

ANNO MCMLXXI FUNDATA

FRAGMENTA PHYTOMEDICA

Izdaje – Published by:
HRVATSKO DRUŠTVO BILJNE ZAŠTITE
ZAGREB, Svetošimunska cesta 25

FRAGMENTA PHYTOMEDICA, Vol. 32. No 2, 2018, str. 1-64

Zagreb, 2018.

Uređivački odbor – Editorial Bord:

| | |
|------------------------------------|------------------------------|
| Renata Bažok (RH) | Ivan Ostojić (BiH.) |
| Jasminka Igrc Barčić (RH) | Zvonimir Ostojić (RH) |
| Draženka Jurković (RH) | Gabrijel Seljak (Slovenija.) |
| Stanislava Lazarevska (Makedonija) | Klara Barić (RH) |
| Dario Ivić (RH) | |

Glavni urednik – Editor in Chief

Klara Barić

Tehnički urednik – Technical Editor

Ana Pintar

Jezički savjetnik – Language Advisor

Marija Flanjak, prof.

Adresa uredništva – Editor's address

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
10000 Zagreb, Svetošimunska 25
Hrvatska – Croatia
Tel: +385 1 2393-776
kbaric@agr.hr / apintar@agr.hr

Izdavač:

Hrvatsko društvo biljne zaštite (HDBZ)
Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
Zagreb, Svetošimunska cesta 25
Tel./fax: +385 1 2393-804

Časopis izlazi polugodišnje
Journal is issued twice a year.

Naklada: 600

Realizacija i marketing

Infomart Zagreb d.o.o.

Zagreb, 2018.

FRAGM. PHYTOMED., Vol. 32, No 2, 2018.

SADRŽAJ**Izvorni znanstveni članci**

| | | |
|---|---|-----------|
| Maja Šćepanović, Vladimir Rakoš, Klara Barić | NICANJE KOROVNE VRSTE <i>Abutilon theophrasti</i> Med. OVISNO O DUBINI SJETVE | 1 |
| Klara Barić, Maja Šćepanović, Ana Pintar, Valentina Šoštarčić, Josip Lakić, Zvonimir Ostojić | PRIMJENA PELARGONSKE KISELINE U SUZBIJANJU MLADICA NA STABLU VINOVE LOZE..... | 12 |
| Dario Ivić, Adrijana Novak, Petra Pilipović | <i>Diaporthe eres</i> Nitschke JEDINA JE <i>Diaporthe</i> VRSTA NAĐENA NA BOROVNICI U HRVATSKOJ | 24 |

Pregledni rad

| | | |
|--|--|-----------|
| Virna Gres, Ivana Pajač Živković | STRANA VRSTA STJENICE <i>Halyomorpha halys</i> (Stål, 1855) - NOVI ŠTETNIK U PROIZVODNJI BILJA | 33 |
| Maja Čačija, Renata Bažok, Darija Lemić, Martina Mrganić, Helena Virić Gašparić, Zrinka Drmić | SPINOSINI – INSEKTICIDI BIOLOŠKOG PODRIJETLA..... | 45 |

FRAGM. PHYTOMED., Vol. 32, No 2, 2018.

CONTENTS**Original scientific paper**

| | | |
|--|---|-----------|
| Maja Šćepanović, Vladimir Rakoš, Klara Barić | <i>Abutilon theophrasti</i> Med. EMERGENCE FROM BURIED SEED WITH INCREASING SOIL DEPTH | 1 |
| Klara Barić, Maja Šćepanović, Ana Pintar, Valentina Šoštarčić, Josip Lakić, Zvonimir Ostojčić | APPLICATION OF PELARGONIC ACID FOR TRUNK SUCKER GROWTH CONTROL ON GRAPEVINE | 12 |
| Dario Ivić, Adrijana Novak, Petra Pilipović | <i>Diaporthe eres</i> Nitschke IS THE ONLY <i>Diaporthe</i> SPECIES FOUND ON BLUEBERRY IN CROATIA | 24 |
| Review | | |
| Virna Gres, Ivana Pajač Živković | ALIEN TRUE BUG SPECIES <i>Halyomorpha halys</i> (Stål, 1855) – NEW PEST IN PLANT PRODUCTION | 33 |
| Maja Čačija, Renata Bažok, Darija Lemić, Martina Mrganić, Helena Virić Gašparić, Zrinka Drmić | SPINOSYNS - NATURALLY DERIVED INSECTICIDES | 45 |

Izvorni znanstveni rad
Original scientific paper

NICANJE KOROVNE VRSTE *Abutilon theophrasti* Med. OVISNO O DUBINI SJETVE

Maja ŠĆEPANOVIĆ¹, Vladimir RAKOŠ^{*}, Klara BARIĆ¹

¹Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod herbologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

^{*}Izvod iz diplomskog rada "Nicanje korovne vrste *Abutilon theophrasti* Med. pri različitim dubinama sjetve", Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet
mscepanovic@agr.hr

Prihvaćeno: 14-11-2018

SAŽETAK

Nicanje sjemena u poljskim je uvjetima pod utjecajem velikog broja čimbenika među kojima je najvažnija dubina na kojoj se sjeme nalazi u tlu. Europski mračnjak (*Abutilon theophrasti* Med.), za razliku od ostalih sitnosjemenih korovnih vrsta, ima relativno krupno sjeme pa je njegovo nicanje moguće i iz dubljih slojeva tla. Cilj je ovoga rada bio u poljskim uvjetima ustanoviti nicanje tretiranog (skarificiranog) i netretiranog (naturalnog) sjemena mračnjaka na različitim dubinama sjetve (3, 6 i 9 cm) i odrediti sumu toplinskih jedinica potrebnu za nicanje ove korovne vrste. Poljski su pokusi postavljeni 2014. i 2015. na pokušalištu Maksimir Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta po shemi slučajnog blokno rasporeda u četiri ponavljanja. Rezultati istraživanja pokazuju da dubina i način tretiranja sjemena znatno utječu na nicanje sjemena mračnjaka, ali i da se nicanje znatno razlikuje po istraživanim godinama. Nicanje mračnjaka proporcionalno opada s porastom dubine, dok učinak tretiranja sjemena na nicanje ovisi o pedoklimatskim uvjetima tijekom godine. Suma toplinskih jedinica potrebna za nicanje mračnjaka iznosi 198 °C.

Ključne riječi: mračnjak, suma toplinskih jedinica, skarifikacija, dubina sjetve

***Abutilon theophrasti* Med. EMERGENCE FROM BURIED SEED WITH INCREASING SOIL DEPTH**

SUMMARY

Seed germination is influenced by numerous environmental factors in the field conditions among which burial seed depth is the most important.

Velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Med.) contrary to other small seeded weed species has relative large seed weight so the emergence can occur even from deeper soil depth. The aim of this field study was to determine I) quantitative emergence of scarified and non-scarified velvetleaf seeds in field conditions at different soil depths (3, 6 and 9 cm) and II) growing degree days for the emergence of this weed species. Field trials were conducted in vegetation years of 2014 and 2015 at experimental station Maksimir at University of Zagreb Faculty of Agriculture, by randomized block design in four replicates. Results indicate that both, seed depth and seed treatment can significantly influence velvetleaf seed germination. Total seed emergence was decreased proportionally with burial seed depth increase (from 3 to 9 cm) while effect of seed treatment depends on agricultural conditions during the year. Growing degree days for emergence of velvetleaf is 198 °C.

Key words: velvetleaf, growing degree days, scarification, burial seed depth

UVOD

Integrirana zaštita bilja u svojim načelima ističe dobro razumijevanje ekologije štetnih organizama te upotrebu tih spoznaja u prevenciji i njihovom suzbijanju. Kod integriranog suzbijanja korova preporučuje se suzbijanje obaviti tek nakon njegova nicanja (postemergence) s naglaskom primjene herbicida samo ako je opravdan rizik od smanjenja prinosa (Barić i Šćepanović, 2015). Budući da je u stadiju nicanja korov najosjetljiviji na sve mjere suzbijanja, veliki broj znanstvenih istraživanja usmjeren je na proučavanje uvjeta u fazi nicanja korova u usjevima (Masin i sur., 2010). Nicanje korova u poljskim uvjetima kompleksan je proces pod utjecajem različitih biotičkih i abiotičkih čimbenika (Alm i sur., 1993). Definiran je s tri faze koje se odvijaju ispod površine tla: prekidanjem dormantnosti, klijanjem sjemena i razvojem izdanka i korijena klice prije nicanja. Svaka faza razvoja podjednako je važna za uspjeh nicanja. Faze se međusobno razlikuju po fiziologiji i na njih utječu različiti okolišni uvjeti (svojstva tla i vremenske prilike) čiji je učinak na sjeme specifičan (Vleeshouwers, 1997). Tako će na dormantnost sjemena najviše utjecati značajke vrste i pedoklimatski uvjeti u kojima se sjeme nalazi, dok je klijanje sjemena i razvoj klijanaca u tlu više pod utjecajem fizikalnih svojstava tla i banke sjemena ostalih korovnih vrsta.

Za razliku od nicanja sjemena kulturnih biljaka (usjeva), koje je uglavnom u tlu raspoređeno (posijano) jednolično, sjeme je korova i po okomitosti i po vodoravnoj distribuciji raspoređeno neravnomjerno gdje je izloženo promjenjivim pedoklimatskim uvjetima zbog čega i navedeni čimbenici djeluju promjenjivo (Forcella i sur., 2000). Zbog toga se utjecaj čimbenika na nicanje u poljskim istraživanjima treba pratiti u interakciji s dubinom jer je ona glavni uzrok promjenjivim pedoklimatskim uvjetima kojima je sjeme izloženo. Dovoljan je, naime, samo jedan nepovoljan čimbenik tijekom procesa nicanja

pa da se ono zaustavi (Finch-Savage i Leubner-Metzger, 2006). Ako uvjeti za klijanje nisu ispunjeni, sjemenke korova ne kliju, već ostaju u stanju dormantnosti ili propadaju u tlu. Za razliku od dormantnosti sjemena korova koja je reverzibilan proces, klijanje i razvoj klijanaca u tlu ireverzibilni su procesi. Ako uvjeti tijekom klijanja ne zadovoljavaju, mladi će klijanci korova odumrijeti u tlu.

Dubina na kojoj se nalazi sjeme korova u poljskim uvjetima promjenjiva je i ona određuje njegovu dormantnost, odnosno vijabilnost (Hulina, 1998). Većinu korovnih vrsta karakterizira sitno sjeme (masa 1000 sjemenki najčešće je manja od 2 grama), zbog toga niče samo iz plitkog sloja tla (do 5 cm). Predmet je ovoga rada korovna vrsta *Abutilon theophrasti* (europski mračnjak) za koju je, za razliku od većine vrsta, karakteristično relativno krupno sjeme. Iako krupnoća sjemenke neke biljne vrste ovisi o pedoklimatskim uvjetima staništa, broju jedinki po jedinici površine staništa pa i svojstvima pojedine populacije, Kovačević (1974) navodi da se prosječna masa 1000 sjemenki mračnjaka kreće od 8 do 12 g. I Plodinec i sur. (2015) ustanovili su da se masa 1000 sjemenki nalazi u navedenom rasponu (9,1 g). Stoga je nicanje mračnjaka omogućeno iz dubljih slojeva tla, što izravno utječe na suzbijanje ove vrste. Naime, herbicidi koji se primjenjuju poslije sjetve, a prije nicanja (pre-em), najčešće imaju slabiji učinak na klijance koji se razvijaju iz sjemena iz dubljih slojeva tla gdje herbicid ne dopijeva. Osim toga, nicanje ove vrste, upravo zbog različite dubine na kojoj se nalazi sjeme u tlu, može biti prolongirano i više tjedana nakon sjetve kada već slabi rezidualni učinak zemljišnih herbicida (Egley i Williams, 1991). Relativno je velik broj radova u kojima je određivano nicanje ove vrste pri različitim dubinama tla u kontroliranim uvjetima temperature, vlažnosti zraka i osvjetljenja. Većina laboratorijskih istraživanja ukazuje na podjednaku mogućnost nicanja mračnjaka pri dubinama do 10 cm (Rakoš, 2013; Benvenuti i sur., 2001; Buhler i Mester, 1991). Međutim, oskudni su literaturni izvori o nicanju ove korovne vrste pri različitim dubinama u poljskim uvjetima.

Cilj je ovog istraživanja bio u poljskim uvjetima ustanoviti nicanje europskog mračnjaka ovisno o dubini sjetve (3, 6 i 9 cm), načinu prekidanja dormantnosti sjemena te o sumi toplinskih jedinica (STJ) potrebnih za početak nicanja ove korovne vrste.

MATERIJALI I METODE RADA

Istraživanje u poljskim uvjetima provedeno je tijekom dvije vegetacijske sezone (2014. i 2015.). Sjeme mračnjaka prikupljeno je u jesen 2013. na pokušalištu Šašinovec, nakon čega je očišćeno od primjesa i do početka istraživanja skladišteno na tamno i suho mjesto. U pokusu je upotrebljavano netretirano (naturalno) i tretirano (skarificirano) sjeme mračnjaka. Skarificiranom sjemenu mračnjaka proliferirana je sjemena ovojnica kružnim

pokretima daščicom obloženom brusnim papirom granulacije P 40 u trajanju od 5 minuta.

Dvofaktorijalni (dubina sjetve i tretiranje sjemena) poljski pokus postavljen je na pokušalištu Maksimir Agronomskog fakulteta. Analizom tla ustanovljeno je da je pH tla na pokusnoj lokaciji neutralan (pH=7). Sjetva je obavljena ručno u obje godine istraživanja, 16. 04. 2014. i 12. 05. 2015. Sjeme je mračnjaka posijano u 6 redova na tri dubine: 3, 6 i 9 cm po shemi slučajnog bloknoeg rasporeda u četiri ponavljanja. Veličina osnovne parcele iznosila je 1 m², a po svakoj parceli posijano je 50 sjemenki mračnjaka. Razmak između redova iznosio je 10 cm. Nicanje je određivano u fazi potpuno otvorenih kotiledona. Kod svakoga roka određivanja broja poniklih jedinki, nakon određivanja ponikle su jedinke odstranjene s pokusne parcelice. Određivanje nicanja završeno je kad 10 dana zaredom nije nikla ni jedna nova biljka mračnjaka.

Za određivanje sume toplinskih jedinica (STJ) potrebnog za početak nicanja mračnjaka upotrijebljen je suma srednjih dnevnih temperatura tla do dubine 5 cm. STJ potrebna za početak nicanja mračnjaka izračunata je prema formuli:

$STJ = \sum (SDT - T_b)$, gdje je SDT – srednja dnevna temperatura na dubini tla do 5 cm na postaji Maksimir; T_b = biološki minimum za nicanje sjemena mračnjaka. Kao biološki minimum uzeta je vrijednost 4,5 °C koju je Magosso (2013) ustanovio za populaciju mračnjaka s lokaliteta Šašincevec.

Zbrajanje temperatura započeto je datumom sjetve mračnjaka, a završeno datumom prvog ponika.

Podatci o srednjoj dnevnoj temperaturi tla i oborinama za 2014. i 2015. za pokušalište Maksimir (tablica 1) dobiveni su od Državnog hidrometeorološkog zavoda s mjerne postaje Maksimir.

Prikupljeni podatci o ukupnom nicanju statistički su obrađeni analizom varijance i nakon signifikantnog F testa za usporedbu srednjih vrijednosti korišten je LSD test uz 5 % pogreške.

Tablica 1. Temperatura tla i količina oborina tijekom razdoblja istraživanja u 2014. i 2015. za lokaciju Maksimir

Table 1 Soil temperature and precipitation during field experiments in 2014 and 2015 for Maksimir

| Datum | 2014 | | 2015 | |
|-------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | Temperature | Oborine | Temperature | Oborine |
| | travanj | | svibanj | |
| 1 | 14,9 | | 14,7 | |
| 2 | 15,1 | | 18,2 | 6,6 |
| 3 | 14,3 | | 19 | 1 |
| 4 | 16,9 | | 19,4 | |
| 5 | 14 | 0,5 | 21,1 | |
| 6 | 14,9 | 1,3 | 24,3 | |
| 7 | 15,3 | 0,1 | 23,7 | |
| 8 | 17,2 | | 23,6 | |
| 9 | 12,2 | 11,8 | 24,1 | |
| 10 | 10,2 | 0,1 | 24 | 0,5 |
| 11 | 11,5 | 3,6 | 22,7 | |
| 12 | 11,4 | | 23,1* | |
| 13 | 12,7 | | 26,5* | |
| 14 | 13,3 | | 24,6* | 0,1* |
| 15 | 10,3 | 4,9 | 17,4* | 16,6* |
| 16 | 7,8* | 4,9* | 17,5* | 15,5* |
| 17 | 7,6* | | 19,6* | 0,7* |
| 18 | 14,2* | | 21,5* | |
| 19 | 16,4* | | 23,7* | |
| 20 | 13,6* | 5,8 | 24,7* | |
| 21 | 13,5* | 5* | 15,1 | 6,9 |
| 22 | 14,4* | 7,2* | 12,4 | 17 |
| 23 | 14,7* | 0,9* | 14 | 52,2 |
| 24 | 15,6* | 5,9* | 16,8 | 20,1 |
| 25 | 15,7* | 0,7* | 16,9 | |
| 26 | 15,2* | 7,3* | 17,7 | 0,8 |
| 27 | 17,4* | | 15,6 | |
| 28 | 16,5* | 9,5* | 18 | |
| 29 | 15,4* | 0,6* | 22,1 | |
| 30 | 18,2 | 0,3 | 24,5 | |
| 31 | | | 23,9 | |

x °C

Ukupno, mm

REZULTATI I RASPRAVA

Zbroj toplinskih jedinica (STJ) za početak nicanja mračnjaka

U 2014. godini početak nicanja mračnjaka, neovisno o dubini sjetve, uslijedio je trinaest dana nakon sjetve, a u 2015. osam dana nakon sjetve. Međutim, razlog bržem nicanju u drugoj godini istraživanja vezan je uz vrijednosti srednjih dnevnih temperatura nakon sjetve do nicanja (tablica 1). Suma toplinskih jedinica potrebna za nicanje mračnjaka bila je gotovo ista u obje godine i iznosila je oko 198 °C (tablica 2).

Tablica 2. Zbroj toplinskih jedinica za nicanje mračnjaka u 2014. i 2015.

Table 2 Growing degree days for velvetleaf emergence in 2014 and 2015

| Godina | STJ | Datum sjetve | Datum početka nicanja |
|--------|---------|--------------|-----------------------|
| 2014. | 198°C | 16.04.2014. | 29.04.2014. |
| 2015. | 198,6°C | 12.05.2015. | 20.05.2015. |

U razdoblju od 10 dana prije sjetve i za vrijeme trajanja ponika mračnjaka u 2014. prosječna dnevna temperatura iznosila je 13,6 °C, a u 2015. 20,9 °C pa je mračnjaku i trebalo pet dana više u 2014. da akumulira potrebne toplinske jedinice za nicanje. Količina i raspored oborina također je bio različit u odnosu na godinu istraživanja. U razdoblju od sjetve do nicanja u 2014. ukupno je palo 47,8 mm kiše tijekom 10 kišnih dana, a u 2015. 32,9 mm tijekom četiriju kišnih dana. Ipak oborine nisu utjecale na brzinu nicanja mračnjaka jer je u objema godinama bila relativno dostatna količina oborina. K tome, mračnjak vodni stres bolje tolerira od nekih drugih korovnih vrsta poput primjerice ambrozije (Raynal i Bazzaz, 1973).

Prema istraživanju Masin i sur. (2012) suma toplinskih jedinica za 50-postotni ponik populacije mračnjaka iz regije Veneto iznosila je 135 °C. Ova je vrijednost, međutim, peterostruko manja od ustanovljene iste vrijednosti ponika u istraživanju Plodinec i sur. (2015) gdje je bilo potrebno čak 644,5 °C toplinskih jedinica za 50-postotno nicanje mračnjaka na lokaciji Maksimir. Budući da je u ovom istraživanju samo za početak nicanja u obje godine bilo potrebno oko 198 STJ-a, rezultati pokazuju da specifični pedoklimatski uvjeti pojedinog lokaliteta mogu znatno utjecati na razlike u vremenu nicanja mračnjaka ovisno o prilagodbi specifičnim pedoklimatskim uvjetima, što je važna odlika adaptibilnosti divljih vrsta. Upravo se suma toplinskih jedinica upotrebljava za izradu prognoznih modela nicanja kao pomoć proizvođačima u određivanju optimalnog roka primjene herbicida (Šćepanović i sur., 2016). Myers i sur. (2004) služili su se empirijskim modelom prognoze početka nicanja

nekoliko korovnih vrsta na temelju praćenja temperatura tla na dubini od 5 cm. Početak nicanja mračnjaka, odnosno nicanje 10 % jedinki mračnjaka odvija se kad je vrijednost akumuliranih toplinskih jedinica u intervalu između 150 i 300 STJ-a. Za nicanje 50 % jedinki potrebno je do 355 STJ-a, dok bi većina jedinki (95 %) trebala niknuti pri akumuliranih 900 STJ-a. Navedene se vrijednosti STJ-a za početak nicanja poklapaju s dobivenim vrijednostima u ovom istraživanju (198 STJ-a).

Ukupno nicanje mračnjaka

Pri istraživanju nicanja naturalnog sjemena uobičajeno se primjenjuju različite metode prekidanja dormantnosti i poticanja što većeg broja sjemenki na nicanje. U ovom je radu istraživana sjetva naturalnog i skarificiranog sjemena (faktor tretman). Međutim, nije ustanovljena statistički važnija razlika u nicanju mračnjaka ovisno o tretmanu (načinu tretiranja sjemena), ali je ustanovljena statistički važna razlika u nicanju mračnjaka s obzirom na godinu istraživanja, dubinu sjetve i interakciju godina x-tretman (tablica 3).

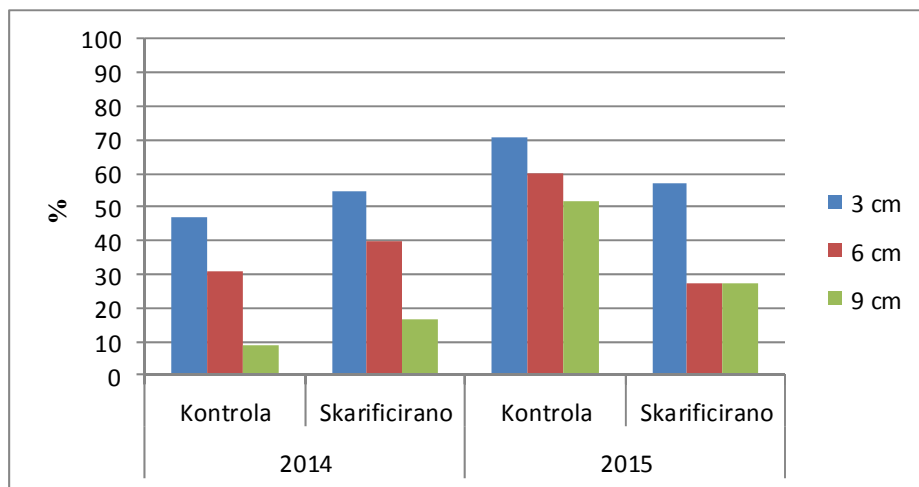
Tablica 3. Rezultati analize varijance nicanja mračnjaka u 2014. i 2015.

