

INSEKTICIDNO DELOVANJE PETIH ETERI NIH OLJ NA ODRASLE OSEBKE FIŽOLARJA (*Acanthoscelides obtectus* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae)

Tanja BOHINC¹, Stanislav TRDAN²

^{1,2} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, Ljubljana

IZVLE EK

V laboratorijskih razmerah smo preu evali insekticidno delovanje eteri nih olj navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis*), bergamota (*Citrus bergamia*), kafre (*Cinnamomum camphora*), navadnega lovorja (*Laurus nobilis*) in žajblja (*Salvia officinalis*) na odrasle osebke fižolarja. Delovanje eteri nih olj smo preu evali pri dveh vrednostih relativne zra ne vlage (55 in 75°C) in pri treh temperaturah (25, 30 in 35 °C). Smrtnost izpostavljenih odraslih osebkov fižolarja smo ugotavljali 1., 2. in 3. dan po nastavitvi. Poskus je potekal pri 4 razli nih koncentracijah eteri nih olj (24,5; 98,0; 245,0 in 980,0 µl/ l zraka). Rezultati poskusa kažejo, da je eteri no olje rožmarina vplivalo na najvišjo smrtnost fižolarja (79,23±0,99 %), medtem ko je bila smrtnost v obravnavanjih z eteri nimi olji žajblja (71,13±1,8 %), navadnega lovorja (66,28±1,16%), kafre (46,49±1,30 %) in bergamota (35,80±1,8 %) nižja. Delovanje eteri nih olj je bilo signifikatno višje v obravnavanjih, ki smo jih izpostavili višji relativni zra ni vlagi (61,52±0,78 %). Pridobljeni rezultati predstavljajo osnovo za nadaljevanje preu evanja insekticidne (fumigantne) u inkovitosti eteri nega olja rožmarina v skladiš ih, z namenom implementacije v okoljsko sprejemljive sisteme skladiš enja fižola in drugih poljš in.

Klju ne besede: fižolar, *Acanthoscelides obtectus*, alternativne metode, eteri na olja, navadni rožmarin, bergamot, kafra, navadni lovor, žajbelj, insekticidno delovanje

ABSTRACT

INSECTICIDAL EFFICACY OF FIVE ESSENTIAL OILS AGAINST BEAN WEEVIL (*Acanthoscelides obtectus*, Coleoptera, Chrysomelidae) ADULTS

Laboratory experiment was carried out to determine the insecticidal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis*), bergamot (*Citrus bergamia*), camphor tree (*Cinnamomum camphora*), bay laurel (*Laurus nobillis*) and common sage (*Salvia officinalis*) on the mortality of bean weevil adults. Properties of essential oils were tested at two different relative humidity levels (55 and 75%) and at three different temperatures (25, 30, and 35°C). Mortality was evaluated 1, 2 and 3 days after exposure. We evaluated the efficacy of essential oils at four different dose rates: 24.5, 98.0, 245.0 and 980.0 µl/l air). Generally speaking, essential oil from rosemary gave 79.23±0.99 % efficacy, meanwhile mortality in treatments treated with sage (71.13±1.80 %), bay laurel (66.28±1.16%), camphor (46.49±1.30%) and bergamot (35.80±1.8 % lower). At higher relative humidity (61.52±0.78%) essential oils were significantly more effective. Demonstrated results provide the basis for continued study of insecticidal (fumigant) efficacy (in particular) of essential oil of rosemary in warehouses, with the purpose of implemenation in environmentally acceptable storage systems of bean and other crops.

¹ dr., raziskovalka, Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof. dr., prav tam

Key words: bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*, alternative methods, essential oils, rosemary, bergamot, camphor tree, bay laurel, common sage, insecticidal efficacy

1 UVOD

Uspešnost varstva skladiš enega pridelka pred škodljivimi žuželkami je v preteklih desetletjih temeljila predvsem na uporabi sinteti nih insekticidov (Kim *et al.*, 2003; Rozman *et al.*, 2007). Z vse ve jim zavedanjem, da imajo lahko sinteti ni pripravki neželen vpliv na loveka in okolje, znanje o okoljsko sprejemljivejših na inih varstva skladiš enih pridelkov pridobiva na pomenu (Fields in Korunic, 2000; Rozman *et al.*, 2007). V državah, kjer sistemi skladiš enja zrnja še ne dosegajo visokih okoljskih standardov, lahko skladiš ni škodljivci povzro ijo 10-40% škode (Yang *et al.*, 2010).

