni pauk, kovrčavost, šupljikavost, krastavost na nasadima u mirovanju<br>Kupusni štitasti moljac, duhanov štitasti moljac, lisne uši, kalifornijski trips na agrumima, jabuci, kruški, šljivi, maslini, krastavcu, dinji, rajčici, paprici, cvjetači<br>Štitaste uši, maslinov medić, crveni voćni pauk na agrumima, jabuci, kruški, breskvi, šljivi, trešnji |

|  |                                    |                      |  |
|--|------------------------------------|----------------------|--|
|  |                                    | Ovitex               | Crveni voćni pauk, žuta narančina štitasta uš na agrumima, jabuci, kruški, marelici, šljivi, bademu, ukrasnom bilju,   |
|  |                                    | Laincoil<br>Plantoil | Štitaste uši, grinje, crveni pauk agruma, koprivina grinja na agrumima, jabuci, kruški, breskvi, šljivi, trešnji   |
|  | Narančino<br>ulje                  | Prev gold            | Koprivina grinja, štitasti moljci, lisne uši, tripsi, pepelnica, staklenički štitasti moljac, plamenjača, hrđa, crveni pauci, štitasti moljci na agrumima, cvijeću, ukrasnom drveću, ukrasnom grmlju, rajčici, krastavcu, paprici, |
|  | Masne<br>kiseline<br>kalijeve soli | Flipper              | tikvici, patlidžanu, dinji, lubenici, rikoli, špinatu, cikli, hrenu, repi, poriluku  |