Table 3 Analyze of variance for velvetleaf emergence in 2014 and 2015

| Izvor varijabilnosti | n-1 | SS | s ² | F _{exp} |
|---------------------------|-----|--------|----------------|------------------|
| Godina | 1 | 3008,3 | 3008,3 | 0,031* |
| Dubina sjetve | 2 | 7860,7 | 3930,3 | <.001** |
| Tretman | 1 | 736,3 | 736,3 | 0,082 n.s. |
| Godina x tretman | 1 | 3008,3 | 3008,3 | 0,001** |
| Godina x dubina | 2 | 732,7 | 366,3 | 0,217 n.s. |
| Tretman x dubina | 2 | 164,7 | 82,3 | 0,699 n.s. |
| Godina x tretman x dubina | 2 | 220,7 | 110,3 | 0,620 n.s. |

Prosječno ukupno nicanje mračnjaka u 2015. bilo je veće nego u 2014. (grafikon 1) iako je suma toplinskih jedinica potrebna za početak nicanja bila podjednaka u objema godinama (tablica 2). Dobiveni rezultati pokazuju da osim temperature i vlage tla i drugi čimbenici mogu utjecati na nicanje ove vrste. S obzirom na to da je pokus postavljen na istoj lokaciji u obje godine, vjerojatni razlog slabijeg nicanja u prvoj godini istraživanja jest dormantnost sjemena. Treba napomenuti da nisu obavljani dodatni destruktivni testovi ustanovljivanja vijabilnosti neprokljalog sjemena mračnjaka te da je sjeme za ovo istraživanje prikupljeno 2013. pa je u 2014. godini bilo staro godinu dana, a u 2015. dvije godine. Tvrda sjemena ovojnica mračnjaka glavni je razlog dormantnosti koja omekšava tijekom skladištenja što rezultira boljim nicanjem

starijeg sjemena (Obajgor, 2013) i vjerojatno je razlog boljeg nicanja sjemena mračnjaka u drugoj godini istraživanja.



Grafikon 1. Nicanje mračnjaka tijekom dviju vegetacijskih godina (2014. i 2015.) na trima različitim dubinama sjetve (3, 6 i 9 cm) i dva načina tretiranja sjemena (naturalno i skarificirano)

Figure 1 Velvetleaf emergence (for 2014 and 2015) from buried seed with increasing soil depth (3, 6 and 9 cm) and two type of seed (natural and scarified)

U objema godinama istraživanja najveća klijavost mračnjaka ustanovljena je kod najpliće sjetve (3 cm), neovisno o načinu tretiranja sjemena (naturalno i skarificirano). Također je u objema godinama ustanovljen trend opadanja nicanja sjemena s porastom dubine sjetve. Gotovo linearan trend opadanja nicanja s povećanjem dubine sjetve ustanovljen je u 2014. Razlog statistički značajnoj opravdanosti interakcije godina x-tretman jest podjednako nicanje skarificiranog sjemena mračnjaka s dubina 6 i 9 cm u 2015., što nije bio slučaj u 2014. gdje je pri dubljij sjetvi (9 cm) sjeme mračnjaka slabije poniklo nego pri sjetvi na dubini od 6 cm. U oborinama povoljnijoj 2014. nicanje mračnjaka osobito se smanjivalo porastom dubine, neovisno o tretmanu sjemena (naturalno i skarificirano). Herr i Stroube (1970) trogodišnjim su poljskim pokusima također ustanovili da nicanje mračnjaka porastom dubine naglo opada. U njihovom je istraživanju porastom dubine sjetve mračnjaka nicanje znatno opadalo. Više od 50 % jedinki mračnjaka nicalo je s dubine od 2,5 cm, a sa svakim povećanjem dubine za 2,5 cm nicanje je postupno opadalo. Sadeghloo i sur. (2013) osim dubine sjetve pratili su i utjecaj temperature, pH tla i količine soli (NaCl) u tlu na nicanje ove korovne vrste. Na mračnjak, prema ovim autorima, ne utječe intenzitet svjetla jer se s povećanjem dubine nicanje smanjuje. Dubina je nicanja vezana uz veličinu sjemena zbog čega je mračnjak

sposoban nicati i s većih dubina. Autori navode da pH tla u rasponu vrijednosti 4 – 9 ne utječe na nicanje mračnjaka jer je uočeno podjednako dobro nicanje kod različitih pH vrijednosti. Za razliku od svjetlosti i pH vrijednosti, rezultati su istraživanja pokazali da ostali istraživani čimbenici znatno utječu na nicanje mračnjaka. Najpovoljnija je temperatura za nicanje mračnjaka 35 °C kada je ustanovljeno najveće nicanje. Nicanje se znatno smanjuje kada je koncentracija NaCl u tlu iznad 250 mM.

Neovisno o nešto slabijem nicanju u 2014. u odnosu na 2015. i o slabijem nicanju mračnjaka pri većim dubinama sjetve (6 i 9 cm), rezultati istraživanja pokazuju da određeni dio populacije ove vrste može u poljskim uvjetima niknuti iz dubljih slojeva tla. Ustanovljena je mogućost nicanja mračnjaka i s dubine od 10 cm (Benvenuti i sur., 2001.), pa čak dio populacije (2 %) s dubine od 18 cm (Herr i Stroube, 1970). Iako je nicanje mračnjaka općenito slabije iz dubljih slojeva u odnosu na pliće, velika produkcija sjemena ove vrste kao i duga vijabilnost sjemena u tlu ipak može omogućiti određeni postotak nicanja (razvučeno nicanje) ove vrste i nakon primjene rezidualnih herbicida. Ni način obrade tla ne može znatnije pridonijeti reduciranju jednom unesenog sjemena ove vrste u tlo. Npr. kod sitnosjemenih korovnih vrsta (pr. šćir) promjena načina obrade tla s reducirane obrade gdje većina sjemena ostaje na površini ili u plitkom površinskom sloju tla (do 4 cm) na konvencionalnu može uvelike smanjiti pojavu ove vrste (Ghorbani i sur., 1999). To međutim ne vrijedi za sjeme mračnjaka koje relativno uspješno niče iz dubljih slojeva. K tome, dubokom obradom sjeme mračnjaka biva uneseno u tlo, sekundarnom se dormantošću zaštićuje od odumiranja te ponovnim dospijanjem u površinski sloj tla sposobno je nicati.

Tijekom ovog istraživanja na lokaciji Maksimir vrijednosti ukupnog nicanja nisu prelazile 70,5 %. Budući da se pokus odvijao u poljskim uvjetima (gdje se ne mogu kontrolirati uvjeti okoliša), ne može se sa sigurnošću tvrditi zašto nicanje nije bilo veće. Stvaranje pokorice, promjenjive temperature, dormantnost sjemena i kompeticija s bankom sjemena ostalih korovnih vrsta u tlu samo su neki od razloga koji su mogli utjecati na slabiji ponik. Ipak, i ovaj postotak ponika više je nego dostatan da mračnjak, imajući na umu njegove velike kompeticijske sposobnosti, izazove znatne štete u poljoprivrednim usjevima.

ZAKLJUČCI

Suma toplinskih jedinica potrebna za početak nicanje mračnjaka na lokaciji Maksimir iznosi oko 198 °C i ne razlikuje se u odnosu prema godini istraživanja. Ukupno nicanje mračnjaka znatno se razlikovalo ovisno o godini istraživanja i dubini položenog sjemena. U objema godinama istraživanja najveća ukupna klijavost ustanovljena je pri sjetvi na 3 cm dubine, a najmanja pri sjetvi na 9 cm dubine. Nicanje mračnjaka pri većim dubinama (6 i 9 cm) ovisilo je o godini

istraživanja i načinu tretiranja sjemena. U 2014. ustanovljena je statistički opravdana razlika u nicanju mračnjaka na dubini od 6 i 9 cm, dok u 2015. razlika u nicanju između ovih dviju dubina nije bila statistički opravdana.

LITERATURA

ALM, D. M., STOLLER, E. W., WAX, L. M. (1993). An index model for predicting seed germination and emergence rates. *Weed technology* 7: 560-569.

BARIĆ, K., ŠČEPANOVIĆ, M. (2015). Integrirano suzbijanje korova u šećernoj repi. U: Šećerna repa: Zaštita od štetnih organizama u sustavu integrirane biljne proizvodnje (R. Bažok ur.). Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 96-112.

BENVENUTI, S., MACCHIA, M., MIELE, S. (2001). Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49: 528-535.

BUHLER, D. D., MESTER, T. C. (1991). Effects of soil temperature, seed depth and cyanazine on giant foxtail (*Setaria faberi*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) seedling development. *Weed Science*, 39: 204-209.

DHMZ, Državni hidrometeorološki zavod (2016) [online] (http://klima.hr/agro.php?id=agro_temp), pristupljeno: 23. rujna 2016.

EGLYE, G. H., WILLIAMS, R. D. 1991 Emergence periodicity of six summer annual weed species. *Weed Sci.* 4: 595-600.

FINCH - SAVAGE, W. E., LEUBNER – METZGER, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171: 501-523.

FORCELLA, F., BENECH-ARNOLD, R. L., SANCHEZ, R., GHERSA, C. M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67: 123-139.

GHORBANI, R., SEEL, W., LEIFERT, C. (1999.). Effect of environmental factors on germination and emergence of *Amaranthus retroflexus*. *Weed Science*, 47: 505-510.

HERR, D. E., STROUBE, E. W. (1970). Velvetleaf control as influenced by herbicide placement and seed depth. *Weed Science*, 18: 459-461.

HULINA, N. (1998). Korovi, Školska knjiga, Zagreb.

KOVAČEVIĆ, J. (1974). Korovi u poljoprivredi. Nakladni zavod Znanje, Zagreb.

MAGOSSO, D. (2013). Study of germination parameters of summer weeds: transferability of AlertInf model to Croatia. Master thesis. University of Padova, Italy.

MASIN, R., LODDO, D., BENVENUTI, S., OTTO, S. i ZANIN, G. (2012). Modeling Weed Emergence in Italian Maize Fields. *Weed Science*, 60: 254-259.

MASIN, R., LODDO, D., BENVENUTI, S., ZUIN, M.C., MACCHIA, M. i ZANIN, G. (2010). Temperature and water potential as parameters for modeling weed emergence in central-northern Italy. *Weed Science*, 58: 216-222.

MYERS, W.M., CURRAN, W. S., VANGESSEL, M. J., CALVIN, D. D., MORTENSEN, D. A., MAJEK, B. A., KARSTEN, H. D., ROTH, G. W. (2004). Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science*, 52: 913-919.

OBAJGOR, T. (2013). Buđenje sjemena mračnjaka (*Abutilon theophrasti* Med.) iz stanja dormantnosti. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

PLODINEC, M., ŠČEPANOVIĆ, M., BARIĆ, K., JAREŠ, D. (2015). Inter-populacijska varijabilnost u nicanju korovne vrste *Abutilon theophrasti* Med. *Agronomski glasnik*, 1-2:23-40.

RAKOŠ, V. (2013). Nicanje dormantnog sjemena korova – mračnjaka (*Abutilon theophrasti* Med.) pri različitim dubinama u tlu. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

RAYNAL, D, J, BAZZAZ, F, A. (1973). Establishment of early successional plant populations on forest and prairie soil. *Ecol.* 54: 1335 – 1341.

SADEGHLOO, A., ASGHARI, J., GHADERI-FAR, F. (2013). Seed germination and seedling emergence of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and barnyardgrass (*Echinochloa crus galli*). *Planta Daninha*, 31: 259-266.

ŠĆEPANOVIĆ, M., ŠOŠTARČIĆ, V., MASIN, R., BARIĆ, K. (2016). Modeli prognoze dinamike nicanja i bio-ekonomični modeli kao pomoć u integriranom suzbijanju korova. *Glasilo biljne zaštite*, 4: 397-409 .

VLEESHOUWERS, L. M. (1997). Modelling the effect of temperature, soil penetration resistance, burial depth and seed weight on pre-emergence growth of weeds. *Annals of botany*, 79: 553-563.

PRIMJENA PELARGONSKE KISELINE U SUZBIJANJU MLADICA NA STABLU VINOVE LOZE

Klara BARIĆ, Maja ŠĆEPANOVIĆ, Ana PINTAR, Valentina ŠOŠTARČIĆ, Josip LAKIĆ, Zvonimir OSTOJIĆ

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za herbologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

kbaric@agr.hr

Prihvaćeno: 28-11-2018

SAŽETAK

U tehnologiji uzgoja vinove loze plijevljenje mladica na stablu redovita je mjera. Obavlja se ručno, strojno ili primjenom herbicida (desikanata) prije nego što mladice odrvene. Do 2018. odobrenje je za ovu namjenu u Hrvatskoj imao jedino herbicid glufosinat, a odnedavno samo pripravak na osnovi pelargonske kiseline. Istraživanje učinka pelargonske kiseline na mladice na stablu vinove loze obavljeno je u Kutjevu 2016. na sorti graševina pripravkom VVH 86086 koji sadrži 680 g pelargonske kiseline na L pripravka. Primijenjen je u tri koncentracije (4, 6 i 8 %) s utroškom od 25 ml škropiva po stablu. Pri ocjenjivanju učinka mladice su po duljini razvrstane u tri kategorije (< 5 cm, 6 - 15 cm i 16 - 25 cm). Zasebno je ocjenjivan herbicidni učinak na lisnu masu mladice i na stabljiku mladice. Učinak na lisnu masu mladice, neovisno o duljini mladica, bio je odličan (89 - 100 %) već kod prvog ocjenjivanja (2 dana nakon tretiranja). Osam dana nakon tretiranja lisna je masa mladice potpuno propala. Učinak je na stabljiku mladice bio slabiji od učinka na lisnu masu, što se može tumačiti slabijim kontaktom škropiva sa stabljikom jer je prekrivena lisnom masom. Stabljika mladice sušila se znatno sporije od lisne mase. Konačni je učinak 42 dana nakon tretiranja (DNT) ipak bio potpun. Regeneracija mladica ili pojava adventivnih mladica nije zamijećena. Izboj novih mladica iz pupova u neposrednoj blizini tretiranih uočen je 21 DNT. Istraživanjem je ustanovljeno da se pripravci na osnovi pelargonske kiseline mogu koristiti za desikaciju mladica na stablu vinove loze.

Ključne riječi: prirodni herbicidi, pelargonska kiselina, desikacija mladica na stablu, vinova loza

APPLICATION OF PELARGONIC ACID FOR TRUNK SUCKER GROWTH CONTROL ON GRAPEVINE

SUMMARY

The control of the suckers on the grapevine trunk is a regular measure in management practice. It can be performed manually, by machine and by using herbicide with desiccant activity. Approval for this purpose in Croatia has glufosinate, and from recently pelargonic acid. The research was conducted in Kutjevo 2016 on grapevine varieties with VVH 86086 containing 680 g of pelargonic acid per liter of preparation. It was applied in three concentrations (4, 6 and 8 %) with consumption of 25 ml of solution per vine. The efficacy was evaluated according to the three groups of suckers length (< 5 cm, 6-15 cm and 16-25 cm). The herbicidal effect on the leaf mass and on the stem of the suckers was separately evaluated. The effect on the leaf mass of the suckers, regardless of the length of the shoots, for the first evaluation (2 days after treatment) was excellent (90-100%). 8 DAT the leaf mass of the shoots has completely failed. The effect on the stem of the suckers was weaker than the effect on the leaf mass, which is related to the smaller contact of solution with the stem (covered with leaf mass). The steam of the suckers dropped significantly slower than the mass of leaves. The final effect (42 DAT) was nevertheless complete. It is important to point out that there was no regeneration or emergence of new suckers from lateral buds. The emergence of new suckers from buds near the treated buds was observed. The results of this research confirmed that pelargonic acid preparations can be used to control grapevine suckers.

Key words: natural herbicides, pelargonic acid, desiccation suckers, grapevine

UVOD

Mladice se na trsu vinove loze mogu razvijati na više mjesta. Radi uravnoteženog razvoja vegetativnih i generativnih organa u tekućoj i budućim vegetacijama vinove loze te zbog sprječavanja trošenja vode i asimilata nepotrebne se mladice tijekom vegetacije, neovisno o mjestu pojave, zelenim rezom odstranjuju ili prikraćuju (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008). Na stablu vinove loze, ovisno o sorti, mladice se javljaju u velikom broju. Budući da otežavaju razvoj rodni mladica i grozdova te iscrpljuju trsove, u tehnologiji uzgoja grožđa redovito se odstranjuju, uobičajeno dva puta tijekom vegetacije. Prvi put kada mladice u prosjeku dosegnu 15 cm dužine, a drugi put kada prođe opasnost od kasnog proljetnog mraza (Licul i Premužić, 1972). Ovisno o tehničkoj opremljenosti vinogradara, odstranjivanje se obavlja ručno, različitim strojnim izvedbama (četkama) i kemijskim pripravcima, odnosno herbicidima.

Ručno plijevljenje zahtijeva angažiranje radne snage, ali zbog ostalih poslova u vinogradu u isto vrijeme često rezultira kašnjenjem ili čak izostavljanjem njihova odstranjivanja, osobito u drugom navratu. Osim navedenih razloga, odstranjivanje je mladica na stablu važno i zbog pripreme za primjenu herbicida, osobito totalnih (neselektivnih) sistemskih herbicida (glifosat, flazasulfuron) kojima suzbijamo korove u vinogradu. Naime, neodstranjene mladice mogu zelenom masom apsorbirati herbicid i tako izazvati znatne i dugotrajne štete na vinovoj lozi.

Radi bržeg suzbijanja mladica na stablu pribjegava se lokalnoj aplikaciji herbicida kontaktnog načina djelovanja. Do 2018. odobrenje je za ovu namjenu u Hrvatskoj imao jedino herbicid glufosinat, a odnedavno samo pripravak na osnovi pelargonske kiseline. (FIS, 2018). S gledišta načina djelovanja, herbicidi za ovu namjenu trebaju imati desikantan učinak, odnosno kontaktni način djelovanja koji ubrzo nakon primjene sprži/spali tretiranu zelenu masu i neodrvnjenu stabljiku mladice. Zbog povoljnih ekotoksikoloških i toksikoloških svojstava pelargonska kiselina ima sve veću važnost.

Iako je pelargonska kiselina kao potencijalni herbicid otkrivena i prvi put registrirana u SAD-u davno (1992.), donedavno nije imala veće komercijalno značenje, čemu mogu biti razlog oskudna znanstvena istraživanja na tom području. Međutim, zbog mogućeg negativnog utjecaja sintetičkih pesticida na ljudsko zdravlje, okoliš i bioraznolikost i zbog sve strožih kriterija u postupku registracije istih, sve više se daje važnost „prirodnim“ pripravcima, odnosno pripravcima na osnovi kemijskih supstanci koje se uobičajeno nalaze u prirodi (Dayan i sur., 2009). Jedna od takvih tvari jest pelargonska kiselina koja se na listi odobrenih aktivnih tvari u EU-u nalazi od 2009. Zbog širokog područja mogućih namjena nalazi se i na listi biocidnih proizvoda (protiv mahovine, algi i lišajeva u drvnoj industriji). U Hrvatskoj su odnedavno registrirana tri pripravka za suzbijanje korova u vinogradu, suzbijanje mladica na stablu vinove loze, desikaciju krumpira i suzbijanje mahovine na putovima i površinama s ukrasnim grmljem i drvećem (FIS, 2018).

Prirodni herbicidi s jedne strane smanjuju negativni utjecaj sintetičkih herbicida na zdravlje ljudi i okoliš, a s druge strane nadomještaju povučene aktivne tvari (od 2008. do 2018. povučeno 37 herbicida) s tržišta EU-a. Dayan i sur. (2009) među brojnim prirodnim supstancama koje imaju potencijal primjene u poljoprivrednoj praksi navode masne kiseline u koje spada i pelargonska kiselina. Pelargonska je kiselina prirodno prisutna u brojnim proizvodima biljnoga i životinjskog podrijetla (Webber i Shrefler, 2007).

S gledišta toksikoloških svojstava, može se zaključiti da je vrlo prihvatljiva. Prema Savageu i Zorneru (2016) ima vrlo nisku oralnu i inhalacijsku toksičnost za sisavce, nije mutagena ni teratogena. U pojedinim slučajevima može izazvati iritaciju očiju i kože. Prema podacima Anon. (2007), LD50 za oralnu toksičnost iznosi > 5000 mg/kg, a za dermalnu > 2000 mg/kg tjelesne mase. Vrijednost

NOEL (no observed effect level), odnosno količina koja ne izaziva štetni učinak iznosi > 1834 mg/kg tjelesne mase/dnevno.

Kada se radi o ekotoksikološkim svojstvima, važno je navesti da je pelargonska kiselina neperzistentna (DT50 u laboratorijskim uvjetima iznosi tri dana). Prema istom izvoru (PPDB, 2018), zbog prirodne prisutnosti u okolišu DT50 u poljskim se uvjetima ne ustanovljuje jer je teško razdvojiti apliciranu količinu od prirodno prisutne.

Što se tiče mehanizma djelovanja, Savage i Zorner (2016) navode da se mehanizam pelargonske kiseline, suprotno općem navođenju, primarno ne zasniva na neposrednom oštećenju staničnih stijenki. Autori navode da pelargonska kiselina nakon penetriranja kroz kutikulu i stanične stijenke izaziva znatno smanjenje pH-vrijednosti sadržaja stanice. Vrlo brzo (nakon nekoliko minuta) dolazi do opadanja količine ATP i glukoza-6- fosfata. Destrukcija stanične stijenke i izlivanje staničnog sadržaja slijedi nakon prethodno navedenog, što rezultira desikacijom tkiva zbog sekundarnog učinka mehanizma djelovanja. Navedeni se procesi odvijaju samo u stanicama s kojima je pelargonska kiselina došla u dodir. Ne širi se dalje kroz biljno tkivo, odnosno nema sistemični učinak. Upravo se zbog tih svojstava koristi za desikaciju nepoželjnih vegetativnih tkiva bez štetnog učinka na matičnu biljku ili je štetni (fitotoksični) učinak prolazan. Kod vrsta gdje je meristemsko tkivo ili su reproduktivni vegetativni organi zaštićeni (višegodišnje korovne vrste) nakon primjene pelargonske kiseline dolazi do razvoja novih mladica pa tretiranje treba ponoviti.

Zbog načina djelovanja područje je primjene pelargonske kiseline vrlo široko. Zanimljiv, odnosno aplikativan je zaključak Colemana i Pennera (2006) da pelargonska kiselina (i druge masne kiseline kratkih lanaca) zbog brzog prodora u tkivo korovne biljke u niskim koncentracijama može služiti kao adjuvant (pomoćno sredstvo) sistemičnim herbicidima za bolji učinak (lakšu penetraciju).

Cilj je istraživanja ovoga rada ustanoviti mogućnost primjene pelargonske kiseline za suzbijanje mladica na stablu vinove loze.

MATERIJALI I METODE RADA

Za suzbijanje mladica na stablu vinove loze istraživani su pripravci VVH 86086 koji sadrži 680 g pelargonske kiseline na litru pripravka. Istraživanje je provedeno 2016. na lokaciji Kutjevo (45° 25' 34" N, 17° 52' 57" E) na sorti graševina. Međuredni je razmak iznosio 230 cm, a u redu 80 cm, što iznosi 5 400 biljaka po ha.

Istraživanje je obavljeno prema EPPO standardima PP1/181 (*Conduct and reporting of efficacy evaluation trials including good experimental practice*), PP 1/152 (*Design and analysis of efficacy evaluation trials*) i PP 1/161 (*Control of suckers in grapevine*).

Dizajn pokusa bio je po slučajnom bloknom rasporedu u četiri repeticije. Istraživane su tri koncentracije (4, 6 i 8 %) pripravka VVH 86086 u škropivu. Svaka je istraživana koncentracija pripravka primijenjena lokalno na mladice na 20 trsova po repeticiji (ukupno 80 biljaka po tretmanu). Prosječno je po stablu utrošeno 25 ml škropiva.

Lokalna je aplikacija mladica obavljena 6. svibnja 2016. u jutarnjim satima SOLO prskalicom sa sapnicom punog konusnog mlaza. Aplikacija je obavljena prije odrvenjavanja stabljike mladica (slika 1.).



Slika 1. Mladice na dan aplikacije tretmana (foto: Barić, K.)
Figure 1 Suckers on the date of application (photo: Barić, K.)

Na dan aplikacije mjerenjem na 10 stabala po repeticiji ustanovljen je prosječan broj (10,4) mladica, duljina najkraćih (2,6 cm) i duljina najdužih mladica (15,1 cm).

Vizualna ocjena učinka tretmana obavljena je dva (8. 5. 2016.), osam (14. 5. 2016.), 21 (27. 5. 2016.) i 42 (17. 6. 2016.) dana nakon tretiranja (DNT). Prema navedenim EPPO standardima vizualna je ocjena subjektivna ocjena, odnosno procjenjuje se prosječni učinak na svim tretiranim stablima vinove loze. Budući da starost tkiva ima važan utjecaj na desikantni učinak pelargonske kiseline, ocjena učinka razdvojena je na ocjenu učinka na lisnu masu i učinka na stabljiku mladice gdje su, s gledišta duljine, mladice razvrstane u tri kategorije (< 5 cm; 6 - 15 cm i 16 - 25 cm).