Skladiš eni pridelki rastlinskega in živalskega izvora predstavljajo potencialni vir hrane za ve kot 600 razli nih vrst hroš ev, 70 vrstam metuljev in okoli 355 vrstam pršic. Omenjene škodljive vrste povzro ijo zmanjšanje kakovosti in koli ine skladiš enega pridelka (Derbalah, 2012). Rastlinskih vrst, ki vsebujejo spojine s potencialnim insekticidnim delovanjem je ve kot 2000 (Pérez *et al.*, 2010), kljub temu pa pripravki rastlinskega izvora predstavljajo le 1 % vseh insekticidov, ki jih trenutno uporabljamo v varstvu rastlin (Rozman *et al.*, 2007).

Lipofilnost eteri nih olj rastlinskega izvora omogo a, da lahko delujejo na metabolizem škodljivca, poleg tega pa vplivajo na njegove biokemi ne, fiziološke in vedenjske funkcije. Njihovo delovanje je lahko ovicidno, fumigantno, insekticidno (Prajapati *et al.*, 2005), prištevamo pa jim tudi repelentno delovanje (Papachristos in Stamopoulos, 2002; Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2012).

Fižolar (*Acanthoscelides obtectus*) spada med pomembne skladiš ne škodljivce fižola v Sredozemlju (Milevoj, 1995; Papachristos in Stamopoulos, 2002) in Latinski Ameriki (Pérez *et al.*, 2010). S pri ujo o raziskavo smo želeli preu iti u inkovitost fumigantnega delovanja petih eteri nih olj na odrasle osebkke fižolarja, ki postaja v Evropi vse pomembnejši škodljivec uskladiš enega fižola, da bi z naju inkovitejšo od omenjenih snovi nadomestili sinteti na fumiganta Al-fosfid in Mg-fosfid, ki imata trenutno v Sloveniji edina registracijo za zatiranje tega škodljivca (Seznam registriranih ..., 2013), rezultati nekaterih raziskav (Ahmedani *et al.*, 2007) pa kažejo na njihovo nezadovoljivo delovanje na skladiš ne škodljivce.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Rastlinski material

V poskusu smo preu evali delovanje petih eteri nih olj; navadnega rožmarina (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae), navadnega lovorja (*Laurus nobilis*, Lauraceae), bergamota (*Citrus bergamia*, Rutaceae), kafre (*Cinamomum camphora*, Lauraceae) in žajblja (*Salvia officinalis*, Lamiaceae). Uporabili smo 100% naravna eteri na olja lokalnega dobavitelja (dobavitelj: ARS Trade, d.o.o). Fižol, uporabljen v poskusu (kultivar: ešnjevca, poreklo: Kanada), smo kupili v lokalni trgovini in ga hranili pri sobni temperaturi. Populacijo fižolarjev, uporabljenih v poskusu, smo gojili v Laboratoriju za entomologijo Katedre za fitomedicino, kmetijsko tehniko, poljedelstvo, pašništvo in travništvo, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

2.2 Laboratorijski poskus

Poskus je potekal v že omenjenem Laboratoriju za entomologijo. Preu evanje fumigantnega delovanja eteri nih olj je potekalo pri treh temperaturnih vrednostih (25, 30 in 35°C) in pri

dveh vrednosti relativne zra ne vlage (55 in 75%). V poskusu smo uporabili en dan stare odrasle osebkke fižolarjev. Eteri na olja smo v štirih razli nih koli inah (2,5; 10,0; 25,0 in 100,0 μ l) s pomo jo avtomatske pipete aplicirali v 1,5 ml mikrocentrifugirke, ki smo jih na eni strani naluknjali, da bi dosegli njihovo fumigantno delovanje in da bi prepre ili morebitno fitotoksi nost olj ob stiku z zrnjem fižola. Navedene koli ine eteri nih so predstavljale 24,5, 98,0, 245,0 in 980 μ l eteri nega olja na liter zraka (v nadaljevanju μ l/l). Posamezno obravnavanje s pripadajo o koli ino eteri nega olja je predstavljajo 5 petrijevok. Obravnavanje smo ponovili trikrat. Kontrolno obravnavanje je predstavljalo identi no število petrijevok, vendar brez eteri nega olja Posamezna petrijevka (45,0 \pm 0,10 g fižola) je vsebovala 10 odraslih osebkov fižolarja, ki jim nismo dolo ili spola in starosti. Vsako petrijevko smo ovili s parafilmom, z namenom, da bi prepre ili pobeg preu evani skupini škodljivcev. Smrtnost hroš ev smo ocenjevali 24, 48 in 72 h po nastavitvi poskusa.