Dobiveni su podatci obrađeni dvosmjernom analizom varijance za shemu pokusa slučajni blokni raspored u SAS® statističkom programu. Nakon

signifikantnog F testa za usporedbu srednjih vrijednosti koristio se Fisherov LSD test za $P < 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati su rada prikazani tablično i grafički. U tablici 1. prikazan je učinak na desikaciju lisne mase mladice ovisno o duljini, istraživanoj koncentraciji i broju dana nakon tretiranja (DNT).

Tablica 1. Analiza varijance za redukciju lisne mase mladica ovisno o duljini mladica i koncentraciji VVH 86086 2, 8 i 21 dan nakon tretiranja (DNT)

Table 1 Analysis of variance for reduction of leaf mass depending on the length of suckers and different concentrations of VVH 86086 2, 8 and 21 days after treatment (DAT)

| Izvor varijabilnosti | n-1 | 2 DNT | 8 DNT | 21 DNT |
|--------------------------------------|-----|-------|-------|--------|
| Duljina mladica | 2 | NS | NS | NS |
| Konc. VVH 86086 | 2 | * | NS | NS |
| Duljina mladica X Konc. VVH 86086 | 4 | NS | NS | NS |

n.s – nesignifikantno

*F test signifikantan uz $P < 0,05$

Prema rezultatima prikazanim u tablici 1. ni kod jednog ocjenjivanja nije utvrđena statistički značajna razlika u redukciji lisne mase mladica ovisno o duljini mladica, kao ni interakcija između duljine mladica i istraživane koncentracije pripravka. Ovisno o duljini mladica utvrđena je međusobno slična redukcija lisne mase a kretala se od 94 % kod srednje dugih (6 – 15 cm) i najduljih (16 – 25 cm) mladica do 95 % kod najkraćih (< 5 cm) mladica. Statistički značajna razlika u redukciji lisne mase mladica ovisno o istraživanoj koncentraciji utvrđena je samo kod ocjenjivanja 2 dana nakon tretiranja (tablica 1.).

Tablica 2. Učinak različitih koncentracija VVH 86086 na redukciju lisne mase mladica 2 dana nakon tretiranja (DNT)

Table 2 The effect of different concentrations of VVH 86086 on the reduction of leaf mass 2 days after treatment (DAT)

| Konc. VVH 86086 (%) | Redukcija lisne mase (%) |
|-----------------------|--------------------------|
| 4 | 90,83 a |
| 6 | 93,33 ab |
| 8 | 97,72 b |
| LSD _(0,05) | 4,91 |

^{a-b} Vrijednosti redukcije lisne mase mladica označene istim slovima međusobno se statistički značajno ne razlikuju

Kod najduljih mladica (16 - 25 cm) najviša koncentracija (8 %) postigla je statistički opravdano veći učinak od najniže koncentracije (4 %), dok između koncentracija 4 i 6 % i između 6 i 8 % nisu utvrđene statistički značajne razlike u učinku (tablica 2.). Budući da je već kod trećeg ocjenjivanja (21 DNT) utvrđeno potpuno propadanje lisne mase mladica (slika 2.), ocjena 42 DNT nije ni obavljena. Međutim, 21 DNT utvrđena je pojava novih mladica iz pupova u blizini tretiranih mladica. Prema tome, iako je učinak bio vrlo brz i odličan, zbog kontaktnog načina djelovanja potrebno je, ovisno o broju, vremenu pojave i duljini novih mladica ponoviti tretman.



Slika 2. Učinak 8 %-tne koncentracije VVH 86086 21 DNT (foto: Barić, K.)

Figure 2 The effect of 8 % concentration of VVH 86086 21 DAT (photo: Barić, K.)

Upravo zbog brzog djelovanja (brze apsorpcije u stanice) brojna su istraživanja mogućih namjena pelargonske kiseline. Brojna su istraživanja pelargonske kiseline kao pomoćnog sredstva herbicidu u cilju postizanja bržeg i boljeg učinka. Wehtje i sur. (2009) su analizom sličnih istraživanja ustanovili da su rezultati istraživanja, ovisno o autoru, oprečni, odnosno utvrđeni su i antagonizmi i sinergizmi u kombinaciji pelargonske kiseline i herbicida. Navedeni autori su utvrdili da povećanje herbicidnog učinka ovisi o vrsti korova i količini pelargonske kiseline u kombinaciji.

Kad je riječ o brzini djelovanja pelargonske kiseline, mogu se pronaći radovi koji ova svojstva pelargonske kiseline nastoje iskoristiti i za druge namjene. Tako su Weber i sur. (2014) istraživali mogućnost suzbijanja vodene leće (*Lemna minor*) pelargonskom kiselinom koja je vrlo napastan korov akvatičnih sustava. Ustanovili su da 8 %-tna koncentracija pripravka koji sadrži 65 % pelargonske kiseline odlično (97 % i više) suzbija vodenu leću.

Barić i Vujević (2018) istraživanjem učinka pelargonske kiseline za desikaciju izdanaka na višnji, lijesci i jabuci također su postigli zadovoljavajuće učinke, osobito na lijesci.

Važnost koncentracije pripravka u škropivu na učinak ističu i proizvođači pripravaka na osnovi pelargonske kiseline. U službenom odobrenju za primjenu u Hrvatskoj navodi se doza pripravka od 16 l/ha u 200 l vode po ha (FIS, 2018).

U tablici 3. prikazan je učinak pelargonske kiseline na desikaciju stabljika mladica s gledišta duljine mladica, istraživane koncentracije i s gledišta roka ocjene učinka.

Tablica 3. Analiza varijance za destrukciju stabljike mladica ovisno o duljini mladica i koncentraciji VVH 86086 2, 8 i 21 dan nakon tretiranja (DNT)

Table 3 Analysis of variance for destruction of the steam of suckers depending on the the length of suckers and different concentrations of VVH 86086 2, 8 and 21 days after treatment (DAT)

| Izvor varijabilnosti | n-1 | 2 DNT | 8 DNT | 21 DNT |
|--------------------------------------|-----|-------|-------|--------|
| Duljina mladica | 2 | *** | *** | * |
| Konc. VVH 86086 | 2 | ** | *** | *** |
| Duljina mladica X Konc. VVH 86086 | 4 | NS | *** | NS |

n.s – nesignifikantno

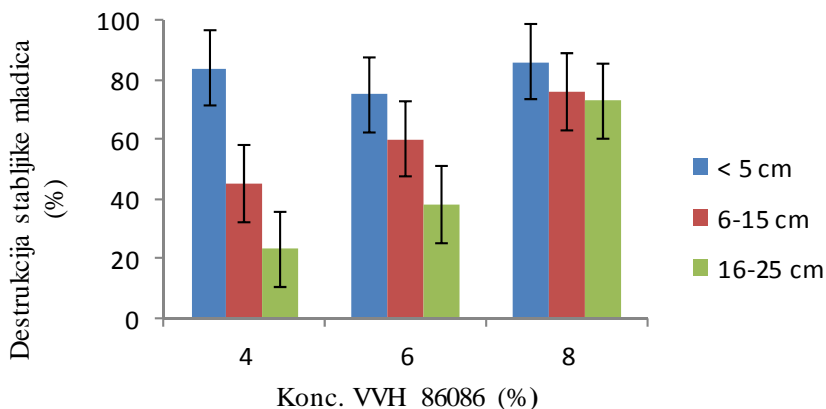
*F test signifikantan uz $P < 0,05$

**F test signifikantan uz $P < 0,01$

***F test signifikantan uz $P < 0,001$

Kod sva tri ocjenjivanja utvrđena je statistički značajna razlika u destrukciji stabljike mladica ovisno o duljini mladica (tablica 3.). Kod prvog ocjenjivanja (2 DNT) destrukcija stabljike mladica kretala se od 41 % kod najduljih (16 – 25 cm) do 55 % kod najkraćih (< 5 cm) mladica. Kod sljedeća dva ocjenjivanja utvrđen je porast postotka destrukcije stabljike mladica. Kod posljednjeg ocjenjivanja (21 DNT) iznosio je 100 % kod najkraćih, odnosno 63 % kod najduljih mladica. Statistički značajna razlika u destrukciji stabljike mladica ovisno o istraživanim koncentracijama pripravka utvrđena je kod sva tri ocjenjivanja. Kod prvog ocjenjivanja najmanja (28 %) destrukcija utvrđena je kod primjene najniže (4 %) koncentracije, dok je kod koncentracije 6 % i 8 % utvrđena destrukcija stabljike mladica od 47 %, odnosno 70 %. Tijekom vremena, ovisno o istraživanoj koncentraciji, postotak destrukcije stabljike mladica se povećavao, pa je kod posljednjeg ocjenjivanja (21 DNT) iznosio 73 % kod najniže koncentracije, te 84 % kod od 6 % i 8 %. Statistički značajna interakcija između duljine mladica i koncentracije pelargonske kiseline utvrđena je samo kod ocjenjivanja 8 dana nakon tretiranja (grafikon 1.).

Pri ocjenjivanju učinka na stabljiku mladica 8 DNT, za razliku od učinka na lisnu masu mladica gdje je učinak bio gotovo izjednačen, u ovom roku ocjene duljina mladica značajno je utjecala na učinak.



Grafikon 1. Učinak različitih koncentracija VVH 86086 na destrukciju stabljikemladica ovisno o duljini mladica 8 dana nakon tretiranja (DNT)

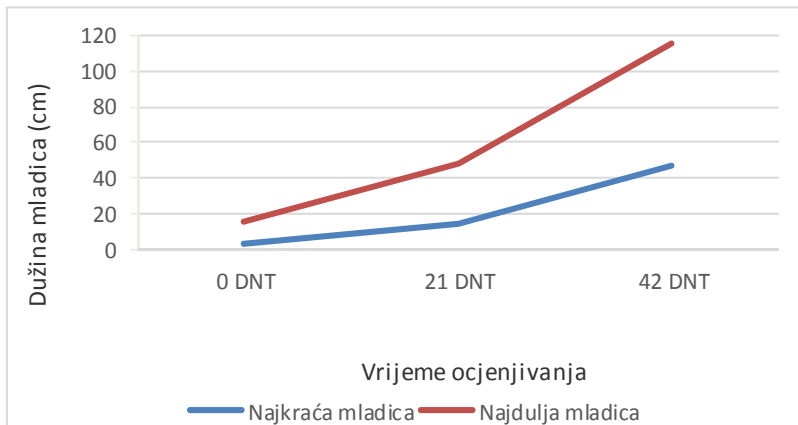
Figure 1. The effect of different concentrations of VVH 86086 on destruction of the steam of suckers depending on the length of suckers 8 days after treatment (DAT)

Najbolji učinak (83 %) na destrukciju stabljike mladica kod primjene najniže koncentracije (4 %) pripravka postignut je kod najkraćih mladica (< 5 cm). Učinak 4 %-tne koncentracije na destrukciju stabljike mladica kod srednje dugih (6 – 15 cm) i najduljih (16 – 25 cm) mladica iznosio je 45 %, odnosno 22,5

%. Povećanjem koncentracije (6 %) učinak na destrukciju stabljike mladica povećao se kod srednje dugih (60 %) i najduljih (38, 7 %) mladica, dok se kod najkraćih mladica, u odnosu na prethodno ocjenjivanje, učinak smanjio (70 %). Primjena najviše istraživane koncentracije (8 %) postigla je najbolji učinak na destrukciju stabljike mladica a kretao se od 72,5 % kod najduljih (16 – 25 cm) do 86,2 % kod najkraćih mladica (< 5 cm). Nije ustanovljena znatna razlika između učinaka istraživanih koncentracija na najkraćim mladicama, dok je kod srednje dugih (6 - 15 cm) i najduljih (16 - 25 cm) mladica koncentracija imala statistički opravdan utjecaj na destrukciju stabljike mladica.

Kao i kod lisne mase, pri zadnjoj ocjeni učinka (42 DNT) svi su tretirani dijelovi mladice potpuno propali. Treba naglasiti da kod ovog roka ocjene nije ustanovljena pojava adventivnih mladica.

Podatci o porastu netretiranih mladica tijekom istraživanja nisu statistički obrađivani. U grafikonu 2. prikazan je porast najkraćih i najduljih mladica na dan tretiranja, 21 i 42 dana nakon tretiranja.



Grafikon 2. Porast najkraćih i najduljih mladica na kontroli 0, 21 i 42 dana nakon tretiranja (DNT)

Figure 2 The growth of the shortest and longest suckers on control (untreated) 0, 21 and 42 days after treatment (DAT)

Iz prikazanih vrijednosti duljine mladica može se potvrditi već navedeno da je nerodne mladice na stablu vinove loze, zbog sprječavanja trošenja asimilata, potrebno na vrijeme odstraniti. Tijekom istraživanja (42 dana) mladice su višestruko povećale duljinu.

ZAKLJUČCI

Na osnovi provedenog istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- desikantni učinak pelargonske kiseline na lisnu masu bio je znatno brži od učinka na stabljiku mladice (već dva dana nakon tretiranja desikacija je bila gotovo potpuna)

- 21 dan nakon tretiranja ustanovljena je pojava novih mladica na stablu vinove loze
- nije ustanovljena regeneracija tretiranih mladica
- 42 dana nakon tretiranja pelargonska je kiselina kod svih istraživanih koncentracija izazvala potpuno propadanje mladica na stablu vinove loze
- pripravci na osnovi pelargonske kiseline mogu se koristiti za desikaciju mladica na stablu vinove loze.

LITERATURA

ANONYMOUS (2007). Pelargonic acid. In: Herbicide Handbook (ed. Senseman S. A.) Weed Science of America. pp 379-381.

COLEMAN, R., PENNER, D. (2006). Organic Acid Enhancement of Pelargonic Acid. Weed Technology. Vol. 20: 410-415.

BARIĆ, K., VUJEVIĆ, P. (2018). Primjena pelargonske kiseline u voćarstvu. Zbornik sažetaka - Lupinasto voće 13. Znanstveno-stručno savjetovanje s međunarodnim sudjelovanjem. Darugar, 1. - 3. 03. 2018.

DAYAN, F. E., CANTRELL, C. L., DUKE, S. O. (2009). Natural products in crop protection. Bioorganic and Medicinal Chemistry. Vol. 17, 12: 4022-4034.

EPPO PP 1/161 (n.d.). Control of suckers in grapevine. EPPO standards PP 1/161 (3). European and Mediterranean Plant Protection Organization.

EPPO PP1/181 (n.d.) Conduct and reporting of efficacy evaluation trials including good experimental practice. European and Mediterranean Plant Protection Organization.

EPPO PP 1/152 (n.d.) Design and analysis off efficacy evaluation trials. European and Mediterranean Plant Protection Organization.

FIS (2018). Fitosanitarni informacijski sustav, [online] (<https://fis.mps.hr/trazilicaszb/Default.aspx?sid=%201171%20&lan>), pristupljeno 17. studenog 2018.

LICUL, R., PREMUŽIĆ, D. (1972). Rezidba vinove loze. U: Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo. Nakladni zavod Znanje, Zagreb. str. 174 - 189.

MIROŠEVIĆ, N., KAROGLAN KONTIĆ, J. (2008). Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb

PPDB (2018). Pesticide Properties DataBase, [online] (<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/288.htm>), pristupljeno 15. prosinca 2018.

SAVAGE, S., ZORNER, P. (2016). The use of pelargonic acid as a weed management tool. University of California, ANR Repository, [online]

(<https://ucanr.edu/repository/fileaccess.cfm?article=162076&p=HXCWOI>), pristupljeno 8. prosinca 2018.

WEBBER, C., SHREFLER, J. (2007). Pelargonic acid weed control: Concentracion, adjuvants and application timing, [online] (<http://hortsci.ashspublications.org/content/41/4/1034.4.short>), pristupljeno 19. prosinca 2018.

WEBER, C. L., SHREFLER, J. W., TAYLOR, M. J. (2014). Adjuvants Affect Duckweed (*Lemna minor*) Control with Pelargonic Acid. Journal of Agricultural Science. Vol. 6, No. 12. Published by Canadian Center of Science and Education.

WEHTJE, G., ALTLAND, J. E., GILLIAM, C. H. (2009). Interaction of Glyphosate and Pelargonic Acid in Ready-to-Use Weed Control Products. Weed Technology. 23: 544 - 549

Izvorni znanstveni rad
Original scientific paper

***Diaporthe eres* Nitschke IS THE ONLY *Diaporthe* SPECIES FOUND ON BLUEBERRY IN CROATIA**

Dario IVIĆ, Adrijana NOVAK, Petra PILIPOVIĆ

Zavod za zaštitu bilja, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Gorice 68b,
10000 Zagreb
dario.ivic@hcphs.hr
Prihvaćeno: 26-11-2018

SUMMARY

Increase in blueberry (*Vaccinium corymbosum*) cultivation in Croatia during the last several years raised an interest in pests and pathogens occurring on this fruit crop. Among them, fungus *Diaporthe vaccinii* (*Phomopsis vaccinii*) is currently regulated as a quarantine harmful organism. *Diaporthe vaccinii* is the causal agent of Phomopsis shoot blight and canker on blueberry, and the status of this regulated pathogen in Croatia has been unknown. From 2016 to 2018, an official survey was carried out in Croatian blueberry orchards to determine the eventual presence of *D. vaccinii*. Thirty-three visual inspections were performed in 24 blueberry orchards in 11 counties and the City of Zagreb, and 66 samples of twigs showing symptoms resembling Phomopsis twig blight and canker were collected. *Diaporthe* spp. were detected in 20 samples, and 20 isolates were collected. In the majority of samples (49) fungi from Botryosphaeriaceae family were found, alone or co-occurring with *Diaporthe*. Phylogenetic analysis of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA sequences showed that all *Diaporthe* isolates collected can be identified as *Diaporthe eres*. The survey confirmed the status of *D. vaccinii* as the pathogen not known to occur in Croatia.

Key words: *Vaccinium corymbosum*, *Diaporthe* (*Phomopsis*), survey, *Diaporthe eres*, *Diaporthe vaccinii*

***Diaporthe eres* Nitschke JEDINA JE *Diaporthe* VRSTA NAĐENA NA BOROVNICI U HRVATSKOJ**

SAŽETAK

Povećanje površina pod američkom borovnicom (*Vaccinium corymbosum*) u Hrvatskoj tijekom posljednjih nekoliko godina dovelo je do zanimanja za štetnike i uzročnike bolesti na toj voćarskoj kulturi. Među njima, gljiva *Diaporthe vaccinii* (*Phomopsis vaccinii*) trenutno je regulirana kao karantenski

štetni organizam. *D. vaccinii* je uzročnik sušenja izdanaka i raka borovnice, a status tog reguliranog patogena u Hrvatskoj bio je nepoznat. Od 2016. do 2018., u domaćim nasadima borovnice proveden je program posebnog nadzora s ciljem utvrđivanja moguće prisutnosti gljive *D. vaccinii*. U 24 nasada američke borovnice u 11 županija i u Gradu Zagrebu provedena su trideset i tri vizualna pregleda te je sakupljeno 66 uzoraka biljaka sa simptomima sušenja izdanaka. *Diaporthe* spp. je utvrđen u 20 uzoraka, iz kojih je sakupljeno 20 izolata. U većini uzoraka (49) utvrđene su gljive iz porodice Botryosphaeriaceae, same ili zajedno s gljivama iz roda *Diaporthe*. Filogenetske analize sekvenci ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA pokazale su da se svi sakupljeni *Diaporthe* izolati mogu identificirati kao *Diaporthe eres*. Poseban nadzor potvrdio je status *D. vaccinii* kao štetnog organizma čija prisutnost u Hrvatskoj nije poznata.

Ključne riječi: *Vaccinium corymbosum*, *Diaporthe* (*Phomopsis*), poseban nadzor, *Diaporthe eres*, *Diaporthe vaccinii*

INTRODUCTION

Fungi from the genus *Diaporthe* are widespread saprophytes, endophytes and pathogens associated with numerous plant hosts (Gomes et al., 2013; Udayanga et al., 2011). Taxonomy of the genus and species description have undergone major changes during the last decade, mostly as a result of applying molecular phylogeny tools like multilocus sequence analysis (Udayanga et al., 2014; Gomes et al., 2013; Udayanga et al., 2011). Many new species and new species-host associations are constantly being described and reported, with multiple species increasingly reported on the same host (Lombard et al., 2014; Elfar et al., 2013; Gomes et al., 2013).

Despite the growing number of species described, still only a limited number of *Diaporthe* spp. are considered to be plant pathogens of economic importance on cultivated woody hosts. Among them, *Diaporthe vaccinii* Shear (anamorph *Phomopsis vaccinii* Shear) is currently the pathogen regulated as a quarantine harmful organism in the European Union (EU, 2000). *Diaporthe vaccinii* is the causal agent of twig blight, canker and fruit rot of blueberry and cranberry (*Vaccinium* spp.), and it is listed in the Annex IIAI of Directive 2000729/EC (EU, 2000). Up to about two decades ago, *D. vaccinii* was considered to be the species of restricted worldwide distribution. It was regarded to be widespread only in North America, where it has been reported as a severe pathogen of blueberry crops (EFSA PLH Panel, 2014; Farr et al., 2002). However, during the last several years, studies have shown that *D. vaccinii* is present also in Europe (Cardinaals et al., 2018; Michalecka et al., 2017; Lombard et al., 2014). Beside *D. vaccinii*, other species of *Diaporthe* (*Phomopsis*) have been recently reported on blueberry, and some were shown to be pathogenic (Lombard et al., 2014; Elfar et al., 2013).

The eventual presence of quarantine harmful organism *D. vaccinii* in Croatia was unknown. Šubić (2011) is referring to *D. vaccinii* as the causal agent of blueberry shoot dieback in Međimurje, but without laboratory identification of the fungus. To confirm its presence or absence, phytosanitary survey was carried out in Croatian blueberry orchards. The main objective was to determine the status of *D. vaccinii* in Croatia, but also to get an insight into fungal species potentially associated with twig dieback and canker of this increasingly popular berry fruit crop.

MATERIALS AND METHODS

Multi-annual survey on *Diaporthe vaccinii* presence in Croatia was carried out from 2016 to 2018. In a three-year period, visual inspections and sampling were performed in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) orchards in Croatia. Number of orchards inspected in different counties and the number of samples collected is presented in Table 1. Visual inspections were focused on detecting symptoms resembling those described for *Phomopsis* shoot dieback and canker. If symptoms were observed, symptomatic shoots were collected and analysed in the laboratory.

Totally 66 samples were collected. Shoots were examined under the stereomicroscope for the eventual presence of fungal fruiting bodies (pycnidia). After the examination, shoots were washed in tap water and cut in chips 5-10 mm in diameter. Remaining parts of the shoots were incubated in moisture chamber at room temperature to induce the eventual formation of pycnidia. Woody chips were surface-sterilised in 1 % NaOCl, rinsed, dried, and inoculated on potato-dextrose agar (PDA). PDA plates were incubated at 21 °C for 7-10 days in darkness. After incubation, plates were checked for *Phomopsis*-like colonies (Gomes et al., 2013; Farr et al., 2002). Each *Phomopsis*-like colony was transferred to pure half-strength PDA culture by hyphal tip isolation from the colony edge and was considered an isolate. Twenty potentially *Diaporthe* (*Phomopsis*) sp. isolates were collected.

Isolates were examined for their morphology in PDA culture (growth, appearance, colour and sporulation). All 20 isolates were identified as *Phomopsis* (*Diaporthe*) sp. according to the morphology. As morphological features of many *Diaporthe* species are overlapping (Udayanga et al., 2014; Udayanga et al., 2011; EPPO, 2009), morphological analysis of pycnidia and conidia was not performed and PCR-sequencing of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA region was used for species identification. Fungal DNA from pure cultures was extracted using DNeasy® Plant Mini Kit (Quiagen Inc., USA) according to manufacturer's instructions. PCR amplification was performed as described by EPPO (2009) using primer pair ITS1 and ITS4 (White et al., 1990). PCR products were purified and sent for sequencing to Macrogen Europe (Amsterdam, Netherlands). Sequences were checked and corrected in Sequencher®

software (Gene Codes Corporation, USA), and were subjected for phylogenetic analysis using MEGA 5.05 software (Tamura et al., 2011). Sequences of reference *D. vaccinii* isolates CBS 118571 (Acc. No. KC343223) and CPC 23812 (Acc. No. KJ160587), *D. eres* isolate CBS 524.82 (Acc. No. JQ807448.1) and *D. baccae* CBS 136972 (Acc. No. KJ160565) retrieved from GenBank® were used for comparison. *Godronia cassandrae* strain OVB 13-001 (Acc. No. KC595271) was used as an outgroup in construction of UPGMA phylogenetic tree. Grouping of isolates and sequence similarities were used for identification of isolates.

RESULTS AND DISCUSSION

From 2016 to 2018, 24 blueberry orchards in 11 counties and the City of Zagreb were visually inspected. Some orchards were inspected several times in three years, while other were inspected only once. Symptoms resembling Phomopsis shoot blight and canker were observed in 17 orchards and totally 66 samples of dried twigs were collected (Table 1.).

Table 1 Counties, locations, number of visual inspections and number of samples collected in *Diaporthe vaccinii* surveys in blueberry orchards in Croatia from 2016 to 2018.

Tablica 1. Županije, lokacije, broj vizualnih pregleda i broj uzoraka sakupljenih u okviru posebnog nadzora *Diaporthe vaccinii* u nasadima borovnice u Hrvatskoj od 2016. do 2018.

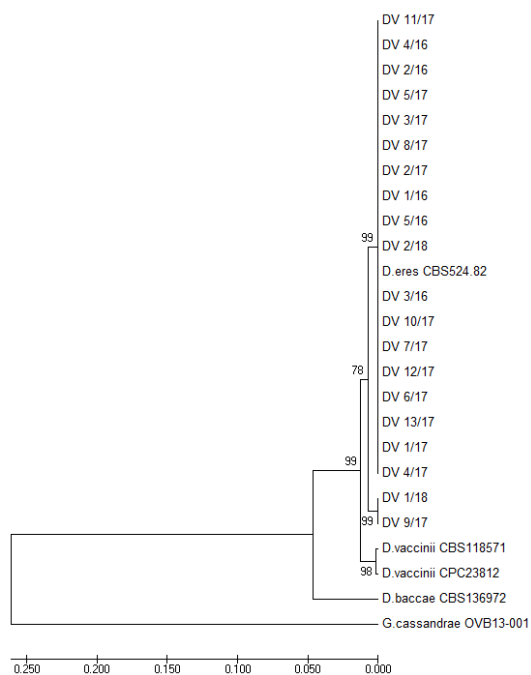
| County <i>Županija</i> | Locations <i>Lokacije</i> | No. of visual inspections <i>Broj vizualnih pregleda</i> | No. of samples <i>Broj uzetih uzoraka</i> |
|---------------------------|---|---|--|
| Bjelovar bilogora | Čazma | 3 | 7 |
| Sisak Moslavina | Topusko, Kutina, Veliki Gradac | 7 | 18 |
| Zagreb | Donja Bistra, Križ, Donja Zelina, Ivanić Grad | 1 | 17 |
| Zadar | Gračac | 1 | - |
| Virovitica Podravina | Pitomača | 2 | 3 |

| | | | |
|---|--|----------------------------------|-------------------|
| Međimurje | Mursko Središće, Štrigova | 3 | 1 |
| Varaždin | Petrijanec, Šijanec, Domitrovec, Sigetec Ludbreški | 4 | 7 |
| City of Zagreb | Botinec, Kupinečki Kraljevec | 3 | 9 |
| Koprivnica Križevci | Đurđevac, Glogovec | 2 | - |
| Karlovac | Krnjak, Jaškovo | 2 | 2 |
| Istria | Vrvari | 1 | 2 |
| Požega Slavonia | Dereza | 1 | - |
| 11 counties + City of Zagreb | 24 locations | 30 visual inspections | 66 samples |

Diaporthe sp. was isolated from 20 out of 66 samples (30 %) and 20 isolates were collected (five in 2016, 13 in 2017 and two isolates in 2018). In eight samples, *Diaporthe* sp. and fungi from the Botryosphaeriaceae family were found to co-occur. Only Botryosphaeriaceae were found in 41 samples, while in five samples other unidentified fungi were recorded, not belonging to *Diaporthe* or Botryosphaeriaceae.

Isolates of *Diaporthe* sp. grown on half-strength PDA were typical of *Diaporthe* (*Phomopsis*) according to the descriptions (Udayanga et al., 2014; Udayanga et al., 2011; EPP0, 2009; Farr et al., 2002), but some variability in culture appearance was noted. The majority of isolated were fast growing, developed white fluffy aerial mycelium and abundant conidiomata containing both α - and β -conidia, and were whitish to brown or whitish with brown zones in reverse. Several isolates were sterile and developed brownish aerial mycelium.

Phylogenetic analysis of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA sequences showed grouping of all 20 *Diaporthe* isolates collected into the clade distinct from two *D. vaccinii* reference isolates (Picture 1). The majority of isolates grouped together with the reference *D. eres* isolate CBS 524.82. The results of phylogenetic analysis confirmed that all *Diaporthe* isolates collected from blueberry in Croatia can be identified as *D. eres*. Closely related, but regulated *D. vaccinii* was not found.



Picture 1 UPGMA phylogenetic tree derived from sequences of ITS1-5.8S-ITS2 ribosomal DNA of reference *Diaporthe* isolates deposited in GenBank® and isolates from blueberry analysed in the study. Bootstrap interior-branch values are based on 500 replicates.

Slika 1. UPGMA filogenetsko stablo na temelju sekvenci ITS1-5.8S-ITS2 ribosomske DNA referentnih *Diaporthe* izolata iz GenBank® baze podataka i izolata s borovnice iz istraživanja. Vrijednosti na ograncima temelje se na 500 ponavljanja.

D. eres is cosmopolitan *Diaporthe* species which has often been regarded as a species complex rather than a single, well-defined species (Udayanga et al., 2014; Gomes et al., 2013). Udayanga et al. (2014) divided *D. eres* complex into nine different phylogenetic species, including both *D. eres* and *D. vaccinii*. Besides demonstrating close relationship between *D. eres* and *D. vaccinii*, the mentioned study showed that phylogenetic analysis of several different genes might be needed to resolve *D. eres* complex and to identify the species *sensu stricto*. In study on *Diaporthe* species occurring on blueberry in Europe, Lombard et al. (2014) also used sequences of several different genomic regions to identify the species. These studies have shown the complexity of precise identification of *Diaporthe* spp. on different hosts, which are aggravating circumstances in any kind of phytosanitary activity related to plant quarantine.

D. eres is reported to be relatively frequently found on *Vaccinium* plant hosts in Europe (Lombard et al., 2014; Cardinaals et al., 2018; Michalecka et al., 2017), and these results are in line with the present study. Pathogenicity of *D. eres* on blueberry was shown to be very weak (Cardinaals et al., 2018), and it is doubtful

whether this species can be regarded as a blueberry pathogen. Isolation of *D. eres* from dried twigs and shoots during the survey in Croatia might be a consequence of endophytic nature of the fungus, or *D. eres* may be secondary, opportunistic invader of weakened or stressed plant tissue. On the other side, some studies are indicating that *D. eres* may be pathogenic, at least as a part of fungal complex involved in blueberry canker. In Croatia, *D. eres* was reported as a pathogen of blackberry (Vrandečić et al., 2011), while Kaliterna et al. (2012) reported *D. eres* as a moderate pathogen of grapevine

Quarantine status of *D. vaccinii* is implying phytosanitary control on import, movement and production of *Vaccinium* host plants in the European Union. Beside this, the status of *D. vaccinii* is implying phytosanitary measures of eradication or containment in case of finding. Surveys and control measures are usually expensive and demanding for national plant health system. Recent studies on *Diaporthe* species on blueberry and some expert opinions are addressing the need for a re-assessment of quarantine status of *D. vaccinii* in Europe (Cardinaals et al., 2018; EFSA PLH Panel, 2014; Lombard et al., 2014). Lombard et al. (2014) showed that the complex of *Diaporthe* species is occurring on blueberry in Europe, and that several different species might be involved in development of twig dieback and canker. Similarly, several *Diaporthe* species were reported as blueberry pathogens in Chile (Elfar et al., 2013). These studies showed that *D. vaccinii* is not the only *Diaporthe* species causing twig blight and canker on blueberry. In pathogenicity tests, Cardinaals et al. (2018) showed that *D. vaccinii* is causing relatively mild symptoms when inoculated on shoots of blueberry cultivars Duke and Liberty. The authors are stating that “*D. vaccinii* may not be a major threat to blueberry production in Europe”, and that the quarantine status of the fungus might be revised (Cardinaals et al., 2018). Finally, EFSA PLH Panel (2014) concluded that “*D. vaccinii* does not have the potential to be a quarantine pest as it does not fulfil one of the pest categorisation criteria defined in International Standard for Phytosanitary Measures No 11, that of having a severe impact”.

In survey carried out in Croatia, twig blight and canker symptoms were shown to be only sporadically present in Croatian blueberry plantations, and this obviously does not represent a serious problem. Moreover, it was shown that fungi from Botryosphaeriaceae family are more frequently isolated from dried twigs than *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. It can be argued whether the eventual presence of *D. vaccinii* in Croatia should have a severe impact and whether any eventual phytosanitary measures should be justified in such case.

REFERENCES

- CARDINAALS, J., WENNEKER, M., VOOGD, J.G.B., VAN LEEUWEN, G.C.M. (2018). Pathogenicity of *Diaporthe* spp. on two blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum*). OEPP EPPH Bull., Vol. 48: 128-134.

EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health) (2014). Scientific Opinion on the pest categorisation of *Diaporthe vaccinii* Shear. EFSA J., Vol. 12(7): 3774, 28 pp.

ELFAR, K., TORRES, R., DÍAZ, G.A., LATORRE, B.A. (2013). Characterization of *Diaporthe australafricana* and *Diaporthe* spp. associated with stem canker of blueberry in Chile. Plant Dis., Vol. 97: 1042-1050.

EPPO/OEPP (2009). *Diaporthe vaccinii*, Diagnostics Standard PM 7/86 (1). OEPP EPPO Bull., Vol. 48: 128-134.

EU (2000). Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. Off. J. Eur. Union L 169, 10.7.2000.

FARR, D.F., CASTLEBURY, L.A., ROSSMAN, A.Y. (2002). Morphological and molecular characterization of *Phomopsis vaccinii* and additional isolates of *Phomopsis* from blueberry and cranberry in the Eastern United States. Mycologia, Vol. 94: 494-504.

GOMES, R.R., GLIENKE, C., VIDEIRA, S.I., LOMBARD, L., GROENEWALD, J.Z., CROUS, P.W. (2013). *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. Persoonia, Vol. 31: 1-41.

KALITERNA, J., MILIČEVIĆ, T., CVJETKOVIĆ, B. (2011). Grapevine trunk diseases associated with fungi from the Diaporthaceae family in Croatian vineyards. Arh. Hig. Rada Toksikol., Vol. 63: 471-478.

LOMBARD, L., VAN LEEUWEN, G.C.M., GUARNACCIA, V., POLIZZI, G., VAN RIJSWICK, P.C.J., ROSENDAHL, K.C.H.M., GABLER, J., CROUS, P.W. (2014). *Diaporthe* species associated with *Vaccinium*, with specific reference to Europe. Phytopathol. Mediterr., Vol. 53: 287-299.

MICHALECKA, M., BRYK, H., SELIGA, P. (2017). Identification and characterization of *Diaporthe vaccinii* Shear causing upright dieback and viscid rot of cranberry in Poland. Eur. J. Plant Pathol., Vol. 148: 595-605.

ŠUBIĆ, M. (2011). Uročnici bolesti kao ograničavajući čimbenik uzgoja američkih borovnica (*Vaccinium corymbosum* L.) u Međimurju. Glas. Bilj. Zaš., No. 5: 357-369.

TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., KUMAR, S. (2011.). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol., Vol 28: 2731-2739.

UDAYANGA, D., LIU, X., MCKENZIE, E.H.C., CHUKEATIROTE, E., BAHKALI, A.H.A., HYDE, K.D. (2011). The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. Fungal Divers., Vol. 50: 189-225.

UDAYANGA, D., CASTLEBURY, L.A., ROSSMAN, A.Y., CHUKEATIROTE, E., HYDE, K.D. (2014). Insights into the genus *Diaporthe*: phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. Fungal Divers., Vol. 67: 203-229.

VRANDEČIĆ, K., JURKOVIĆ, D., ČOSIĆ, D., POSTIĆ, J., RICCIONI, L. (2011). First report of cane blight on blackberry caused by *Diaporthe eres* in Croatia. Plant Dis., Vol. 95: 612.

WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. U: PCR protocols: A guide to methods and applications (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White, ur.). New York, Academic Press Inc., pp. 315-322.

**STRANA VRSTA STJENICE *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) - NOVI
ŠTETNIK U PROIZVODNJI BILJA**

Virna GRES*, Ivana PAJAC ŽIVKOVIĆ

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb* Izvod iz završnog rada *Halyomorpha halys* Stål, 1855 (Heteroptera:
Pentatomidae) – novi potencijalni štetnik u poljoprivredi, Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet
ipajac@agr.hr
Prihvaćeno: 12-11-2018**SAŽETAK**

Vrsta *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) strana je stjenica iz porodice Pentatomidae podrijetlom iz istočne Azije. U Sjevernoj je Americi ustanovljena sredinom 1990-ih, a 2010. godine zabilježene su višemilijunske štete u poljoprivrednoj proizvodnji. U Europi je prvi put zabilježena 2004. godine na području Švicarske, a povoljni klimatski uvjeti pogodovali su vrlo brzom udomaćenju i proširenju vrste na desetak europskih zemalja uključujući i Hrvatsku 2017. godine. Vrsta je polifagni štetnik koji se hrani voćnim, povrtnim i okopavinskim kulturama te ukrasnim biljem, stoga bi njegovo proširenje na području naše zemlje predstavljalo potencijanu opasnost za poljoprivrednu proizvodnju. U radu se pregledno obrađuju podatci o morfologiji, biologiji i ekologiji, biljkama domaćinima, štetama, metodama praćenja te mogućnostima suzbijanja štetnika.

Ključne riječi: Heteroptera, invazivna vrsta, polifagni štetnik

**ALIEN TRUE BUG SPECIES *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) – NEW PEST IN
PLANT PRODUCTION****SUMMARY**

The species *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) is an alien true bug of a Pentatomidae family originating from Eastern Asia. It was observed in North America in the mid-1990s and in 2010, multi-million-dollar damage was recorded in agricultural production. In Europe, it was recorded for the first time in Switzerland in 2004. Favourable climatic conditions enabled the rapid expansion of the species to a dozen of European countries including Croatia in

2017. The species is a polyphagous pest that feeds on fruit, vegetable and row crop cultures and ornamental plants, so its expansion in our country would represent a potential danger to agricultural production. The paper deals with morphology, biology and ecology, host plants, damages, monitoring and pest control methods of this pest.

Key words: Heteroptera, invasive species, polyphagous pest

UVOD

Stjenica *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) strana je invazivna vrsta podrijetlom iz Kine, Japana, Koreje i Tajvana (Zhu i sur., 2012). Sredinom 1990-ih ustanovljena je na području Sjedinjenih Američkih Država, a 2010. godine zabilježene su ekonomske štete u proizvodnji jabuke, breskve, paprike, rajčice, kukuruza i soje (Leskey i sur., 2012). U Europi je prisutna više od desetak godina, a prvi put je pronađena 2004. godine na području Švicarske (Wermelinger i sur., 2008, Hays i sur., 2014). Od tada se proširila na više europskih država: Lihtenštajn (Arnold, 2009), Njemačku (Heckman, 2012), Francusku (Callot i Brua, 2013), Italiju (Maistrello i sur., 2014), Mađarsku (Vétek i sur., 2014), Grčku (Milonas i Partsinevelos, 2014), Austriju (Rabitsch i Friebe, 2015), Rumunjsku (Macavei i sur., 2015). Nedavno je otkrivena u Srbiji (Šeat, 2015), Bugarskoj (Simov, 2016) te 2017. godine u Hrvatskoj (Šapina i Šerić Jelaska, 2018). Prve jedinice vrste, ženka i mužjak, prvi put su pronađeni u stambenoj zgradi u Rijeci tijekom siječnja i veljače 2017. godine. Kasnije tijekom godine, u svibnju, pronađene su još četiri jedinice (jedna ženka i tri mužjaka) na stablima žljzdastog pajasena (*Ailanthus altissima*) koji okružuje zgrade (Šapina i Šerić Jelaska, 2018).

Stjenica pripada porodici Pentatomidae, štitastih ili smrdljivih stjenica. To su relativno velike stjenice širokog tijela u obliku štita koje luče neugodne mirise iz žlijezda smještenih na trbušnoj strani prsa. Glava im je relativno mala i često je podvučena pod prednji rub pronotuma. Ticala su im građena od pet članaka. Imaju velik, trouglast i širok scutellum, a clavus prednjih krila jače je strukture nego membrana (Gotlin Čuljak i Juran, 2016). Vrsta *H. halys* vrlo je slična drugim poznatim europskim vrstama iz ove porodice npr. smrdljivoj greti (*Dollicoris baccarum* L.), smrdljivom martinu (*Raphigaster nebulosa* Poda) ili vrstama *Holcostethus* sp. Fieber pa se često može zamijeniti njima (Wermelinger i sur., 2008). Ipak, postoje specifična morfološka obilježja po kojima se od njih razlikuje. Vrste *Holcostethus* sp. manje su od vrste *H. halys*, a prednji rubovi pronotuma i vrh skutelluma blijedi su. Glava kod vrste *R. nebulosa* konusnog je oblika, dok je kod vrste *H. halys* vidljiv kut sa široko zaobljenim prednjim dijelom (Wermelinger i sur., 2008).

Stjenica razvija 1 - 2 generacije godišnje (Leskey i sur., 2012; Macavei i sur., 2015). Tijekom razvoja prolazi kroz nepotpunu preobrazbu, a razlike između ličinka i odraslih vrlo su male. Ličinke prolaze kroz pet razvojnih stadija, a sa

svakim presvlačenjem sve više nalikuju potpuno razvijenim kukcima (Oštrec i Gotlin-Čuljak, 2005).

Vrsta *H. halys* polifagni je štetnik koji napada više od 170 biljaka domaćina uključujući veliki broj vrsta voća i povrća, okopavine te ukrasno bilje (Leskey i Nielsen, 2018). U poljoprivrednoj proizvodnji uzrokuje izravne i neizravne štete. Izravne štete uzrokuju odrasli i ličinke sisanjem na pupoljcima, plodovima ili stabljikama te ubrizgavanjem probavnih enzima u biljno tkivo tijekom hranjenja što dovodi do različitih deformacija biljnoga tkiva (Haye i sur., 2014). Neizravne štete uzrokuje tako što tijekom ishrane ubadanjem rila u biljno tkivo može prenijeti biljne patogene, npr. bakterije ili kvasce, koji mogu uzrokovati trulež plodova (Rice i sur., 2014).

Stjenica *H. halys* ne napada ljude i životinje, no ljudi mogu doći u doticaj s njom tijekom jesenskih i zimskih mjeseci kada stjenice u potrazi za pogodnim mjestom za prezimljavanje ulaze u naseljene objekte te ometaju ljude u njihovim aktivnostima (Haye i sur., 2015). Stjenice radi obrane luče neugodne mirise. Kliničkim testiranjima u Sjedinjenim Američkim Državama dokazano je da su te komponente snažni alergeni koji bi u budućnosti mogli izazivati alergijske bolesti kod ljudi (Haye i sur., 2015).

S obzirom na invazivno obilježje vrste, može se pretpostaviti da će se štetnik u kratkom razdoblju proširiti na područja koja mu odgovaraju klimatski, a to su mediteranske zemlje Europe, Bliski istok, zapadna Afrika, Južna Amerika i ostale zemlje sličnih klimatskih uvjeta (Haye i sur., 2015). Ekonomske štete u poljoprivrednoj proizvodnji nedavno su zabilježene u Europi na području Italije u uzgoju voća (Bariselli i sur., 2016) te u uzgoju povrća na području Mađarske (Vétek i Korányi, 2017) što predstavlja i potencijalnu opasnost za poljoprivrednu proizvodnju na području Hrvatske ako se štetnik udomaći na prostoru naše države. Cilj je rada temeljem relevantnih literaturnih navoda pregledno prikazati podatke o morfoloiji, biologiji i ekologiji, biljkama domaćinima, štetama te mogućnostima praćenja i suzbijanja štetnika.

SISTEMATSKA PRIPADNOST VRSTE

(ITIS, 2018)

CARSTVO: Animalia – životinje

KOLJENO: Arthropoda – člankonošci

RAZRED: Insecta – kukci

PODRAZRED: Pterygota – krilaši

RED: Hemiptera Linnaeus, 1758 – rilčari

PODRED: Heteroptera Latreille, 1810 – stjenice ili raznokrilci

PORODICA: Pentatomidae Leach, 1815 – ploštice

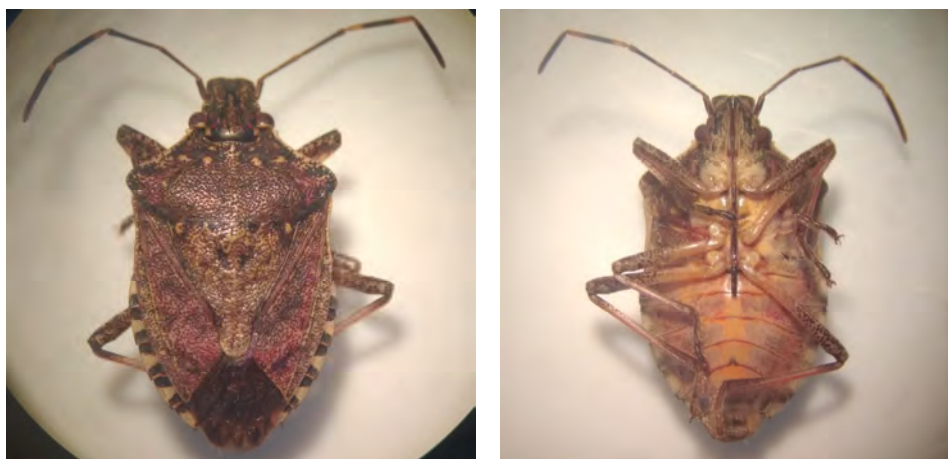
POTPORODICA: Pentatominae Leach, 1815

ROD: Halyomorpha Mayr, 1864

IME VRSTE: *Halyomorpha halys* (Stål, 1855)

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE VRSTE

Odrasli oblici vrste *H. halys* promjenjivih su boja i veličine, a duljina tijela odraslih oblika iznosi od 12 do 17 mm. Zbog gustih, zbijenih i tamnih interpunkcija dorzalni je dio tijela smeđ, pepeljastosmeđ ili oker, s mjestimično crvenkastim vršnim dijelovima na coriumu (kožasti dio krila, polupokrilja) (Hoebeke i Carter, 2003). Glava je potpuno zaobljena na početku te je jednako duga kao i široka, a rubovi glave, ispred očiju, lagano su konkavni. Na glavi se nalaze guste crne točkice. Tylus i juga podjednake su dužine (tylus je malo duži), rostrum (rilo) doseže do sekundarnog abdominalnog kolutića. Glava, prednji i zadnji dio pronotuma gusto su prekriveni crnim točkicama. Bazalni kutovi scutelluma blijedozeleni su ili žućkasti bez točkica (Hoebeke i Carter, 2003). Semielytrae su smeđe, išarane, s gustim interpunkcijama, a vršna je membrana žućkasta s tamnosmeđim žilama. Trbušni dio i noge su smečkastozelene. Na ticalima je unutrašnji rub na prvom članku smeđ, baza i vrh 4. i baza 5. članka žućkasti su i s malim tamnim pjegama (Hoebeke i Carter, 2003). Pronotumu je širina 2,5 puta veća od dužine, s malom izbočinom boje bjelokosti na prednjem rubu, blizu očiju. Rub pronotuma zaobljen je (nikada šiljast), svijetao na prednjem dijelu, a tamniji na bočnom. Na hitiniziranom dijelu pronotuma najčešće se nalazi pet bjelkastih kvržica. Scutellum je malo duži nego širi te ima rjeđe točkice na vrhu nego na središnjem dijelu. Na scutellumu se uočava glatko bezbojno zadebljanje popraćeno s još tri dodatna zadebljanja duž prednjeg kraja scutelluma (Hoebeke i Carter, 2003). Ventralni je dio kod ženki boje bjelokosti, a kod mužjaka ima tamne pjege na središnjem dijelu. Noge su najčešće sive, jedino su goljenica i dio stopala bezbojni (Hoebeke i Carter, 2003) (slika 1.).