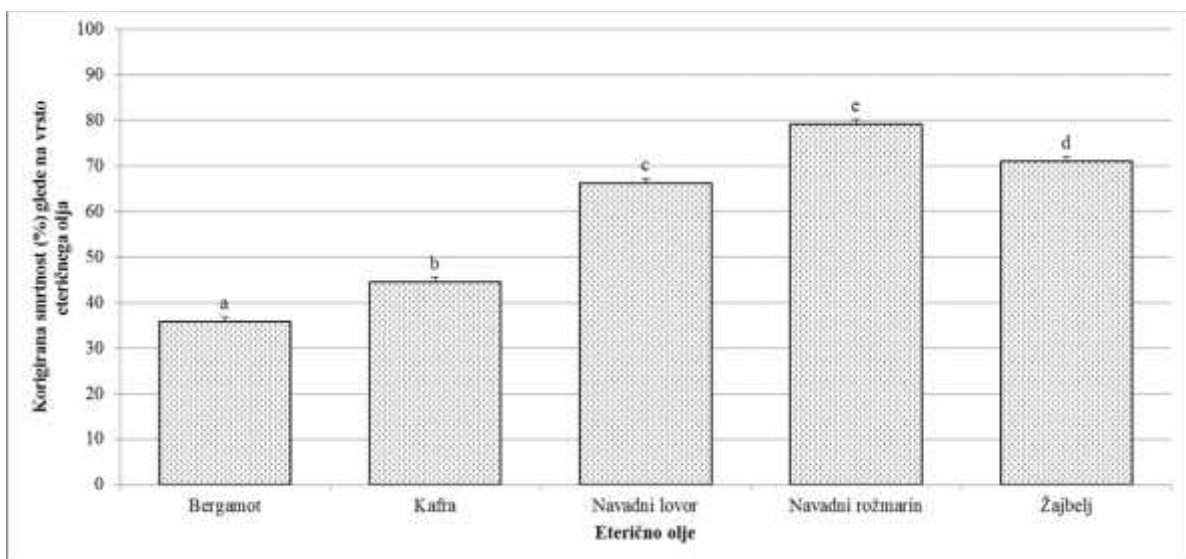
2.3 Analiza podatkov

Korigirano smrtnost smo izra unali s pomo jo Abbottove formule (Abbott, 1925). Rezultate poskusa smo statisti no ovrednotili s programom Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Centurion, 2009). Razlike med obravnavanji smo ovrednotili z analizo variance (ANOVA) in Duncanovim preizkusom mnogoterih primerjav (P 0,05). Izra unali smo vpliv temperature, vlage, dneva ocenjevanja in koli ine eteri nih olj na smrtnost fižolarjev v posameznem dnevu.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