Slika 1. Odrasli oblik vrste *H. halys*: a) dorzalno i b) ventralno (foto: Pajač Živković, I.)
Figure 1 Adult form of species *H. halys*: a) dorsally and b) ventrally (photo: Pajač Živković, I.)

Jaja su eliptičnog oblika, veličine oko 1,6 mm i promjera 1,3 mm. Jajna lupina (chorion) bjelkasta je s tankom opnom (mrežom) koja sadrži sitne bodlje. Jajna se skupina najčešće sastoji od 20 do 30 jaja. Na jajima se uočavaju tamnija hitinizirana mjesta u obliku slova „T“ koja pucaju u trenutku izlaženja ličinka iz jaja (Hoebeke i Carter, 2003).

Ličinke vrste *H. halys* prolaze kroz pet razvojnih stadija. Ličinke prvog stadija približno su velike 2,4 mm. Tijelo im je eliptično i nije spljošteno. Glava je zaobljena i trouglasta. Glava, prsa i leđni dijelovi sastavljeni su i crni kao i noge, osim bočnih dijelova svakog prsnog kolutića koji su blijedi. Zadak je uglavnom žućkastocrven. Oči su tamnocrvene, a ticala crvenkastocrna (Hoebeke i Carter, 2003). Veličina tijela ličinka drugog stadija ličinke približno iznosi 3,7 mm. Tijelo im je jajolikog oblika, više ili manje spljošteno. Glava je pravokutnog oblika s parom izraslina u obliku roga ispred očiju. Glava, prsa i leđne plohe većinom su crne, osim bočnih dijelova svakog prsnog kolutića i svakog ruba (granice) abdominalnog kolutića, connexivuma (Hoebeke i Carter, 2003). Zadak je bjelkast s crvenkastim pjegama i crvenkastim čvorićima (kvržicama). Oči su crvenkastocrne. Ticala su crvenkastocrna, osim vršnog dijela trećeg članka koji je bijel. Noge su crnosmeđe. Tijelo im je s leđne strane prekriveno interpunkcijskim točkicama (Hoebeke i Carter, 2003). Ličinke trećeg stadija približno su velike 5,5 mm. Tijelo im je kruškolikog oblika i više spljošteno nego kod prethodnog stadija. Glava je pravokutnog oblika i ispred očiju se nalazi par izraslina u obliku roga. Glava, prsa, dorzalne ploče i connexivum većinom su smeđocrne boje, osim pojedinačnih dijelova koji su žućkastosmeđi. Zadak je bjelkast s crvenkastim točkama i kvržicama. Noge su crnosmeđe, osim baze bedara i sredine goljenica koje su bijele (Hoebeke i Carter, 2003). Veličina tijela ličinka četvrtog stadija iznosi približno 8,5 mm. Tijelo im je kao i u prethodnom stadiju kruškolikog oblika, a obojenost tijela približno je ista kao u prethodnom stadiju. Ticala su crvenkastocrna, osim vrha 3. članka i baze 4. članka koji su žućkastobijeli. Goljenica i stopalo smeđocrni su, osim srednjeg dijela goljenice koji je žućkastobijeli (Hoebeke i Carter, 2003). Ličinke posljednjeg, 5. stadija veličine su tijela oko 12 mm. Tijelo im je kao i u prethodna dva stadija kruškolikog oblika. Glava, prsa, dorzalne ploče i connexivum uglavnom su smečkastocrni s metalnim sjajem, osim nekih točaka na glavi i prsima koje su žućkaste (Hoebeke i Carter, 2003).

BIOLOŠKE I EKOLOŠKE KARAKTERISTIKE VRSTE

U području prirodne rasprostranjenosti vrsta *H. halys* razvija jednu generaciju godišnje (Hoebeke i Carter, 2003), ali prema literaturnim podatcima iz Kine (Zhang i sur., 1993 cit. Hoebeke i Carter, 2003) štetnik razvija 1 - 2 generacije godišnje. Stjenica prezimljuje kao odrasli spolno nezreli oblik u zatvorenim prostorima, odnosno naseljenim objektima (Lee i sur., 2013). U proljeće, kada nastupe povoljni vremenski uvjeti (najčešće pred kraj travnja),

odrasli oblici izlaze van te se počinju hraniti, a nakon toga i razmnožavati na prijelazu svibnja u lipanj (Hoebeke i Carter, 2003; Wermelinger i sur., 2008). Parenje i odlaganje jaja traje od svibnja do kolovoza, a biološka nula za razvoj jaja iznosi 16,3 °C (Funayama, 2002 cit. Wermelinger i sur., 2008). Ženke odlažu jaja na naličju lišća biljaka domaćina u skupinama od 20 do 30 jaja (Hoebeke i Carter, 2003). Pošto ličinke izađu iz jaja, ostaju grupirane kod jajnog legla nekoliko dana prije nego što se razidu (Wermelinger i sur., 2008). Ličinke tijekom razvoja prolaze kroz pet stadija, a za ukupni razvoj potrebna im je suma efektivnih temperatura od 467,8 °C, a biološka nula vrste iznosi 13,8 °C (Kiritani, 2007 cit. Wermelinger i sur., 2008). Ličinke se hrane na licu lišća, a odrasli se često mogu uočiti u kolovozu pri hranjenju na plodovima (Funayama, 2004 cit. Wermelinger i sur., 2008). Fotoperiodizam je važan ekološki čimbenik koji utječe na brzinu razvoja vrste, reproduktivno dozrijevanje i na morfološke karakteristike ličinka i odraslih oblika (Niva i Takeda, 2003. cit. Wermelinger i sur., 2008). Ujesen se zadnji ličinački stadiji i odrasli oblici sele s jezgričavog i koštuničavog voća na drvenasto ukrasno bilje te se hrane na bobičastim plodovima. Prije prezimljenja odrasli se oblici ne pare (Wermelinger i sur., 2008). U rujnu se odrasli masovno okupljaju te traže mjesta za prezimljenje u kućama, stanovima, potkrovljima, šupama, nadstrešnicama ili pukotinama stambenih objekata. Ondje ostaju tijekom zime u dijapauzi. Vrsta dobro podnosi zimske uvjete, ali stopa preživljavanja ovisi o temperaturnim prilikama (Kiritani, 2006 i Toyama i sur., 2006 cit. Wermelinger i sur., 2008).

BILJKE DOMAĆINI I ŠTETE

Stjenica *H. halys* polifagni je štetnik koji napada drvenaste vrste, uključujući razne voćne i ukrasne biljke, povrtne vrste te okopavine (Leskey i Nielsen, 2018). Prema literaturnim podacima poznato je više od 170 biljaka domaćina koje stjenica napada, a mnoge od njih pripadaju ekonomski važnim poljoprivrednim kulturama iz porodica Fabaceae i Rosaceae (Lee i sur., 2013; Hays i sur., 2014; Leskey i Nielsen, 2018). Najznačajnije poljoprivredne vrste koje stjenica napada jesu citrusi, smokva, marelica, trešnja, breskva, šljiva, jabuka, kruška, dud, kaki, kupina i vinova loza. Također stjenica pričinjava štete na leguminozama kao što su soja, grah i grašak (Hoebeke i Carter, 2003). Od šumskih vrsta napada javor i vrbu, a od ukrasnog bilja ljetni jorgovan, paulovnjiju, vatreni trn, kozokrvinu, hibiskus, japanski cedar i čempres (Bernon, 2004 cit. Wermelinger i sur., 2008; Hoebeke i Carter, 2003; Funayama, 2004 cit. Wermelinger i sur. 2008; Kiritani 2007 cit. Wermelinger i sur., 2008). Štete u uzgoju povrtnih i ratarskih kultura zabilježene su na rajčici, paprici, patlidžanu, kukuruzu, suncokretu, stočnom sirku, pšenici, pamuku i hmelju (Rice i sur., 2014).

Vrsta *H. halys* uzrokuje izravne štete hranjenjem na biljkama. Odrasli se oblici većinom hrane na plodovima, a ličinke na listovima, stabljikama i

plodovima (Hoebeke i Carter, 2003). Početne štete koje uzrokuje stjenica na plodovima tipične su za fitofagne vrste ove porodice, a očituju se u deformacijama biljnog tkiva. Kasnije u vegetacijskoj sezoni na napadnutim se plodovima stvaraju plutaste stanice, formiraju se nekrotična područja te se kod jakih napada tkivo ploda može raspadati (Bariselli i sur., 2016). Pri hranjenju stjenica može uzrokovati i neizravne štete prenošenjem biljnih bolesti koje uzrokuju trulež ploda (Rice i sur., 2014). Tijekom vegetacijske sezone 2010. godine u SAD-u populacije vrste *H. halys* uzrokovale su višemilijunske štete u uzgoju jabuke, breskve, vinove loze, kukuruza, paprike, rajčice i soje (Leskey i sur., 2012). Štete u poljoprivrednoj proizvodnji na području Europe dosada su zabilježene u plantažnom uzgoju kruške (Bariselli i sur., 2016; Maistrello i sur., 2017), jabuke i nektarine (Candian i sur., 2018) u Italiji te u uzgoju zelene ljute paprike i graha na području Mađarske (Vétek i Korányi, 2017).

METODE PRAĆENJA ŠTETNIKA

Populacija vrste *H. halys* prati se pomoću nekoliko vrsta lovki, a njihova se djelotvornost još uvijek ispituje. Odabir lovke ovisi o tome prati li se populacija štetnika u polju ili se prati prezimljujuća populacija štetnika (Lee i sur., 2013). Za praćenje aktivnosti štetnika i brojnosti populacije u polju koriste se crne svjetlosne i piramidalne feromonske lovke (Lee i sur., 2013; Nielsen i sur., 2013; Morrison i sur., 2015). Crne svjetlosne lovke vrlo su učinkovite za otkrivanje ranosezonske populacije štetnika. Pomoću njih se može ustanoviti vrlo niska brojnost populacije štetnika (Nielsen i sur., 2013). Postavljaju se 1,5 m iznad tla, a naprava za skupljanje štetnika sastoji se od lijevka promjera 46 cm koji vodi do plastične posude s otrovnom trakom (DDVP – 2,2 diklorovinil dimetil fosfat), (Katayama i sur. 1993. cit. Lee i sur., 2013). Kod piramidalnih feromonskih lovki kao atraktant koristi se spoj metil (E, E, Z)-2,4,6-dekatrienoat, tj. agregacijski feromon azijske vrste stjenice *Plautia stali* Scott (Nielsen i sur., 2011 cit. Morrison i sur., 2015). U novije se vrijeme kao atraktanti u piramidalnim lovkama koriste dva agregacijska feromona koje luče mužjaci vrste *H. halys*: (3S, 6S, 7R, 10S)-10,11-epoksi-1-bisabolen-3-ol (glavna komponenta) i (3R, 6S, 7R, 10S)-10,11-epoksi-1-bisabolen-3-ol (sporedna komponenta), (Khrimian i sur., 2014 cit. Morrison i sur., 2015). Kao ostale metode praćenja štetnika u literaturi se spominju vizualno opažanje, ulov pomoću entomoloških mreža (kečera) i metoda otresanja biljnih organa (Lee i sur., 2013).

Prezimljujuća populacija štetnika prati se pomoću tzv. pasivnih lovki koje se postavljaju oko naseljenih objekata, a služe kao potencijalna mjesta za prezimljavanje štetnika (Funayama, 2003. cit. Lee i sur., 2013). Izrađuju se od drvene ili kartonske ambalaže za pakiranje jabuka koja se puni slamom (Funayama, 2003 cit. Lee i sur., 2013). Ovakve se lovke koriste za predviđanje

potencijane opasnosti za usjeve, tj. brojnosti populacije štetnika u sljedećoj vegetacijskoj sezoni (Funayama, 2003 cit. Lee i sur., 2013).

MOGUĆNOSTI SUZBIJANJA ŠTETNIKA

Provedena su mnogobrojna istraživanja kako bi se ustanovila učinkovitost kemijskih sredstava u suzbijanju vrste *H. halys* (Lee i sur., 2013). U praksi se štetnik u svijetu suzbija insekticidima iz kemijskih skupina karbamata, organofosfata, organoklorida, piretroida, neonikotinoida, fenilpirazola i drugih skupina. U Aziji se insekticidni pripravci iz skupina piretroida i nikotinoida, kao što su bifentrin i dinotefuran (Funayama, 2012 cit. Lee i sur., 2013), preporučuju za korištenje pogotovu kada su prezimljujuće populacije štetnika visoke (Tsutsumi, 2003 cit. Lee i sur., 2013). Kemijsko se tretiranje provodi ako se temeljem praćenja populacije štetnika npr. korištenjem metode otresanja biljnih organa ili praćenjem pomoću feromonskih ili svjetlosnih lovki ustanovi kritičan broj štetnika koji može izazvati štetu u proizvodnji (Li i sur., 2007 cit. Lee i sur., 2013). Uputno je kemijsku zaštitu provoditi u zoru kada kukci još nisu aktivni (Bae i sur., 2007). Međutim, zbog kratke rezidualne aktivnosti mnogih spojeva iz skupine piretroida i neonikotinoida insekticidni se tretmani često moraju ponavljati svakih sedam do deset dana (Blaauw i sur., 2015 i 2016 cit. Candian i sur., 2018). Zaštitu napadnutih kultura dodatno otežava vrlo dobra pokretljivost i polifagnost štetnika (Candian i sur., 2018), a učestala primjena insekticida povećava troškove proizvodnje te smanjuje populaciju prirodnih neprijatelja štetnika (Blaauw i sur., 2016 cit. Candian i sur., 2018). Stoga se intenzivno istražuju ekološki povoljnije metode suzbijanja štetnika kao što su biološke i mehaničke mjere. Biološko suzbijanje vrste *H. halys* podrazumijeva korištenje parazitoida, predatora i entomopatogena. Parazitoidi roda *Trissolcus* smatraju se najspecijaliziranijim i najučinkovitijim za suzbijanje vrste *H. halys* (Arakawa i Namura, 2002 cit. Lee i sur., 2013; Arakawa i sur., 2004 cit. Lee i sur., 2013; Qui, 2007 cit. Lee i sur., 2013; Yang i sur., 2009 cit. Lee i sur., 2013). Vrsta *Trissolcus japonicus* (Ashmead, 1904), (syn. *Trissolcus halyomorphae*) parazitoidna je osica koja razvija više od 10 generacija godišnje, a za razvoj koristi jaja vrste *H. halys* (Qui, 2007 cit. Lee i sur., 2013; Yang i sur., 2009), a vrsta *Trissolcus mitsukurii* (Ashmead, 1904) ključni je parazitoid stjenice u Japanu koji razvija 14-15 generacija godišnje (Arakawa i Namura, 2002 cit. Lee i sur., 2013; Arakawa i sur., 2004 cit. Lee i sur., 2013).

Posljednjih nekoliko godina na tržištu su dostupne tzv. „insect proof“ mreže koje služe kao mehanička zapreka za štetnike. Istraživanja su u Hrvatskoj potvrdila učinkovitost mehaničkih zapreka, tj. mreža u suzbijanju jabukova savijača i breskvina moljca i savijača. No ustanovljene su i neke negativne posljedice kao što su razvijanje bolesti zbog povećanja relativne vlage zraka ispod mreža te slabija kakvoća plodova (Pajač Živković i sur., 2016 i 2018). Istraživanja utjecaja mehaničkih zapreka u suzbijanju vrste *H. halys* u

voćnjacima breskve i jabuke potvrdila su učinkovitost ovog tipa zaštite u Italiji jer su mreže smanjile štetu na breskvi za 45 % (u usporedbi s nepokrivenom kontrolom te tretiranim dijelom voćnjaka) te na jabuci za 20 % (u usporedbi s tretiranim dijelom voćnjaka), (Candian i sur., 2018).

ZAKLJUČCI

Stjenica *Halyomorpha halys* strana je i invazivna vrsta podrijetlom iz istočne Azije koja se udomačila na području Sjeverne Amerike i Europe te uzrokuje ekonomske štete u poljoprivrednoj proizvodnji. U Europi se pojavila tek prije nešto više od deset godina, ali se brzo prilagodila klimatskim uvjetima te proširila na više od deset europskih država među kojima je i Hrvatska. Kako je vrsta *H. halys* polifagni štetnik, ubrzo nakon njezinog udomačivanja u novom staništu pojavljuju se ekonomske štete u poljoprivrednoj proizvodnji. Morfološka su obilježja ove vrste specifična u odnosu na ostale vrste porodice Pentatomidae. Prepoznatljive su po obojenosti očiju, ticala, nogu i tijela, prema obliku glave i prisutnosti pet prozirnih kvržica na pronotumu i scutellumu. Ako se na vrijeme ne prepozna važnost i invazivnost određene vrste, ona se može brzo proširiti i nastaniti nova područja što dovodi do šteta koje se eksponencijalno povećavaju. Kako bi se pravovremeno spriječilo širenje populacije u kratkom vremenskom razdoblju, odnosno na nova područja i države, potrebno je poznavati biologiju i ekologiju štetnika te pratiti dinamiku populacije na određenom prostoru. Upravo radi toga je izuzetno važno obavljati redovite preglede poljoprivrednih usjeva kako bi se štetnik pravovremeno opazio te pokušao suzbiti dok je još u relativno niskoj populaciji prisutan na ograničenom prostoru. Praćenje štetnika obavlja se uz pomoć svjetlosnih lovki, feromonskih lovki te vizualnim pregledom, korištenjem entomoloških mreža (kečera) i metodom otresanja biljnih organa. Mjere suzbijanja štetnika uključuju korištenje kemijskih pripravaka te primjenu mehaničkih mjera zaštite upotrebom tzv. „insect proof“ mreža. Ipak, kod suzbijanja se najviše pozornosti posvećuje biološkoj zaštiti koja uključuje korištenje prirodnih neprijatelja štetnika kao što su predatori, parazitoidi i drugi entomopatogeni. Najpoznatije vrste parazitoida vrste *H. halys* jesu dvije parazitske osice *Trissolcus japonicus* i *Telenomus mitsukurii*.

LITERATURA

ARNOLD, K. (2009). *Halyomorpha halys* (Stål, 1855), eine für die europäische Fauna neu nachgewiesene Wanzenart (Insecta: Heteroptera, Pentatomidae, Pentatominae, Cappaeini). Mitteilungen des Thüringer Entomologenverbandes e., Vol. 16, 1: 19.

BAE, S. D., KIM, H. J., LEE, G. H., PARK, S. T. (2007). Development of observation methods for density of stink bugs in soybean field. Korean J. Appl. Entomol., Vol. 46, 1: 153-158.

BARISELLI, M., BUGIANI, R., MAISTRELLO, L. (2016). Distribution and damage caused by *Halyomorpha halys* in Italy. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, Vol. 0, 0: 1-3.

CALLOT, H., BRUA, C. (2013). *Halyomorpha halys* (Stål, 1855), la Punaise diabolique, nouvelle espèce pour la faune de France (Heteroptera Pentatomidae). L'Entomologiste, Vol. 69: 69–71.

CANDIAN, V., PANSA, M.G., BRIANO, R., PEANO, C., TEDESCHI, R., TAVELLA, L. (2018). Exclusion nets: a promising tool to prevent *Halyomorpha halys* from damaging nectarines and apples in NW Italy. Bulletin of Insectology, Vol. 71, 1: 21-30.

GOTLIN ČULJAK, T., JURAN, I. (2016). Poljoprivredna entomologija – sistematika kukaca, Sveta Nedjelja, Radin print d.o.o.

HAYE, T., WYNIGER, D., GARIEPY, T. (2014). Recent range expansion of brown marmorated stink bug in Europe. ed. Müller Gabi, Pospischil Reiner, Robinson H. William, Proceedings of the Eighth International Conference on Urban Pests, Zurich, 20-23. 7. 2014., 309–314.

HAYE, T., GARIEPY, T., HOELMER, K., ROSSI, J. P., STREITO, J. C., TASSUS, X., DESNEUX, N. (2015). Range expansion of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*; an increasing threat to field, fruit and vegetable crops worldwide. J. Pest. Sci., Vol. 88: 665-673.

HECKMANN, R. (2012). Erster Nachweis von *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) für Deutschland. Heteropteron, Vol. 36: 17-18.

HOEBEKE, E. R., CARTER, M. E. (2003). *Halyomorpha halys* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae): a polyphagous plant pest from Asia newly detected in North America. Proc. Entomol. Soc. Wash., Vol. 105, 1: 225-237.

ITIS, the Integrated Taxonomic Information System (2018). [online] (https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_valu e=915660#null), pristupljeno 24. studenog 2018.

LEE, D. H., SHORT, B. D., JOSEPH, S. V., BERGH, J. C., LESKEY, T. C. (2013). Review of the biology, ecology, and management of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in China, Japan, and the Republic of Korea. Environ. Entomol., Vol. 42: 627–641.

LESKEY, T. C., HAMILTON, G. C., NIELSEN, A. L., POLK, D. F., RODRIGUEZ-SAONA, C., BERGH, J. C., HERBERT, D. A., KUCHAR, T. P., PFEIFFER, D., DIVELY, G. P., HOOKS, C. R. R., RAUPP, M. J., SHREWSBURY, P. M., KRAWCZYK, G., SHEARER, P. W., WHALEN, J., KOPLINKA-LOEHR, C., MYERS, E., INKLEY, D., HOELMER, K. A., LEE, D. H., WRIGHT, S. E. (2012). Pest status of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* in the USA. Outlooks on Pest Management, Vol. 23, 5: 218-226.

LESKEY, T. C., NIELSEN, A. L. (2018). Impact of the Invasive Brown Marmorated Stink Bug in North America and Europe: History, Biology, Ecology, and Management. Annual Review of Entomology, Vol. 63: 599-618.

MACAVEI, L. I., BAETAN, R., OLTEAN, I., FLORIAN, T., VARGA, M., COSTI, E., MAISTRELLO, L. (2015). First detection of *Halyomorpha halys* Stål, a new invasive species with a high potential of damage on agricultural crops in Romania. Lucrări Științifice, Vol. 58: 105–108.

MAISTRELLO, L., DIOLI, P., VACCARI, G., NANNINI, R., BORTOLOTTI, P., CARUSO, S., COSTI, E., MONTERMINI, A., CASOLI, L., BARISELLI, M. (2014). First records in Italy of the Asian stinkbug *Halyomorpha halys*, a new threat to fruit crops. Attidelle Giornate Fitopatologiche, 283-288.

MAISTRELLO, L., VACCARI, G., CARUSO, S., COSTI, E., BORTOLINI, S., MACAVEI, L., FOCA, G., ULRICI, A., BORTOLOTTI, P. P., NANNINI, R., CASOLI, L., FORNACIARI, M., MAZZOLI, G. L., DIOLI, P. (2017). Monitoring of the invasive *Halyomorpha halys*, a new key pest of fruit orchards in northern Italy. *J. Pest Sci.*, Vol. 90: 1231-1244.

MILONAS, P. G., PARTSINEVELOS, G. K. (2014). First report of brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* Stål (Hemiptera: Pentatomidae) in Greece. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, Vol. 44, 2: 183–186.

MORRISON, W.R. III, CULLUM, J. P., LESKEY, T.C. (2015). Evaluation of trap designs and deployment strategies for capturing *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 108, 4: 1683–1692.

NIELSEN, A. L., HOLMSTROM, K., HAMILTON, G. C., CAMBRIDGE, J., INGERSON-MAHAR, J. (2013). Use of Black Light Traps to Monitor the Abundance, Spread, and Flight Behavior of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 106, 3: 1495-1502.

OŠTREC, L., GOTLIN ČULJAK, T. (2005). *Opća entomologija*, Zrinski d.d.

PAJAČ ŽIVKOVIĆ, I., JEMRIĆ, T., FRUK, M., BUHIN, J., BARIĆ, B. (2016). Influence of different netting structures on codling moth and apple fruit damages in northwest Croatia. *Agriculturae conspectus scintificus*, Vol. 81, 2: 99-102.

PAJAČ ŽIVKOVIĆ, I., JEMRIĆ, T., FRUK, M., BARIĆ, B. (2018). Upotreba fotoselektivnih mreža u zaštiti od važnih štetnika breskve. *Glasiilo biljne zaštite*, Vol. 18, 4: 399-406.

RABITSCH, W., FRIEBE, G. J. (2015). From the west and from the east? First records of *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) in Vorarlberg and Vienna Austria. *Beitr. Entomofaunist.*, Vol. 16: 115–139.

RICE, K. B., BERGH, C. J., BERGMANN, E. J., BIDDINGER, D. J., DIECKHOFF, C., DIVELY, G., FRASER, H., GARIPEY, T., HAMILTON, G., HAYE, T., HERBERT, A., HOELMER, K., HOOKS, C. R., JONES, A., KRAWCZYK, G., KUHAR, T., MARTINSON, H., MITCHELL, W., NIELSEN, A. L., PFEIFFER, D. G., RAUPP, M. J., RODRIGUEZ-SAONA, C., SHEARER, P., SHREWSBURY, P., VENUGOPAL, P. D., WHALEN, J., WIMAN, N. G., LESKEY, T. C., TOOKER, J. F. (2014). Biology, ecology and management of brown marmorated stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Integr. Pest Manag.*, Vol. 5: A1-A13.

SIMOV, N. (2016). The invasive brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) already in Bulgaria. *Ecologica Montenegrina*, Vol. 9: 51-53.

ŠAPINA, I., ŠERIĆ JELASKA, L. (2018). First report of invasive brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) in Croatia. *Bulletin OEPP/EPPO*, Vol. 48, 1: 1–6.

ŠEAT, J. (2015). *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) a new invasive species in Serbia. *Acta entomologica serbica*, Vol. 20: 167-171.

YANG, Z. Q., YAO, Y. X., QUI, L. F., LI, Z. X. (2009). A New Species of *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae) Parasitizing Eggs of *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae) in China with Comments on Its Biology. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 102, 1: 39-47.

VÉTEK, G., PAPP, V., HALTRICH, A., RÉDEI, D. (2014.) First record of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), in Hungary, with description of the genitalia of both sexes. *Zootaxa*, Vol. 3780, 1: 194–200.

VÉTEK, G., KORÁNYI, D. (2017). Severe damage to vegetables by the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae), in Hungary. *Periodicum Biologorum*, Vol. 119, 2: 131-135.

WERMELINGER, B., WYNIGER, D., FORSTER, B. (2008). First records of an invasive bug in Europe: *Halyomorpha halys* Stal (Heteroptera: Pentatomidae), a new pest on woody ornamentals and fruit trees. *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.*, Vol. 81: 1-8.

ZHU, G., BU, W., GAO, Y., LIU, G. (2012). Potential geographic distribution of brown marmorated stink bug invasion (*Halyomorpha halys*). *PLoS ONE*, Vol. 7, 2: e31246.

SPINOSINI – INSEKTICIDI BIOLOŠKOG PODRIJETLA

Maja ČAČIJA, Renata BAŽOK, Darija LEMIĆ, Martina MRGANIĆ, Helena VIRIĆ
GAŠPARIĆ, Zrinka DRMIĆ

Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju,
Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb

mcacija@agr.hr

Prihvaćeno: 16-11-2018

SAŽETAK

Spinosini su grupa insekticida koja pokazuje visoko insekticidno djelovanje protiv mnogih ekonomski važnih štetnika na poljoprivrednim kulturama. Učinkoviti su i protiv parazita na stoci, kućnim ljubimcima i ljudima. Ubrajamo ih u naturalite jer su to biološki aktivne tvari dobivene fermentacijom iz bakterije *Saccharopolyspora spinosa*. Najvažniji su spinosini koji pokazuju izvrsno insekticidno djelovanje spinosad i njegov polusintetični derivat spinetoram. Imaju jedinstven mehanizam djelovanja na živčani sustav kukca te uzrokuju neprekidne kontrakcije mišića, paralizu i smrt. Primjenjuju se u suzbijanju velikog broja štetnika na koje djeluju želučano i kontaktno, pri čemu spinetoram pokazuje brže i jače insekticidno djelovanje nego spinosad. U usporedbi s mnogim drugim insekticidima, pokazuju veću selektivnost prema ciljanim štetnicima, poštedeju korisne kukce i nemaju negativan utjecaj na sisavce, ptice i vodene životinje. Zahvaljujući jedinstvenom načinu djelovanja, rijetko je zabilježena pojava rezistentnosti. Spekter primjene, mehanizam djelovanja i nizak utjecaj na okoliš čine spinosine učinkovitim biološkim insekticidima koji se mogu upotrebljavati u modernoj integriranoj zaštiti od štetnika.

Ključne riječi: biološki insekticidi, naturaliti, spinetoram, spinosad

SPINOSYNS - NATURALLY DERIVED INSECTICIDES**SUMMARY**

Spinosyns are a class of insecticides which show potent insecticidal activities against many commercially significant species that cause extensive damage to crops and other plants. They are also used to suppress external parasites of livestock, companion animals and humans. Spinosyns are derivative of biological active substances produced by soil Actinomycete

Saccharopolyspora spinosa and they belong to a group of naturalyte insecticides. The most important spinosyns are spinosad and spinetoram, a semisynthetic second-generation spinosad derivative. Spinosyns have a unique mechanism of action and act on insect neurons, resulting in involuntary muscle contractions, eventually leading to paralysis and death. They are used in suppressing a large number of pests that get affected through contact or ingestion, with spinetoram showing faster and stronger insecticidal activity than spinosad. In comparison with many other insecticides, the spinosyns generally show greater selectivity toward target insect pests and lesser activity against many beneficial predators as well as mammals, aquatic and avian animals. Thanks to their mode of action the resistance phenomena are uncommon, with few reported cases so far. Their insecticidal spectrum, unique mechanism of action and lower environmental effect make them useful new biological agents for use in modern integrated pest management programs.

Key words: biological insecticides, naturalyte, spinetoram, spinosad

UVOD

Prirodni produkti s insekticidnim djelovanjem predstavljaju vrijedne izvore za proizvodnju raznovrsnih novih kemijskih molekula u agrokemijskoj industriji (Demain i Sanchez, 2009). Produkti čija djelatna tvar nastaje prirodnim procesima poput fermentacije u bakterijama nazivaju se derivatima mikroorganizama, odnosno naturalitima. Ubrajaju se u biološke insekticide. Spinosini su jedinstvena skupina insekticida iz skupine naturalita. Najznačajniji spinosin je spinosad, biološki aktivna tvar izolirana iz zemljišne bakterije *Saccharopolyspora spinosa*, Mertz and Yao, 1990 (Mertz i Yao, 1990). Sintetizirani su i brojni derivati od kojih je najvažniji spinetoram (Sparks i sur., 2001). Djeluju želučano i kontaktno, zbog čega pokazuju dobar insekticidni učinak na brojne kukce prvenstveno iz redova Lepidoptera i Diptera, a zatim i Thysanoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera i drugih (Bret i sur., 1997; Shimokawatoko i sur., 2012; Sparks i sur., 1995). Zahvaljujući širokoj primjeni i specifičnom načinu djelovanja, u integriranoj zaštiti bilja predstavljaju važnu komercijalno iskoristivu alternativu klasičnim insekticidima, posebice zato što je rezistentnost zabilježena u rijetkim slučajevima (Thompson i Hutchins, 1999). Ne pokazuju unakrsnu rezistentnost s piretroidima, organofosforinim insekticidima i regulatorima rasta i razvoja kukaca (Roe i sur., 2010). Ekološki su povoljni jer su učinkoviti u malim dozama te uglavnom pošteđuju korisne kukce i druge životinje. Zbog niskog štetnog utjecaja na okoliš i korisne organizme neki su spinosini dopušteni za korištenje i u organskoj proizvodnji (EGTOP, 2016). U ovom je radu dan pregled najvažnijih značajki spinosina, njihov razvoj, ekotoksikološki profil i mogućnosti primjene u suzbijanju štetnika.

OTKRIĆE SPINOSINA

Otkriće avermektina i milbemektina, naturalita sa snažnim insekticidnim djelovanjem, uvelike je doprinijelo razvoju veterinarske medicine (Kornis, 1995) te su ta otkrića potaknula pronalaženje drugih novih molekula koje bi pokazale slično ili jače djelovanje na štetnike. Istraživanja su se zato usmjerila na „netradicionalne“ mikroorganizame, odnosno slabo istraživane rodove. Nakon pronalaska nepoznate bakterije u uzorcima tla s Karipskog otočja 1982. godine, bakterija je determinirana kao nova vrsta iz rijetkog roda zemljišnih aktinomoceta i nazvana *Saccharopolyspora spinosa*, Mertz and Yao, 1990 (Mertz i Yao, 1990). Istraživanjem fermentata ove nove bakterije zapaženo je jako insekticidno djelovanje na ličinke komaraca. Fermenti nisu imali fungicidan i antibakterijski učinak pa je zaključeno da se radi o selektivnoj insekticidnoj tvari koja bi mogla imati drugačiji profil od do tada poznatih insekticida te bi ju valjalo dalje istražiti (Kirst i sur., 1993). Izolirane insekticidne komponente dobile su, prema bakteriji iz koje su izolirane, naziv spinosini (Thompson i sur., 1995).

BIOLOŠKI AKTIVNE KOMPONENTE SPINOSINA

Aerobnom fermentacijom bakterije *S. spinosa* nastaje prirodna smjesa koja sadrži spinosin A kao glavnu komponentu (oko 85 %) i spinosin D kao manje zastupljenu komponentu (oko 15 %) (Kirst i sur., 1992). Takva smjesa nazvana je spinosad (Thompson i sur., 1995). Budući da je spinosad pokazao izvrsno insekticidno djelovanje, Dow AgroScience pokrenuo je program istraživanja kemije spinosina kako bi se proširila primjena i pojačala insekticidna svojstva (Sparks i sur., 2001). U programu je izolirano i identificirano više od 20 različitih spinosina kao prirodnih analoga spinosina A (DeAmicis i sur., 1997; Sparks i sur., 1999), a proizvedeno je i više od 800 polusintetičkih derivata koji su nazvani spinosoidi (Crouse i sur., 2001). Većina ovih produkata izolirana je fermentacijom mutiranih sojeva bakterije *S. spinosa* jer prirodna smjesa nije davala dovoljne količine produkata (Salgado i Sparks, 2010). Svim navedenim molekulama zajedničko je to što su po temeljnoj strukturi makrociklični laktoni, a međusobno se razlikuju po modifikacijama pojedinih kemijskih grupa ili šećera (Kirst, 2010).

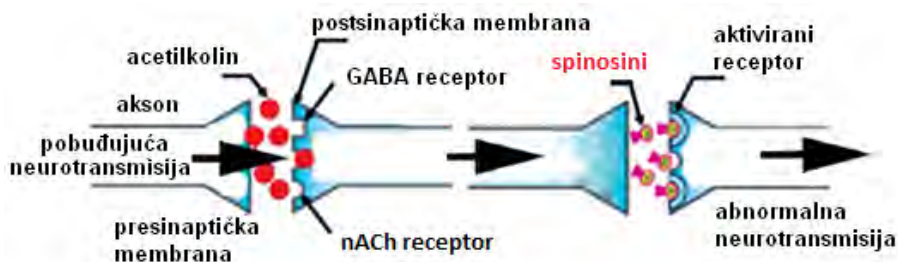
Uz spinosin D, koji je po strukturi 6-metil-spinosin A, modifikacijama metilne skupine spinosina A nastali su prirodni spinosini E i F (Kirst, 2010). Ostali prirodni analozi, spinosini H, J, B i C, nastali su modifikacijama šećera, dok je zamjenom šećera nastao spinosin G (Graupner i sur., 2005; Kirst i sur., 1992). Spinosin K otkriven je kasnije (Sparks i sur., 1996). Daljnjim modifikacijama navedenih analoga proizvedeni su brojni drugi prirodni spinosini (L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, Y) (Salgado i Sparks, 2010).

Fermentacijom smjese spinosina J i spinosina L dobivena je smjesa 3'-O-etil-5,6-dihidro-spinosina J i 3'-O-etil-spinosina L, nazvana spinetoram. Komponente, generičkih imena XDE-175-J i XDE-175-L, prisutne su u omjeru 3 : 1 (PPDB, 2018). Spinetoram je polusintetični derivat koji je pokazao jače i brže insekticidno djelovanje nego spinosad (Crouse i sur., 2007). Njegovo je otkriće nagrađeno 2008. godine nagradom „Presidential Green Chemistry Challenge Award for Designing Greener Chemicals“ (Kirst, 2010).

U novije su vrijeme metaboličkim inženjeringom proizvedeni i 21-ciklobutil-spinosin A i 21- ciklobutil-spinosin D koji u suzbijanju određenih štetnika pokazuju bolja svojstva nego spinosini A i D (Huang i sur., 2009). Također, otkrivena je druga vrsta bakterije, *Saccharopolyspora pogona*, koja proizvodi više od 30 strukturno sličnih molekula. One su 2-butenil analozi spinosina A i D te se nazivaju butenil-spinosini ili pogonini, a pokazuju insekticidno djelovanje slično spinetoram (Lewer i sur., 2009). U najnovijim su istraživanjima testirane nove, pojednostavnjene molekule bez makrocikličnog prstena koje oponašaju spinosine te se pokazalo da neke imaju višestruko (> 2700 puta) jače insekticidno djelovanje na određene štetnike iz reda Lepidoptera (Crouse i sur., 2018).

MEHANIZAM DJELOVANJA

Mehanizam na temelju kojega spinosini pokazuju insekticidno djelovanje različit je od bilo kojega do danas poznatog mehanizma djelovanja insekticida, no još uvijek nije u potpunosti objašnjen (Salgado i Sparks, 2010). Poznato je da djeluju kao alosterični aktivatori nikotin acetilkolinških receptora (nAChR) (IRAC, 2018), a kasnijim je istraživanjima ustanovljeno da istovremeno djeluju antagonistički na receptore γ -aminomaslačne kiseline (GABA), zbog čega je njihov mehanizam djelovanja jedinstven (Orr i sur., 2009). Prema tome, spinosini remete rad živčanog sustava poticanjem rada motornih neurona i uzrokovanjem neprekidnih kontrakcija mišića (slika 1.), a posljedica je toga njihova paraliza i brzo iscrpljivanje kukca do smrti unutar jednog do dva dana (Salgado, 1998).



Slika 1. Shematski prikaz vezanja spinosina na nACh i GABA receptore (prilagođeno prema Bacci i sur., 2016)

Figure 1 Scheme of spinosyn binding to nACh and GABA receptors (adapted according to Bacci et al., 2016)

Ono što do danas nije u potpunosti poznato jest na koje se točno podjedinice receptora spinosini vežu. U slučaju nAChR vežu se na nikotinske podjedinice različite od onih na koje se vežu neki drugi insekticidi (primjerice neonicotinoidi) (Watson, 2001). Kod vrste *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 ustanovljeno je da se vežu na posebnu vrstu nikotinske podjedinice Da6 (Perry i sur., 2015), no potrebna su daljnja istraživanja koja bi potvrdila da je vezanje na navedenu podjedinicu univerzalno kod svih štetnika. Zanimljive rezultate, koji pokazuju jačinu insekticidnoga djelovanja, pokazala su istraživanja na žoharima prema kojima je za aktivaciju nAChR spinosinom A potrebna nanomolarna, dok je za aktivaciju istih receptora neonicotinoidima potrebna puno veća mikromolarna koncentracija. U većim pak mikromolarnim koncentracijama spinosin A djeluje slabo antagonistički na nAChR (Salgado i Saar, 2004).

OTROVNOST I OPASNOST ZA ČOVJEKA I ŽIVOTINJE

Učinkovitost insekticida na ciljanog štetnika jedna je od najvažnijih značajki koja se uzima u obzir pri komercijalizaciji, no utjecaj na čovjeka, životinje, korisne kukce, neciljane organizme te ponašanje u okolišu jednako su važni pri registraciji proizvoda. U usporedbi s mnogim drugim insekticidima, spinosini su općenito najmanje otrovni za neciljane organizme uključujući sisavce, ptice i druge kralješnjake te biljke (Bacci i sur., 2016).

Spinosad je vrlo nisko akutno otrovan za sisavce i ne smatra se opasnim za ljudsko zdravlje. Prema otrovnosti ubraja se u grupu III (EPA, 1999). Oralna srednja letalna doza (LD_{50}) u štakora iznosi 3738 mg/kg za mužjake i > 5000 mg/kg za ženke. Akutne dermalne doze u zečeva su > 2000 mg/kg, a inhalacijska srednja letalna koncentracija (LC_{50}) u štakora je > 5,18 mg/l (EPA, 1997). Spinosad se brzo apsorbira i metabolizira u štakora, pri čemu se 60 do 80 % spinosada ili njegovih metabolita izlučuje urinom ili fecesom. Za kroničnu otrovnost pokazano je da je doza pri kojoj se ne opažaju negativni učinci (NOAEL) 4,98 mg/kg/dan u pasa i 6 mg/kg/dan u miševa. Prema tim je podacima Američka agencija za zaštitu okoliša (EPA) odredila referentnu dozu (RfD) za čovjeka od 0,0268 mg/kg/dan (EPA, 1997). Spinosad ne pokazuje kancerogeno, teratogeno, mutageno ili neurotoksično djelovanje na sisavcima ni pri najvećim testiranim dozama, iako je moguće da ima neke učinke na GABA i druge receptore u mozgu sisavaca (Salgado, 1998). Spinosad je malo otrovan za ptice te umjereno otrovan za ribe i vodene beskralješnjake. U laboratorijskim se testovima pokazao jako otrovnim za kamenice i druge mekušce (EPA, 1997).

Prema EPA (2009b), spinetoram se smatra toksikološki identičnim spinosadu. Nisko je akutno toksičan za sisavce i ptice unesen oralnim, dermalnim ili inhalacijskim putem. Testovi subkronične otrovnosti nisu pokazali negativne učinke na preživljavanje kod miševa, štakora i pasa, no opažen je

utjecaj na smanjenje težine i izazivanje anemije. Psi su bili toksikološki najosjetljiviji na spinetoram jer su zapažene razne promjene (atrofije, artritis, nekroze). Zapažen je i negativan utjecaj na plodnost ženki štakora, no učinci nisu bili zabilježeni na potomstvu. Slično spinosadu, spinetoram ne pokazuje kancerogeno i neurotoksično djelovanje na sisavce. Smatra se da je spinetoram najviše opasan za ribe i vodene beskralješnjake. Opasnost od bioakumulacije postoji, no ona ne predstavlja rizik za sisavce ili ptice (EPA, 2009b). U literaturi nema podataka o utjecaju ostalih spinosina na zdravlje čovjeka i druge životinje.

OTROVNOST I OPASNOST ZA KORISNE ORGANIZME

U usporedbi s drugim insekticidima, spinosini su zbog svoje selektivnosti i povoljnog ekotoksikološkog profila manje otrovni za korisne i ne ciljane organizme te su klasificirani kao materijal smanjenog rizika (EPA, 2009a). Brojna istraživanja provedena na ukupno 52 vrste prirodnih neprijatelja (27 predatora i 25 parazitoida) u poljskim i laboratorijskim uvjetima pokazala su da spinosad ima vrlo mali učinak na predatore, dok su parazitoidi puno osjetljiviji (Williams i sur., 2003). To su potvrdila i neka druga istraživanja u kojima se spinetoram pokazao otrovnim za parazitoide, osice iz reda Hymenoptera koje imaju važnu ulogu u prirodnom suzbijanju štetnika (Nasreen i sur., 2000; Tillman i Mulrooney, 2000; Consoli i sur., 2001). Spinosad je također djelovao smrtno na parazitoide, ali nije štetno utjecao na jedinke prisutne unutar parazitiranih lisnih uši, dok su neki drugi insekticidi ubijali parazitoide i unutar uši (Ohta i Takeda, 2015).

Vrste stjenica *Orius insidiosus* (Say, 1832) i *Geocoris punctipes* (Say, 1832), božja ovčica *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville, 1842 i zlatooka *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) pokazale su različitu osjetljivost na spinosad. Stjenica *G. punctipes* bila je najmanje osjetljiva, dok je zlatooka bila najosjetljivija (Elzen i sur., 1998). Pokazano je da pri suzbijanju tripsa vrste *F. occidentalis* spinosad nema negativnog učinka na njegovog predatora stjenicu *O. insidiosus* (Broughton i sur., 2014). Spinosad također nema utjecaja na predatorsku grinju *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957 (Cote i sur., 2002), a pri preporučenim dozama gotovo je bezopasan (smrtnost < 30 %) za većinu predatorskih grinja (Williams i sur., 2003). Razne korisne vrste iz reda Diptera puno su osjetljivije na spinosad jer njegovo djelovanje zaustavlja razvoj ličinki (Stevens i sur., 2005) i umanjuje mogućnost izlaska odraslih iz kukuljica (Duchet i sur., 2015).

Spinosini su otrovni za pčele (Bret i sur., 1997). Spinosad je umjereno (Scott-Dupree i sur., 2009) do visoko (EPA, 2009a) otrovan za neke vrste pčela i drugih oprašivača, dok je spinetoram jako otrovan pri izravnoj primjeni ili kontaktu pčele s ostatcima na cvjetovima (EPA, 2009b). Međutim, kada se rezidue osuše

(nakon nekoliko sati), spinosad je mnogo manje otrovan za pčele i druge korisne organizme (Bret i sur., 1997). Pretpostavlja se da se isto događa i s ostatcima spinetoramama jer spinosini brzo degradiraju u okolišu (Williams i sur., 2003). Negativan učinak na pčele može se postići tretiranjem cvatova u vrijeme kada je aktivnost pčela niska (Miles, 2003).

Primjena spinosada u dozama od 25 do 150 g/ha ne uzrokuje velike učinke na respiraciju mikroflora u tlu i nema znatnijeg djelovanja na gujavice ($LD_{50} > 970$ mg/kg) (EPA, 2009a). Spinetoram je umjereno otrovan za gujavice ($LC_{50} > 500$ mg/kg) (PPDB, 2018). Malo je istraživana učinak spinosada na detritivorne vrste kukaca u tlu i njihove predatore, uključujući mrave i skokunce. Međutim, kako su neki pripravci spinosada dopušteni za suzbijanje vatrene mrava koji se zadržavaju u gornjim slojevima tla, vjerojatno je da ima učinka na takvu faunu tla (EPA, 2009a). U literaturi nema podataka o utjecaju spinetoramama ili drugih spinosina na razne člankonošce i druge organizme u tlu.

PONAŠANJE U OKOLIŠU I NA BILJCI

Spinosini nisu dugo perzistentni u različitim dijelovima okoliša i relativno se brzo razgrađuju (Salgado i Sparks, 2010). U laboratorijskim je uvjetima vrijeme poluživota spinosada u aerobnom tlu oko 17 dana, a u sterilnom tlu pod utjecajem svjetla razgradi se za oko 10 dana (EPA, 2009a). Prema drugim podacima spinosad je relativno perzistentan u tlu: mikroorganizmi ga razgrađuju u druge spinosine koji mogu ostati biološki aktivni i nekoliko mjeseci. Ponovljena primjena također može dovesti do manjeg nakupljanja spinosina u tlu (Saunders i Bret, 1997). Iako je spinosin A 18 puta više topiv u vodi od spinosina D, jače se veže uz čestice tla te ima slabu mobilnost u pjeskovitom tlu, a u ilovači nije mobilan. Zbog toga nema opasnosti od ispiranja u podzemne vode (EPA, 2009a). Desetomjesečno istraživanje u SAD-u pokazalo je da se produkti razgradnje spinosada ne mogu naći u tlu ispod 60 cm (Saunders i Bret, 1997). Spinosad je hidrolitički stabilan, no uz svjetlost u vodi brzo se razgrađuje. U sterilnoj vodi (pH 7) fotolizom se razgrađuje unutar jednog dana (EPA, 2009a). Bez utjecaja svjetla vrijeme poluživota spinosina A i D u blago lužnatoj vodi najmanje je 200 dana. Spinosad je perzistentan u sedimentu te u takvom anarobnom tlu ima vrijeme poluživota oko 250 dana (Kollman, 2002).