315

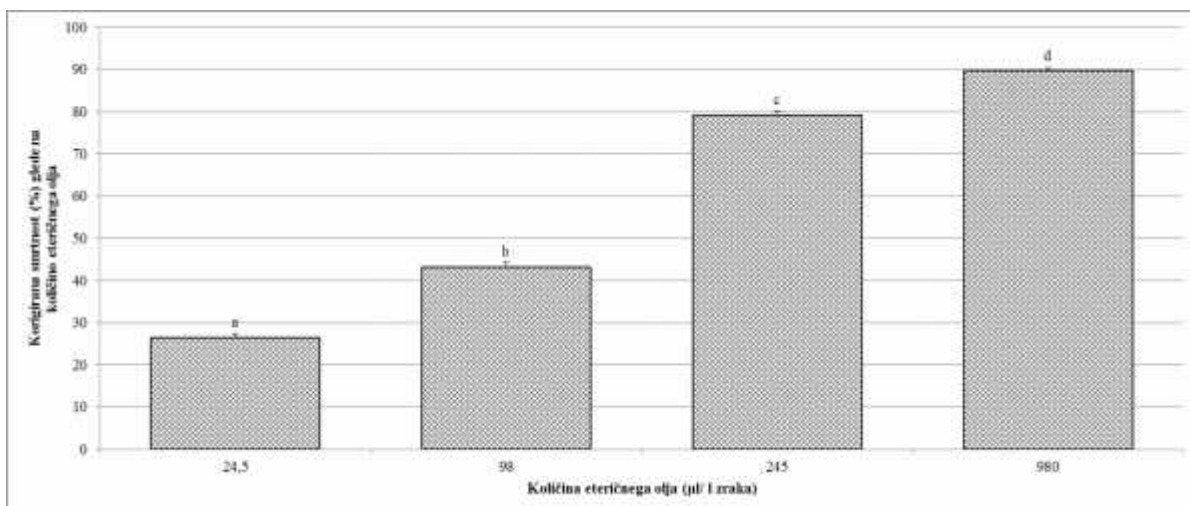
Ugotovili smo, da je na smrtnost odraslih osebkov fižolarja signifikatno vplivala vrsta eteri nega olja (F=649,64; Df=4; P<0,0001), termin ocenjevanja (F=350,12; Df=2; P<0,0001), koli ina eteri nega olja (F=2191,69; Df=3; P<0,0001), relativna zra na vlaga [RH] (F=43,09; Df=1; P<0,0001) in temperatura (F=45,99; Df=2; P<0,0001). Najvišjo smrtnost hroš ev smo ugotovili v obravnavanjih z eteri nim oljem navadnega rožmarina (79,23 \pm 0,99 %), najnižja smrtnost pa je bila ugotovljena v obravnavanjih z eteri nim oljem bergamota (35,80 \pm 1,17%). Smrtnost hroš ev pri uporabi eteri nih olj kafe (44,54 \pm 1,31%), navadnega lovorja (66,28 \pm 1,16%) in žajbelja (71,13 \pm 1,08%) se je prav tako signifikantno razlikovala (slika 1).



Slika 1: Korigirana smrtnost odraslih osebkov (%) fižolarja glede na vrsto eteri nega olja

Figure 1: Corrected mortality (%) of bean weevil adults according to different essential oils

Smrtnost imagov je bila signifikatno najvišja pri 30°C (63,84±0,92%) in pri višji vrednosti relativne zra ne vlage (61,51±0,78 %). Med uporabljenimi koli inami eteri nih olj smo pri najmanjši dosegli 26,54±0,86 % smrtnost, pri uporabi 98 µl eteri nih olj/l zraka je bila dosežena 43,24±1,08% smrtnost, pri 245 µl eteri nega olja na liter zraka pa smo dosegli 79,27±0,86% smrtnost.

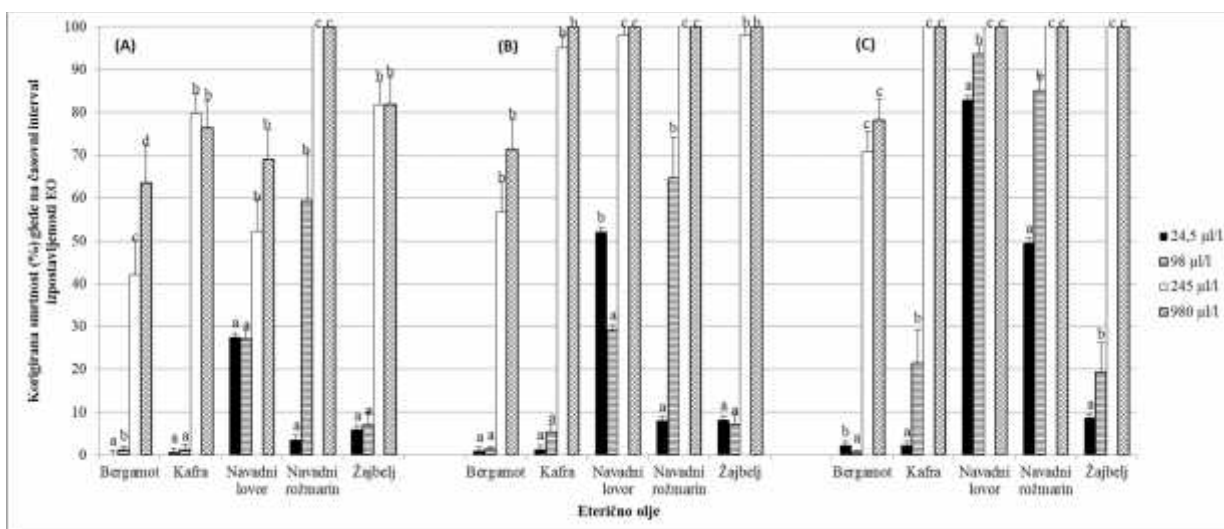


Slika 2: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja (%) glede na koli ino eteri nega olja
Figure 2: Corrected mortality (%) of bean weevil adults according to different quantity of essential oils

316

3.1 Smrtnost odraslih osebkov pri 55% vlagi

Pri 25°C smo v obravnavanjih z eteri nim oljem navadnega rožmarina po 48 urah pri 24,5 µl/l zraka ugotovili 7,82±2,00 % smrtnost (slika 3), medtem ko smo v obravnavanjih z 245 µl eteri nega olja navadnega rožmarina ugotovili 100,00±0,00 % smrtnost.



Slika 3: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja pri 25°C in 55 % relativni zra ni vlagi, glede na dolžino izpostavljenosti eteri nim oljem; A - 24 ur po izpostavitvi, B - 48 ur po izpostavitvi, C - 72 ur po izpostavitvi
Figure 3: Corrected mortality of bean weevil adults at 25°C and 55 % relative humidity level, according to longevity of exposure to different essential oils; A - 24 h after exposure, B - 48 h after exposure, C - 72 h after exposure

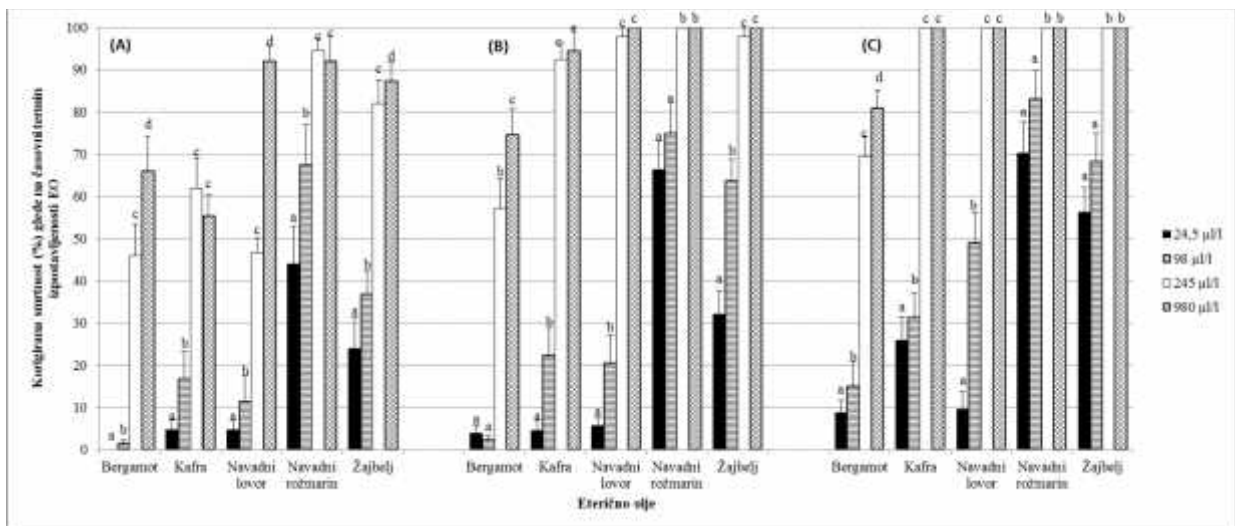
V obravnavanjih z eteri nimi olji navadnega rožmarina, navadnega lovorja, žajblja in kafe v koncentraciji 245 $\mu\text{l/l}$ zraka smo po 72 urah ugotovili 100,00 \pm 0,00 % smrtnost hroščev, medtem ko je bila smrtnost v obravnavanjih z 245 μl eteri nega olja bergamota najnižja (70,79 \pm 4,74%). Analiza delovanja EO potrjuje, da je bila 62,40 \pm 8,81 % smrtnost dosežena, e smo pri 30°C hroš e za 24 ur izpostavili EO navadnega rožmarina v koli ini 24,5 $\mu\text{l/l}$. 100 % smrtnost je bila dosežena, ko smo hroš e za 48 ur izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina, medtem ko smo podobno smrtnost dosegli z izpostavljenostjo hroščev 72 ur EO navadnega lovorja. 26,93 \pm 7,49 smrtnost odraslih osebkov fižolarja je bila dosežena v obravnavanjih, ki so bila pri 35°C izpostavljena 24,5 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega žajblja, medtem ko je omenjeno EO v koli ini 980 $\mu\text{l/l}$ po 48 urah povzro ilo 100 % smrtnost.