Spinetoram se u okolišu ponaša slično spinosadu. Aerobnim metabolizmom u tlu razgrađuje se za tri do 31 dan, a fotolizom u tlu za 19 do 88 dana. U poljskim uvjetima na tlu i u vodi vrijeme poluživota je jedan do dva dana (EPA, 2009b). Slabo je topiv u vodi i ima visok afinitet za čestice tla, odnosno sedimenta, što znači da je u tlu imobilan. Produkti razgradnje nisu nađeni u tlu ispod 15 cm. Slično spinosadu, u sedimentu se razgrađuje puno sporije, s vremenom poluživota od 116 do 1386 dana (EPA, 2009b).

Na površini listova biljaka spinosad je slabo perzistentan jer je fotolabilan: vrijeme poluživota spinosina A je dva do 12 dana, ovisno o količini svjetla (Kollman, 2002). U literaturi nema podataka o razgradnji spinetoram na površini biljaka, ali se pretpostavlja da se brzo razgrađuje fotolizom. Spinosad i spinetoram pokazuju translaminarno djelovanje nakon ulaska u biljku te su lokalni sistemici (EPA, 2009a, Shimokawatoko i sur., 2012). Djelomice ulaze u biljku preko listova, a to pojačava njihovo djelovanje tijekom vremena. Dodatak surfaktanata može poboljšati njihov unos u biljno tkivo (EPA, 2009a). Kada se osuše na listu, njihove su rezidue vrlo malo štetne za vrste kukaca koje nisu fitofagne. Folijarnom primjenom u preporučenim dozama nisu fitotoksični za biljke (Saunders i Bret, 1997). U literaturi nema podataka o ponašanju drugih spinosina u okolišu i na biljci.

UČINKOVITOST I PRIMJENA

Spinosini su razvijeni prvenstveno za suzbijanje ekonomski važnih štetnika, no koriste se i za kukce od sanitarnog značenja (paraziti na životinjama i čovjeku) (Bacci i sur., 2016). Najveću učinkovitost unutar grupe spinosina pokazuju spinosad (gotovo podjednako komponente A i D) i spinetoram (Kirst, 2010). Djeluju kontaktno i želučano (Shimokawatoko i sur., 2012). Spinosad ima kontaktno djelovanje na sve stadije štetnika uključujući jaja, ličinke i odrasle jedinke. Jaja moraju biti izravno tretirana, a djelovanje na ličinke i odrasle može biti i putem kontakta s tretiranom površinom. Spinosad je najučinkovitiji kada se unese oralno, zbog čega pokazuje veću selektivnost i pošteđuje prirodne neprijatelje i druge organizme (Cleveland i sur., 2001). Prvi put je registriran 1997. godine u Kaliforniji, SAD (EPA, 1999). U usporedbi sa spinosadom, spinetoram pokazuje brže, jače i dulje djelovanje u suzbijanju štetnika, a poput spinosada ima široku primjenu i ne djeluje štetno na korisne organizme i okoliš (Crouse i sur., 2007; Dripps i sur., 2008). Spinetoram je prvi put registriran 2007. godine na Novom Zelandu, deset godina nakon prve registracije spinosada (EPA, 2009).

Spinosini imaju jako insekticidno djelovanje na velik broj štetnika, prvenstveno iz redova Lepidoptera i Diptera, ali i brojnih drugih redova (Hemiptera, Thysanoptera, Isoptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera) (Thompson i sur., 1995; Sparks i sur., 1996; Crouse i sur., 2001). Insekticidno djelovanje spinetoram na neke važnije štetnike prikazano je u tablici 1. U početku su spinosini bili posebice zanimljivi zbog učinkovitosti na brojne vrste gusjenica leptira koje su u doba otkrića spinosina činile velike štete na kukuruзу, pamuku, duhanu i nekim drugim kulturama u SAD-u. Spinosad, tada novi insekticid, pokazao se kao izvrsno rješenje. U istraživanju u Louisiani (1989.-1995.) spinosad je pokazao jednaku ili veću učinkovitost u suzbijanju nekoliko vrsta gusjenica iz porodice Noctuidae (*Heliothis virescens* (Fabricius,

1777), *Helicoverpa zea* Boddie, 1850 i *H. armigera* (Hübner, 1805)) u usporedbi s piretroidima, organofosforinim insekticidima i karbamatima (Leonard i sur., 1996). Slične rezultate dobili su Sparks i sur. (1998), gdje se spinosin A pokazao jednako učinkovitim na vrstu *H. virescens* kao i piretroidi.

Tablica 1. Srednja letalna koncentracija (LC₅₀) spinetorama i mortalitet (Shimokawatoko i sur., 2012)

Table 1 Median lethal concentration (LC₅₀) of spinetoram and mortality (Shimokawatoko i sur., 2012)

| Red | Vrsta | Razvojni stadij | Kultura | Metoda | DAT* | LC ₅₀ (ppm) |
|------------------------------|----------------------------------|--------------------------|------------|-------------------------|-----------------|------------------------|
| Lepidoptera | <i>Plutella xylostella</i> | ličinka 3. stadija | kupus | umakanje (list) | 4 | 0,01 |
| | <i>Spodoptera litura</i> | ličinka 3. stadija | kupus | umakanje (list) | 4 | 1,17 |
| | <i>Pieris rapae crucivora</i> | ličinka srednjeg stadija | kupus | umakanje (list) | 4 | 0,02 |
| | <i>Helicoverpa armigera</i> | ličinka 3. stadija | kupus | umakanje (list) | 4 | 0,08 |
| | <i>Trichoplusia ni</i> | ličinka 3. stadija | kupus | umakanje (list) | 4 | 0,01 |
| | <i>Adoxophyes honmai</i> | ličinka srednjeg stadija | zeleni čaj | umakanje (list) | 10 | 0,94 |
| | <i>Homona magnanima</i> | ličinka 3. stadija | zeleni čaj | umakanje (list) | 4 | 0,87 |
| | <i>Adoxophyes orana fasciata</i> | ličinka 3. stadija | jabuka | folijarno | 4 | 0,11 |
| | <i>Cnaphalocrocis medinalis</i> | ličinka kasnog stadija | riža | umakanje (list) | 4 | 0,06 |
| | Thysanoptera | <i>Thrips palmi</i> | odrasli | krastavac | umakanje (list) | 3 |
| <i>Scirtothrips dorsalis</i> | | odrasli | zeleni čaj | umakanje (list) | 3 | 0,038 |
| Red | Vrsta | Razvojni stadij | Kultura | Metoda | DAT | Mortalitet (%) |
| Diptera | <i>Liriomyza sativae</i> | ličinka ranog stadija | krastavac | umakanje (list) | 3 | 23 ppm: 100 |
| | <i>Liriomyza huidobrensis</i> | ličinka ranog stadija | krastavac | umakanje (list) | 3 | 23 ppm: 100 |
| Hemiptera | <i>Bemisia tabaci</i> | nimfa prvog stadija | kupus | umakanje (list i kukac) | 4 | 47 ppm: 98 |

Spinosad i spinetoram učinkovito suzbijaju tripse (*Frankliniella occidentalis* Pergande (1895), *F. tritici* Fitch, 1855 i *F. bispinosa* (Morgan, 1913)), pri čemu se spinetoram pokazao učinkovitim u dvostruko manjoj dozi od spinosada (Bacci i sur., 2016). Iako su lokalni sistemici, dodatkom surfaktanata povećava se njihova apsorpcija u biljno tkivo pa tako djeluju i na lisne minere (Larson, 1997). Uspješno suzbijaju i muhe, primjerice vrstu *Bactrocera oleae* (Gmelin, 1790), no istraživanja su pokazala da se spinosad zadržava u maslinama tijekom prerade (Angioni i sur., 2011). Spinosad je testiran i za suzbijanje vrste *Rhagoletis cerasi* (Linnaeus, 1758), a korišten je u voćnim hranidbenim mamcima zajedno s entomopatogenim nematodama (Daniel i Grunder, 2012). Također, voće tretirano spinosadom, uz koji su korišteni i mamci, bilo je osam puta manje oštećeno nego pri primjeni nekih drugih „privuci i ubij“ metoda u suzbijanju vrste *Ceratitidis capitata* (Wiedeman, 1824) (Navarro-Llopis i sur., 2013).

Brojna laboratorijska i poljska istraživanja na različitim vrstama skladišnih štetnika iz redova Coleoptera i Lepidoptera dokazala su učinkovitost spinosada i spinetorama u njihovom suzbijanju, dok su neke vrste, poput *Sitophilus zeamais* Motchulsky, 1855, *S. oryzae* (Linnaeus, 1763), *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus, 1758) i *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, 1868, bile različito osjetljive (Hertlein i sur., 2011). Spinetoram se pokazao učinkovitijim od imidakloprida, tiametoksama i klorantraniliprola u suzbijanju vrste *Tribolium castaneum* (Herbst, 1787) (Vassilakos i Athanassiou, 2013).

Spinosad u preporučenim dozama nije učinkovit protiv grinja (Thompson i sur., 2000), što je važno u očuvanju grinja koje su prirodni neprijatelji. Djelovanje protiv grinja iskazuje u zaštićenim prostorima, a u polju je ono slabo (zbog fotolabilnosti i slabog prodora u grinje) (Crouse i sur., 2001). Spinetoram se pak pokazao puno učinkovitijim u suzbijanju grinja u usporedbi s abamektinom, drugim naturalitom širokog spektra djelovanja (El-Kady i sur., 2007).

Uspoređujući s regulatorima rasta i razvoja (IGR), lufenuron, klorfluazuron i metoksifenozid bili su gotovo deset puta učinkovitiji od spinosada, odnosno oko dva puta učinkovitiji od spinetorama u suzbijanju vrste *Spodoptera littoralis* Boisduval, 1833 (Bacci i sur., 2016). Zapaženo je uzajamno djelovanje spinosina i IGR-a, pri čemu je kombinacija spinosada i IGR-a imala veće potencirajuće djelovanje nego kombinacija spinetorama i IGR-a. Također, smjese su bile otrovnije kada je koncentracija spinosada ili spinetorama u njima bila veća od koncentracije IGR-a (Rahman i Abou-Taleb, 2007).

Uspoređujući s metoksifenozidom i klorantraniliprolom, spinetoram se pokazao učinkovitim u suzbijanju vrste *Eupoecilia ambiguella* (Hübner, 1796), a još je učinkovitiji na vrstu *Lobesia botrana* (Denis i Schiffermüller, 1775) (Forte i sur., 2014). Od ostalih važnijih štetnika zabilježena je učinkovitost spinetorama u suzbijanju vrsta *Cacopsylla pyri* (Linnaeus, 1761), *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758), *C. molesta* (Busck, 1916) i *Pandemis cerasana* Hübner, 1786 (Boselli i

Scannavini, 2014; Tescari i sur., 2014). Spinosad se pokazao deset puta učinkovitiji od novalurona u suzbijanju vrste *Tessaratoma javanica* (Thunberg, 1783) (Choudhary i sur., 2015).

Spinosad je u Hrvatskoj registriran kao kontaktno-probavni insekticid za suzbijanje štetnika na krumpiru i vinovoj lozi. Smije se koristiti i protiv raznih drugih štetnika koji se javljaju na jabuci, paprici i krastavcima u zaštićenom prostoru, na jagodi, luku, češnjaku, kupusnjačama i brojnim drugim kulturama. Kao insekticidni mamac s atraktantom spinosad se koristi za suzbijanje štetnika (maslinina muha, mediteranska voćna muha i voćne muhe) u maslinama i agrumima (Bažok, 2018; FIS, 2018). Spinectoram je također dopušten za uporabu u Hrvatskoj kao insekticid namijenjen suzbijanju štetnika (grožđani moljci, savijači, tripsi, vinske mušice) u vinogradarstvu i suzbijanju štetnika (breskvini i jabukov savijač, obična kruškina buha i drugi) u voćarstvu (Bažok, 2018; FIS, 2018).

REZISTENTNOST I UNAKRSNA REZISTENTNOST

Pojava štetnika rezistentnih na insekticide događa se najčešće kada se dugotrajno primjenjuju insekticidi istog mehanizma djelovanja (Roush i Tabashnik, 1991). Rezistentnost štetnika na spinosad i spinectoram u početku primjene nije bila očekivana jer je njihov mehanizam djelovanja različit od bilo kojeg do sada poznatog mehanizma (Kirst, 2010). No, kao u slučaju drugih insekticida, pretpostavljalo se da će kontinuirana primjena selektivnim pritiskom vjerojatno dovesti do razvoja rezistentnosti. Stoga je otkrivanju rezistentnosti na spinosine pristupljeno strateški kako bi se umanjila mogućnost njenog razvoja i širenja te na taj način doprinijelo razvoju antirezistentnih strategija (Salgado i Sparks, 2010).

Provedeni su brojni laboratorijski pokusi u kojima je namjerno izazvana i dokazana rezistentnost na spinosine. Primjerice, rezistentnost na spinosad izazvana je u laboratoriju kod vrste *H. virescens* nakon uzgoja 14 generacija prema specifičnom protokolu (Bailey i sur., 1999). Slično je postignuto i kod vrste *Musca domestica* Linnaeus, 1758 (Shono i Scott, 2003). Neke su studije potvrdile pojavu rezistentnosti prvo u laboratoriju, a zatim i u polju, primjerice kod vrsta *D. melanogaster*, *Liriomyza trifolii* (Burgess 1880), *H. armigera* i *F. occidentalis* (Sparks i sur., 2012). Jedan od prvih slučajeva pojave rezistentnosti na spinosad zabilježen je kod poljske populacije vrste *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) na Havajima koja je razvila rezistentnost 2000. godine, odnosno 2,5 godine nakon intenzivne primjene spinosada (Zhao i sur., 2002). U istom je istraživanju dokazana i rezistentnost vrste *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) na Tajlandu, s tim da su postojale razlike u osjetljivosti između navedenih vrsta (*S. exigua* bila je 85 puta manje osjetljiva, dok je *P. xylostella* bila čak 13100 puta manje osjetljiva na spinosad) (Zhao i sur., 2002). Nedugo nakon toga rezistentnost na spinosad ustanovljena je kod poljske populacije

vrste *P. xylostella* u Maleziji (Sayyed i sur., 2004) i vrste *L. trifolii* prikupljene u staklenicima u SAD-u (Ferguson, 2004). U staklenicima u Australiji zabilježena je prva pojava manjeg udjela rezistentnih populacija tripsa vrste *F. occidentalis* (Herron i James, 2005), dok je učestala primjena spinosada (više od deset primjena po kulturi) u staklenicima u Španjolskoj (Bielza i sur., 2007) i u poljskim populacijama u Kini (Li i sur., 2016) dovela do razvoja rezistentnih populacija tripsa. Istraživanja su pokazala da su neuroni rezistentnih kukaca manje osjetljivi na spinosine (Roe i sur., 2010), odnosno da je rezistentnost na spinosine vezana uz mutacije u receptorima (podjedinicama) na koje se oni vežu (Wang i sur., 2016).

Drugi je problem koji se može pojaviti unakrsna rezistentnost kada štetniku mehanizam rezistentnosti omogući da bude rezistentan i na insekticide drukčijeg mehanizma djelovanja. Do danas je provedeno više od 90 istraživanja kojima je ispitana unakrsna rezistentnost na spinosine kod štetnika za koje je poznato da su rezistentni na velik broj drugih insekticida. Ustanovljena je nikakva ili vrlo niska razina unakrsne rezistentnosti za spinosad i spinetoram (Sparks i sur., 2012). Jedan je od rijetkih zabilježenih slučajeva unakrsna rezistentnost na *Bacillus sphaericus* kod populacija rezistentnih na spinosad (Su i Cheng, 2014).

ZAKLJUČCI

Spinosini predstavljaju važnu grupu insekticida učinkovitih u suzbijanju ekonomski važnih štetnika. Komercijalno se koriste spinosad i spinetoram. Zahvaljujući selektivnosti i jedinstvenom mehanizmu djelovanja, imaju široku primjenu, a ponekad su i jedina alternativa u odnosu na druge insekticide. Kontaktno i želučano djelovanje omogućuje im primjenu u suzbijanju štetnike iz različitih redova, a najučinkovitiji su protiv gusjenica leptira. Ekološki su vrlo prihvatljivi te je u EU-u dopuštena uporaba u ekološkoj proizvodnji. Rezistentnost je rijetko zabilježena, no njen je razvoj moguć pa bi spinosine valjalo kombinirati ili izmjenjivati s insekticidima drugog mehanizma djelovanja. Otkrića spinetorama, butenil-spinosina i ciklobutil-spinosina pokazuju da postoje brojni potentniji analozi spinosada te da se daljnjim istraživanjima mogu naći ili stvoriti spinosini još jačeg djelovanja. Otkriće i komercijalni razvoj spinosina primjer je uspjeha ispunjavanja potencijala prirodnih produkata u pronalaženju novih, komercijalno korisnih i vrijednih proizvoda koji se mogu koristiti u integriranoj zaštiti bilja.

LITERATURA

ANGIONI, A., PORCU, L., PIRISI, F. (2011). LC/DAD/ESI/MS Method for the Determination of Imidacloprid, Thiacloprid, and Spinosad in olives and olive oil after field treatment. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59, 20: 11359-11366.

BACCI, L., LUPI, D., SAVOLDELLI, S., ROSSARO, B. (2016). A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. *J. Entomol. Acarol. Res.*, Vol. 48, 1: 40-52.

BAILEY, W. D., YOUNG, H. P., ROE, R. M. (1999). Laboratory selection of a Tracer® resistant strain of tobacco budworm and comparisons with field selected strains from the southeastern. ed. Dugger P., Richter D. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, Orlando, Florida, 3-7. 1. 1999., pp 1221-1224.

BAŽOK, R. (2018). Zoocidi. U: Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2018. godinu (R. Bažok ur.). *Glasilo biljne zaštite*, Vol. 18, 1-2: 13-103.

BIELZA, P., QUINTO, V., CONTRERAS, J., TORNÉ, M., MARTÍN, A., ESPINOSA, P. J. (2007). Resistance to spinosad in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in greenhouses of south-eastern Spain. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 63, 7:682-7.

BOSELLI, M., SCANNAVINI, M. (2014). Efficacia di Spineteram (Delegate Wg) nei confronti dei principali insetti dannosi al pero. ed. Brunelli, A., Collina, M., Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014., Vol. 1: 27-36.

BRET, B. L., LARSON, L. L., SCHOONOVER, J. R., SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D. (1997). Biological properties of spinosad. *Down to Earth*, Vol. 52: 6-13.

BROUGHTON, S., HARRISON, J., RAHMAN, T. (2014). Effect of new and old pesticides on *Orius armatus* (Gross) - an Australian predator of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Manage. Sci.*, Vol. 70, 3: 389-397.

CHOUDHARY, J., MOANARO, S., NAAZ, N., IDRIS, M. D. (2015). Determination bio-efficacy of insecticides against litchi stink bug, *Tessaratoma javanica* (Thunberg) (Hemiptera: Tessaratomidae): an emerging major pest of litchi, *Litchi chinensis* Sonn. *Bioscan*, Vol. 10, 1: 217-222.

CLEVELAND, C. B., MAYES, M. A., CRYER, S. A. (2001). An ecological risk assessment for spinosad use on cotton. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 58, 1: 70-84.

CONSOLI, F. L., BOTELHO, P. S. M., PARRA, J. R. P. (2001). Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym., Trichogrammatidae). *J. App. Entomol.*, Vol. 125, 1-2: 37-43.

COTE, K. W., EDWIN, E. L., SCHULTZ, P. B. (2002). Compatibility of acaricide residues with *Phytoseiulus persimilis* and their effects on *Tetranychus urticae*. *HortSci.*, Vol. 37, 6: 906-909.

CROUSE, G. D., SPARKS, T. C., SCHOONOVER, J., GIFFORD, J., DRIPPS, J., BRUCE, T., LARSON, L. L., GARLICH, J., HATTON, C., HILL, R. L., WORDEN, T. V., MARTYNOW, J. G. (2001). Recent advances in the chemistry of spinosyns. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 57, 2: 177-185.

CROUSE, G. D., DRIPPS, J. E., ORR, N., SPARKS, T. C., WALDRON, C. (2007). DE-175 (spinetoram), a new semi-synthetic spinosyn in development. U: Modern Crop Protection Compounds, Vol. 3 (W. Kramer i U. Schirmer ur.). Weinheim, Germany. Wiley - VCH, pp 1013–1031.

CROUSE, G. D., DEMETER, D. A., SAMARITONI, G., MCLEOD, C. L., SPARKS, T. C. (2018). De Novo Design of Potent, Insecticidal Synthetic Mimics of the Spinosyn Macrolide Natural Products. *Sci. Rep.-UK*, Vol. 8, 1: 4861.

DANIEL, C., GRUNDER, J. (2012). Integrated management of European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (L.): situation in Switzerland and Europe. *Insects*, Vol. 3, 4: 956-988.

DEAMICIS, C. V., DRIPPS, J. E., HATTON, C. J., KARR, L. L. (1997). Physical and biological properties of the spinosyns: novel macrolide pest control agents from fermentation. U: *Phytochemicals for Pest Control* (P. A. Hedin, R. Hollingworth, E. P. Masler, J. Miyamoto, D. Thompson ur.). Washington, DC, SAD. American Chemical Society, pp 144-154.

DEMAIN, A. L., SANCHEZ, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J. Antibiot.*, Vol. 62, 1: 5-16.

DRIPPS, J., OLSON, B., SPARKS, T., CROUSE, G. (2008). Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress*, (<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/>), pristupljeno 23. studenog 2018.

DUCHET, C., FRANQUET, E., LAGADIC, L., LAGNEAU, C. (2015). Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* and spinosad on adult emergence of the non-biting midges *Polypedilum nubifer* (Skuse) and *Tanytarsus curticornis* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in coastal wetlands. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, Vol. 115: 272-278.

EGTOP (2016). Final report on plant protection (III), Expert Group for Technical Advice on Organic Production, European Commission, (https://ec.europa.eu/agriculture/organic/sites/orgfarming/files/egtop_plant_protection_iii-2016-10-26-definitive_version.pdf), pristupljeno 17. studenog 2018.

EL-KADY, G. A., EL-SHARABASY, H. M., MAHMOUD, M. F., BAHGAT, I. M. (2007). Toxicity of two potential bio-insecticides against moveable stages of *Tetranychus urticae* Koch. *J. Appl. Sci. Res.*, Vol. 3, 11: 1315-1319.

ELZEN, G. W., ELZEN, P. J., KING, E. G., DUGGER, P., RICHTER, D. (1998). Laboratory toxicity of insecticide residues to *Orius insidiosus*, *Geocoris punctipes*, *Hippodamia convergens*, and *Chrysoperla carnea*. *Southwest. Entomol.*, Vol. 23: 335-343.

EPA (1997). Spinosad - 110003, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-110003_9-Jan-97_015.pdf), pristupljeno 25. studenog 2018.

EPA (1999). Pesticide Fact Sheet: Spinosad, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-110003_19-Jul-99.pdf), pristupljeno 27. studenog 2018.

EPA (2009a). Pesticide Fact Sheet: Spinosad, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-110003_4-May-09_a.pdf), pristupljeno 27. studenog 2018.

EPA (2009b). Pesticide Fact Sheet: Spinetoram, Environmental Protection Agency, (https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_G-4674_01-Oct-09.pdf), pristupljeno 28. studenog 2018.

FERGUSON, J. S. (2004). Development and stability of insecticide resistance in the leafminer *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) to cyromazine, abamectin, and spinosad. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 97, 1: 112-119.