3.2 Smrtnost odraslih osebkov pri 75% vlagi

V obravnavanjih, ki smo jih pri 25°C izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina, in je bila dolžina izpostavljenosti 24 ur, smo ugotovili 94,67 \pm 2,90 % smrtnost (slika 4), medtem ko smo 48 ur po nastavitvi v omenjenih obravnavanjih ugotovili 100 % smrtnost. 100 % smrtnost po 48 urah izpostavljenosti EO smo ugotovili še v obravnavanjih z 980 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega lovorja in žajblja. 72 ur po nastavitvi smo v obravnavanjih z EO kafe, navadnega lovorja, navadnega rožmarina in žajblja ugotovili 100 % smrtnost. Po 72 urah smo v obravnavanjih, ki smo jih pri 30°C izpostavili 245 $\mu\text{l/l}$ EO kafe, navadnega lovorja, navadnega rožmarina in žajblja ugotovili 100% smrtnost, medtem ko pri 35°C delovanje zgoraj omenjenih eteri nih olj pri 245 $\mu\text{l/l}$ ni tako izrazito.

Pri hroščih, ki smo jih pri 25°C za 24 ur izpostavili 98 $\mu\text{l/l}$ EO navadnega rožmarina smo ugotovili 67,33 \pm 9,68 % smrtnost, medtem ko smo pri hroščih, ki smo jih pri 30°C za 24 ur izpostavili EO navadnega rožmarina, ugotovili 80,41 \pm 4,36 % smrtnost.

317



Slika 4: Korigirana smrtnost odraslih osebkov fižolarja pri 25°C in 75 % relativni zra ni vlagi, glede na dolžino izpostavljenosti eteri nim oljem; A - 24 ur po izpostavitvi, B - 48 ur po izpostavitvi, C - 72 ur po izpostavitvi
Slika 4: Corrected mortality of bean weevil adults at 25°C and 75 % relative humidity level, according to longevity of exposure to different essential oils; A - 24 h after exposure, B - 48 h after exposure, C - 72 h after exposure

4 SKLEPI

Rezultati naše raziskave predstavljajo eteri na olja, še posebno navadnega rožmarina, kot u inkovito alternativno metodo zatiranja enega od pomembnejših skladiš nih škodljivcev,

fižolarja. Kljub temu, da v praksi velja, da je varstvo uskladiš enega fižola pred napadom tega škodljivca lahko uspešno tudi pri izpostavitvi nizki ali visoki temperaturi (Milevoj, 1995), pa se je tudi v drugih raziskavah uporaba rastlinskih eteri nih olj izkazala za uspešno metodo zatiranja škodljivca (Rozman *et al.*, 2007). V naši raziskavi smo dosegli 100 % smrtnost hroščev pri izpostavitvi EO navadnega rožmarina za 24 ur v količini 245 $\mu\text{l/l}$ zraka. Delovanje eteri nih olj je bilo boljše pri višji relativni zračni vlagi, kar smo dokazali že v eni od prejšnjih raziskav (Trdan in Bohinc, 2012).

S tem, ko smo eteri na olja dodajali v naluknjane mikrocentrifugirke, smo preprečili enega od potencialnih negativnih vplivov eteri nih olj, tj. njihovo fitotoksičnost (Cloyd *et al.*, 2009). V svetu največkrat uporabljena eteri na olja - iz družin ustnatic (Lamiaceae) in lovorovk (Lauraceae) (Papachristos in Stamopoulos, 2003; Rozman *et al.*, 2007) – so se kot najbolj učinkovita pokazala tudi v naši raziskavi. Najvišjo smrtnost odraslih osebkov fižolarja smo namreč ugotovili v obravnavanjih z eteri nimi olji navadnega rožmarina, žajblja in navadnega lovorja.

Glede na podatke naše raziskave lahko sklenemo, da so eteri na olja navadnega rožmarina, žajblja in navadnega lovorja najbolj učinkovita za zatiranje fižolarja v različnih razmerah. V prihodnje bi bilo smotno delovanje eteri nih olj preučiti tudi pri nižjih temperaturah, saj bi s tem pridobili informacije o njihovi širši aplikativni vrednosti. Poudariti pa želimo, da rezultati naše raziskave kažejo na to, da je uporaba pripravkov rastlinskega (naravnega) izvora lahko učinkovita alternativa kemičnim insekticidom pri zatiranju skladiščnih škodljivcev.

5 ZAHVALA

Prispevek je nastal s finančno pomočjo Ministrstva za kmetijstvo in okolje – Uprave RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin v okviru strokovnih nalog s področja zdravstvenega varstva rastlin. Del raziskave je bil opravljen v okviru programa Hortikultura P4-0013, ki ga financira Javna agencija RS za raziskovalno dejavnost. Za tehnično pomoč se zahvaljujemo Jaki Rupniku.

6 LITERATURA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Ahmedani, M.S., Khaliq, A., Aslam, M., Sayyed, A.H. 2007. A new approach of split dosage for application of aluminium phosphide against the ph3 resistant psocids in stored grain. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 29,6: 538-544.
- Cloyd, R.A., Galle, C.L., Keith, S., Kalscheur, N.A., Kemp, K.E. 2009. Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. *Journal of Economic Entomology*, 102, 4: 1567-1579.
- Derbalah, A.S. 2012. Efficacy of some botanical extracts against *Trogoderma granarium* in wheat grains with toxicity evaluation. *Scientific World Journal*, Doi: 10.1100/2012/639854
- Fields, P., Korunic, Z. 2000. The effect of grain moisture content and temperature on the efficacy of diatomaceous earths from different geographical locations against stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 36:1-13.
- Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S., Ahn, Y.J. 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*, 39: 293-303.
- Mediouni Ben Jemâa, J., Tersim, N., Taleb Toudert, K., Larbi Khouja, M. 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48: 97-103.
- Milevoj, L. 1995. Nekateri dejavniki, ki vplivajo na naselitev fižola s fižolarjem (*Acanthoscelides obtectus* Say). V: Maček, J. (ur.). Zbornik predavanj in referatov z 2. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 21.-22. februar, 1995. Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije, 1995: 151-161.

- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. 2002. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchiade). *Journal of Stored Products Research*, 38: 365-373.
- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C. 2003. Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research*, 39: 433-441.
- Pérez, S.G., Ramos-López, M.A., Zavala-Sánchez, M.A., Cárdenas-Ortega, N.C. 2010. Activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 25: 2827-2835.
- Rozman, V., Kalinovic, I., Korunic, Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43,4: 349-355.
- Seznam registriranih fitofarmaceutskih sredstev na dan 17.3.2013. Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin. Ministrstvo za kmetijstvo in okolje.
<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (17.3.2013)
- Statgraphics Centurion XVI. Statpoint Technologies, Inc. – Warrenton, Virginia, 2009
- Trdan, S., Bohinc, T. 2012. Testing the insecticidal activity of five different essential oils against bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* [Say], Coleoptera, Chrysomelidae) adults under laboratory conditions. V: Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Weintraub, P.G. (ur.). IOBC/WPRS Bulletin, Integrated Protection of Stored Products, Volos, 4.-7. Julij 2011, Darmstadt, IOBC-WPRS, 2012: 123-131.
- Yang, F.L., Zhu, F., Lei, C.L. 2010. Garlic essential oil and its major component as fumigants for controlling *Tribolium castaneum* (Herbst) in chambers filled with stored grain. *Journal of Pest Science*, 83: 311-317.