FIS (2018). Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja, Ministarstvo poljoprivrede, (<https://fis.mps.hr/trazilicaszb/>), pristupljeno 5. prosinca 2018.

FORTE, V., ANGELINI, E., CRESTANI, D., PATRIARCA, E., GANZINI, L., PAVAN, F. (2014). Attività di metoxyfenozide e spinetoram contro le tignole della vite nell'Italia Nord-Orientale. ed. Brunelli, A., Collina, M., Atti, *Giornate Fitopatologiche*, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014., 1: 147-156.

GRAUPNER, P. R., MARTYNOW, J., ANZEVENO, P. B. (2005). Spinosyn G, proof of structure by semisynthesis. *J. Org. Chem.*, Vol. 70, 6: 2154-2160.

HERRON, G. A., JAMES, T. M. (2005). Monitoring insecticide resistance in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) detects fipronil and spinosad resistance. *Aust. J. Entomol.*, Vol. 44, 3: 299-303.

HERTLEIN, M. B., THOMPSON, G. D., SUBRAMANYAM, B., ATHANASSIOU, C. G. (2011). Spinosad: a new natural product for stored grain protection. *J. Stored Prod. Res.*, Vol. 47, 3: 131-146.

HUANG, K. X., XIA, L., ZHANG, Y., DING, X., ZAHN, J.A. (2009). Recent advances in the biochemistry of spinosyns. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 82, 1: 13-23.

IRAC (2018). The IRAC Mode of Action Classification, Insecticide Resistance Action Committee, (<https://www.irac-online.org/modes-of-action/>), pristupljeno 10. studenog 2018.

KIRST, H. A., MICHEL, K. H., MYNDERSE, J. S., CHAO, E. H., YAO, R. C., NAKATSUKASA, W. M., BOECK, L. D., OCCLOWITZ, J., PASCHEL, J. W., DEETER, J. B., THOMPSON, G. D. (1992). Discovery, isolation and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation- derived tetracyclic macrolides. U: Synthesis and chemistry of Agrochemicals (D. R. Baker, J. G. Fenyes, J. J. Steffens ur.). Washington, DC, SAD. American Chemical Society, Vol. 3: 214-225.

KIRST, H. A., MICHEL, K. H., MYNDERSE, J. S., CHIO, E. H., YAO, R. C., NAKATSUKASA, W. M., BOECK, L., OCCLOWITZ, J. L., PASCHAL, J. W., DEETER, J. B., THOMPSON, G. D. (1993). Discovery and Identification of a novel fermentation derived insecticide. U: Development in Industrial Microbiology Series: Microbial Metabolites (W. C. Brown ur.). Washington, DC, SAD. Society for Industrial Microbiology, Vol. 32, pp 109-116.

KIRST, H. A. (2010). The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J. Antibiot.*, Vol. 63, 3:101-111.

KOLLMAN, W. S. (2002). Environmental fate of Spinosad, (https://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/spinosad_fate.pdf), pristupljeno 1. prosinca 2018.

KORNIS, G. I. (1995). Avermectins and milbemycins. U: Agrochemicals from Natural Products (C. R. A. Godfrey ur.). New York, SAD. Marcel Dekker, pp 215-255.

LARSON, L. L. (1997). Effects of adjuvants on the activity of Tracer® 480SC on cotton in the laboratory. *Arthropod Management Tests*, Vol. 22, 1: 415-416.

LEONARD, B. R., GRAVES, J. B., BURRIS, E., MICINSKI, S., MASCARENHAS, V., MARTIN, S. H. (1996). Evaluation of selected commercial and experimental insecticides against lepidopteran cotton pests in Louisiana. ed. Dugger P., Richter D. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, Nashville, TN, 9-12. 2. 1996., pp 285-830.

LEWER, P., HAHN, D. R., KARR, L. L., DUEBELBEIS, D. O., GILBERT, J. R., CROUSE, G. D., WORDEN, T., SPARKS, T. C., EDWARDS, P. M., GRAUPNER, P. R. (2009). Discovery of the butenyl-spinosyn insecticides: novel macrolides from the new bacterial strain *Saccharopolyspora pogona*. *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 17, 12: 4185-4196.

LI, D.-G., SHANG, X.-Y., REITZ, S., NAUEN, R., LEI, Z.-R., LEE, S. H., GAO, Y.-L. (2016). Field resistance to spinosad in western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *J. Integr. Agr.*, Vol. 15, 12: 2803-2808.

MERTZ, F. P., YAO, R. C. (1990). *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Int. J. System. Bacteriol.*, Vol. 40, 1: 34-39.

MILES, M. (2003). The effects of spinosad, a naturally derived insect control agent to the honeybee. *Bull. Insectol.*, Vol. 56, 1: 119-124.

NASREEN, A., ASHFAQ, M., MUSTAFA, G. (2000). Intrinsic toxicity of some insecticides to egg parasitoid *Trichogramma chilonis* (Hym. Trichogrammatidae). *Bull. Inst. Trop. Agric.*, Vol. 23: 41-44.

NAVARRO-LLOPIS, V., PRIMO, J., VACAS, S. (2013). Efficacy of attract-and-kill devices for the control of *Ceratitidis capitata*. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 69, 4: 478-482.

OHTA, I., TAKEDA, M. (2015). Acute toxicities of 42 pesticides used for green peppers to an aphid parasitoid, *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Braconidae), in adult and mummy stages. *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 50, 2: 207-212.

ORR, N., SHAFFNER, A. J., RICHEY, K., CROUSE, G. D. (2009). Novel mode of action of spinosad: receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 95, 1: 1-5.

PERRY, T., SOMERS, J., TING YANG, Y., BATTERHAM, P. (2015). Expression of insect $\alpha 6$ -like nicotinic acetylcholine receptors in *Drosophila melanogaster* highlights a high level of conservation of the receptor: spinosyn interaction. *Insect Biochem. Molec.*, Vol. 64: 106-115.

PPDB (2018). Spinetoram (Ref: XDE 175), Pesticide Properties DataBase, <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/1144.htm> (pristupljeno 29. 11. 2018.)

RAHMAN, S. M. A., ABOU-TALEB, H. K. (2007). Joint toxic action of spinosad and spinetoram with certain IGR compounds against cotton leafworm. *Alexandria J. Agric. Res.*, Vol. 52, 3: 45-51.

ROE, R. M., YOUNG, H. P., IWASA, T., WYSS, C. F., STUMPF, C. F., SPARKS, T. C., WATSON, G. B., SHEETS, J. J., THOMPSON, G. D. (2010). Mechanism of resistance to spinosyn in the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 96, 1: 8-13.

ROUSH, R. T., TABASHNIK, B. E. (1991). *Pesticide resistance in Arthropods*, New York, Springer US.

SALGADO, V. L. (1998). Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 60, 2: 91-102.

SALGADO, V. L., SAAR, R. (2004) Desensitizing and non-desensitizing subtypes of alpha-bungarotoxin sensitive nicotinic acetylcholine receptors in cockroach neurons. *J. Insect Physiol.*, Vol. 50, 10: 867-879.

SALGADO, V. L., SPARKS, T. C. (2010). The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance. U: *Insect Control: Biological and Synthetic Agents* (L. I. Gilbert, S. S. Gill ur.). London, UK. Academic Press, pp 207-243.

SAUNDERS, D. G., BRET, B. L. (1997). Fate of spinosad in the environment. *Down to Earth*, Vol. 52, 1:14-20.

SAYYED, A. H., OMAR, D., WRIGHT, D. J. (2004). Genetics of spinosad resistance in a multi-resistant field-selected population of *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 60, 8: 827-832.

SCOTT-DUPREE, C. D., CONROY, L., HARRIS, C. R. (2009). Impact of currently used or potentially useful insecticides for canola agroecosystems on *Bombus impatiens* (Hymenoptera: Apidae), *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae), and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 102, 1: 177-182.

SHIMOKAWATOKO, Y., SATO, N., YAMAGUCHI, Y., TANAKA, H. (2012). Development of the novel insecticide spinetoram (Diana®). *Sumitomo Kagaku*, 1-14.

SHONO, T., SCOTT, J. G. (2003). Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 75, 1-2: 1-7.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., LARSON, L. L., KIRST, H. A., JANTZ, O. K., WORDEN, T. V., HERTLEIN, M. B., BUSACCA, J. D. (1995). Biological characteristics of the spinosyns: new naturally derived insect control agents. ed. Richter D. A., Armour J. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, Texas, 4-7. 2. 1995.*, pp 903-907.

SPARKS, T. C., KIRST, H. A., MYNDERSE, J. S., THOMPSON, G. D., TURNER, J. R., JANTZ, O. K., HERTLEIN, M. B., LARSON, L. L., BAKER, P. J., BROUGHTON, M. C., BUSACCA, J. D., CREEMER, L. C., HUBER, M. L., MARTIN, J. W., NAKATSUKASA, W. M., PASCHAL, J. W., WORDEN, T. V. (1996). Chemistry and biology of the spinosyns: components of spinosad (Tracer®), the first entry into DowElanco's naturalyte class of insect control products. ed. Dugger P., Richter D. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, Nashville, TN, 9-12. 2. 1996.*, pp 692-696.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., KIRST, H. A., HERTLEIN, M. B., LARSON, L. L., WORDEN, T. V., THIBAUT, S. T. (1998). Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 91, 6: 1277-1283.

SPARKS, T. C., THOMPSON, G. D., KIRST, H. A., HERTLEIN, M. B., MYNDERSE, J. S., TURNER, J. R., WORDEN, T. V. (1999). Fermentation derived insect control agents – the spinosyns. *U: Biopesticides Use and Delivery* (F. Hall, J. J. Menn ur.). Totowa, NJ, SAD. Humana Press, pp 171-188.

SPARKS, T. C., CROUSE, G. D., DURST, G. (2001). Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure–activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest. Manag. Sci.*, Vol. 57, 10: 896-905.

SPARKS, T. C., DRIPPS, J. E., WATSON, G. B., PAROONAGIAN, D. (2012). Resistance and cross-resistance to the spinosyns - A review and analysis. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 102, 1: 1-10.

STEVENS, M. M., HELLIWELL, S., HUGHES, P. A. (2005). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations, spinosad, and selected synthetic insecticides to *Chironomus tepperi* larvae. *J. Am. Mosquito Control Assoc.*, Vol. 21, 4: 446-450.

SU, T., CHENG, M. L. (2014). Cross resistances in spinosad-resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, Vol. 51, 2: 428-435.

TESCARI, E., CHLORIDIS, A., BACCI, L., BRADASCIO, R., GIBERTI, A. (2014). Spinetoram (Delegate®, Radiant®), Nuovo insetticida ad ampio spettro d'azione. ed. Brunelli, A., Collina, M., *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (Siena), 18-21. 3. 2014.*, Vol. 1: 11-20.

THOMPSON, G. D., BUSACCA, J. D., JANTZ, O. K., KIRST, H. A., LARSON, L. L., SPARKS, T. C. (1995). Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. ed. Richter D. A., Armour J. *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, San Antonio, Texas, 4-7. 2. 1995.*, pp 1039-1043.

THOMPSON, G. HUTCHINS, S. (1999). Spinosad. *Pestic. Outlook*, 10: 78-81.

THOMPSON, G. D., DUTTON, R., SPARKS, T. C. (2000). Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.*, Vol. 56, 8: 696-702.

TILLMAN, P. G., MULROONEY, J. E. (2000). Effects of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. J. Econ. Entomol., Vol. 93, 6: 1638-1643.

VASSILAKOS, T. N., ATHANASSIOU, G. C. (2013). Effect of temperature and relative humidity on the efficacy of spinetoram for the control of three stored product beetle species. J. Stored Prod. Res., Vol. 55: 73-77.

WANG, J., WANG, X., LANSDELL, S. J., ZHANG, J., MILLAR, N. S., WU, Y. (2016). A three amino acid deletion in the transmembrane domain of the nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 6$ subunit confers high-level resistance to spinosad in *Plutella xylostella*. Insect Biochem. Molec., Vol. 71: 29-36.

WATSON, G. B. (2001). Actions of insecticidal spinosyns on g-aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. Pestic. Biochem. Phys., Vol. 71, 1: 20-28.

WILLIAMS, T., VALLE, J., VINUELA, E. (2003). Is the naturally derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies? Biocontrol Sci. Techn., Vol. 13, 5: 459-475.

ZHAO, J. Z., LI, Y. X., COLLINS, H. L., GUSUKUMA-MINUTO, L., MAU, R. F. L., THOMPSON, G. D., SHELTON, A. M. (2002). Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. J. Econ. Entomol., Vol. 95, 2: 430-436.

UPUTE ZA PRIPREMU RUKOPISA

Tematsko područje časopisa

Časopis objavljuje aktualne i inovativne izvorne znanstvene radove (Original Scientific Paper), pregledne radove (Review), prethodna priopćenja (Preliminary Communication) koji donose nove spoznaje iz područja zaštite bilja (biologija, ekologija i suzbijanje štetnih organizama, fitofarmacija, aplikacija sredstava za zaštitu bilja, invazivne vrste i sl.).

Vrste radova

Izvorni znanstveni rad (Original Scientific Paper) predstavlja djelo koje je rezultat znanstvenog istraživanja primjenom znanstvenih metoda. Otkriva nepoznate činjenice i odnose te objašnjava zakonitosti među pojavama. Pridonosi povećanju znanstvenih spoznaja. Opseg rada treba iznositi 10-15 stranica. Sastavnice i redoslijed rada su:

NASLOV RADA na jeziku rada. Treba biti kratak i informativan. Treba izbjegavati suvišne riječi.

SAŽETAK rada na jeziku rada. Može sadržavati do 250 riječi i piše se u jednom pasusu. Treba sadržavati kratki opis istraživanja, materijala i metoda i važnije rezultate rada.

Nomenklatura nije obvezni dio rada. Navedeni nomenklturni podaci mogu biti korisni kod pretraživanja radova i omogućuju veću citiranost rada. Ukoliko autor želi, unosi sljedeće podatke: narodni naziv (common name) istraživane vrste (kulturne i divlje), znanstveni naziv (latinski) s naznakom autora naziva, nazive istraživanih kemijskih supstanci i eventualno važnu kraticu pojma (ovisno o vrsti rada). Piše se iznad Ključnih riječi.

Ključne riječi (3-5) na jeziku rada poredane abecednim redom. Ako je moguće, treba izbjegavati riječi iz naslova rada.

NASLOV RADA na engleskom jeziku. Ako je rad pisan na engleskom jeziku, naslov rada na hrvatskom jeziku.

SUMMARY na engleskom jeziku ili **SAŽETAK** na hrvatskom jeziku ako je rad pisan na engleskom jeziku.

Nomenclature: ukoliko se piše nomenklatura na hrvatskom, obvezno je pisanje i na engleskom jeziku.

Key words na engleskom jeziku ili **Ključne riječi** ako je rad pisan na hrvatskom jeziku.

UVOD treba ukratko iznijeti ideju i cilj istraživanja. U uvodu objasniti konkretni problem, opisati ga te razjasniti što je do sada istraženo i s kakvim uspjehom. Završava ciljem i svrhom istraživanja.

MATERIJALE I METODE RADA treba kratko i dovoljno informativno izložiti. Detaljnije se opisuju samo nove originalne ili modificirane metode. Za poznate metode i tehniku istraživanja navodi se samo izvor (autor i godina objave).

REZULTATI RADA I RASPRAVA mogu biti u jednom ili razdvojenim poglavljima. Važno je ne iznositi iste podatke (rezultate) na različite načine (tablično, grafikonom i tekstualno).

ZAKLJUČCI trebaju pružiti kratku i jasnu sliku istraživanja. Navesti samo što je postignuto istraživanjem u skladu s ciljem istraživanja.

Zahvala, ev. zahvala za pomoć u radu osobama koje nisu autori rada ili za financijsku podršku istraživanju. Piše se nakon Zaključaka a prije Popisa literature.

LITERATURA treba biti popisana (samo ona citirana u radu) prema harvardskom sustavu. Autore treba poredati abecednim redom, bez numeriranja. Više radova istog autora navode se kronološkim redom. Više radova istog autora u istoj godini označavaju se uz godinu slovima, a redosljed radova se navodi abecednim redom po nazivu rada. Nazive časopisa treba skraćivati prema pravilima (npr. link http://images.webofknowledge.com/images/help/WOS/G_abrvjt.html) a nazive za koje nije definirana skraćunica treba pisati u punom nazivu.

Ovisno o izvoru (članak iz časopisa, knjiga, poglavlje u knjizi, online izvor i dr.), literaturu treba pravilno popisati i citirati u tekstu rada. Budući da je danas dostupno sve više online izvora literature, nužno je naglasiti da je online izvor a nakon navođenja URL adrese navesti datum pristupanja izvoru.

Treba izbjegavati sekundarno citiranje i citiranje online radova kojima nije poznat autor.

Kod citiranja izvora literature u tekstu rada, obvezno je pravilno citiranje izvora ovisno o broju autora (jedan, dva ili više od dva autora). Autori se navede bez imena i titule.

Broj autora treba biti umjeren i u skladu s opsegom rada.

Primjeri popisivanja literature:

- **članak u časopisu:** LEMIĆ, D., BAŽOK, R. (2011). Prednosti i nedostaci insekticida iz skupine regulatora rasta i razvoja kukaca za primjenu u integriranoj zaštiti bilja. *Fragm. Phytomed. Herbolog.*, Vol. 31, 1-2: 82-99.

- **elektronički oblik članka u časopisu:** isto kao prethodno a iza broja stranice, dodati mrežnu stranicu i (pristupljeno: datum)

- **knjige:** ORAIĆ TOLIĆ, D. (2011). *Akademsko pismo: Strategije i tehnike klasične retorike za suvremene studentice i studente*, Zagreb, Naklada Ljevak d.o.o.

(kad knjiga ima dva naslova piše se na prikazani način, glavni naslov se odvaja dvotočkom ispred drugog naslova)

- **knjige dostupne online:** sve isto kao prethodno i: iza naslova dodati (e-knjiga ili online); iza izdavača dodati mrežnu stranicu i (pristupljeno: datum).

- **poglavlje u knjizi:** IVIĆ, D., KRISTEK, A. (2015). *Gljivične bolesti šećerne repe. U: Šećerna repa: Zaštita od štetnih organizama u sustavu integrirane biljne*

proizvodnje (R. Bažok ur.). Zagreb. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, pp 66-95.

- znanstveni i stručni rad/sažetak u konferencijskom zborniku:

GALZINA, N., ŠĆEPANOVIĆ, M., GORŠIĆ, M., BARIĆ, K., OSTOJIĆ, Z. (2007). Učinak reduciranih doza herbicida na broj i masu korova u kukuruzu. ed. Pospišil Milan, Zbornik radova 42. Hrvatski i 2. međunarodni simpozij agronoma, Opatija, 13-16. 2. 2007., pp. 641-645.

- diplomski rad/ magistarski rad/disertacija:

LIPOVSKI, A. (2015). Peterojezični rječnik najvažnijih korovnih vrsta. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

- publikacije nacionalnih i internacionalnih organizacija/institucija/asocijacija (najčešće dostupno online):

- poznat autor i datum.: STREIBIG, J. C. (2003). Assessment of herbicide effects. European Weed Research Society, http://www.ewrs.org/et/docs/herbicide_interaction.pdf (pristupljeno: 21. 1. 2017.)

- nije poznat autor i datum: European Weed Research Society (n.d.). Crop-weed interactions working group, http://www.ewrs.org/crop-weed_interactions.asp, (pristupljeno: datum)

- nije poznat autor: Anonymous (godina/ili n.d.). Naslov. mrežna stranica (pristupljeno: datum)

Primjeri citiranja izvora u tekstu:

- dva autora: (Ivić i Kristek, 2015) ili u engl. verziji rada (Ivić & Kristek, 2015)

- više od dva autora: Bažok i sur., 2015 ili u engl. verziji rada (Bažok et al., 2015) Upute za popis i citiranje literature su jedinstvene za sve oblike radova.

Pregledni rad (Review) sadrži cjelovit prikaz problema. Sastoji se od analiziranih i sintetiziranih prikupljenih već objavljenih znanstvenih spoznaja i informacija. Treba sadržavati: Naslov, Sažetak, Summary, Uvod i Zaključke prema navedenim uputama. Sadržajna organizacija rada primjerena je temi rukopisa koju određuje autor. Opseg rada nije ograničen.

Prethodno priopćenje (Preliminary Communication) ili znanstvena bilješka je oblik znanstvenog rada koji sadrži znanstvene spoznaje i rezultate koji su vrijedni objave. Organizacija rada ne mora sadržavati sva poglavlja izvornog znanstvenog rada.

Tehnička priprema rukopisa

Tekstovi trebaju biti napisani na hrvatskom ili engleskom jeziku. Tekst rada treba pisati u MS Wordu dvostrukim proredom. Sve margine trebaju iznositi 2,5 cm. Potrebna je kontinuirana numeracija redova rada. Tip slova Times New Roman, veličine fonta 11.

Naslov rada, imena autora i naslovi poglavlja trebaju biti centrirani.

Ispod naslova, navesti puno ime i prezime (prezime velikim tiskanim slovima) autora i instituciju gdje je autor/i zaposlen. Ispod institucije navesti adresu elektronske pošte autora zaduženog za komunikaciju s Uredništvom. Sve navedeno (naslov i ostali podaci) treba biti centrirano.

Naslovi, zaglavlje i opis tablica, crteža, grafikona, slika i shema u radu pisanom na hrvatskom jeziku trebaju biti prevedeni i na engleski jezik, i obrnuto.

Tablice, grafikoni ili slike šalju se kao zasebne datoteke te se izostavljaju iz glavnog rukopisa. U rukopisu naznačuju se samo naslovi (legende) tablica, grafikona ili slika na mjestu u tekstu gdje bi trebale stajati.

Nazive tablica treba pisati u novi pasus iznad tablice. Tablice trebaju sadržavati samo najvažnije podatke, koji nisu prikazani, grafički i tekstem.

Nazivi grafikona, crteža i slika pišu se ispod objekata. I objekti i nazivi trebaju biti centrirani. Boldirati samo riječi tablica, grafikon, crtež, slika, naziv ne. Poželjno je koristiti vlastite originalne slike.

Grafikoni se dodatno predaju u Excel formatu, a crteži i slike kao JPEG ili TIFF formatu s minimalnom rezolucijom od 400 dpi.

Tablice, grafikoni, crteži i slike označavaju se arapskim brojevima.

Kratice u rukopisu trebaju biti međunarodno prihvaćene. Koristiti Međunarodni sustav jedinica (SI sustav). Složene jedinice odvajaju se kosom crtom (kg/ha, m/s i sl.). Biološki pojmovi trebaju biti međunarodno prihvaćeni. Latinske nazive vrsta i rodova pisati u kurzivu (italic) a pri prvom navođenju imena vrste obavezno je navođenje autora. Kasnije u tekstu naziv roda može se kratiti na početno slovo.

Predložak rada može se vidjeti na mrežnoj stranici Hrvatskog društva biljne zaštite (<http://hdbz.hr/fragmenta/>).

Procedura objave rada

Uredništvo preliminarno procjenjuje tematsku prikladnost i tehničko udovoljavanje rukopisa za časopis. Uredništvo odabire dva recenzenta i upućuje im rukopis i obrazac za recenziju. Autor e-poštom dobiva obavijest da je rad prihvaćen i poslan na recenziju. Recenzenti će biti zamoljeni da u roku od 14 (max. 30) dana recenziraju rad. Ukoliko bude znatnih odstupanja u recenzijama, rad će biti na isti način proslijeđen trećem recenzentu. Recenzenti predlažu jednu od četiri mogućnosti: *rad se prihvaća*; *rad se prihvaća uz manje izmjene*, *rad se prihvaća uz veće izmjene* i *rad se ne prihvaća* za objavu. Kad su uvjetovane veće izmjene rukopisa, ispravljeni rad ponovno se šalje recenzentu na provjeru. Nakon recenziranja i korekcija (autor ih treba obaviti u roku od 14 dana) rad se upućuje tehničkom uredniku a on lektoru. Nakon lekture rad se šalje autoru na ev. korekcije

VAŽNO! Autor/i preuzimaju odgovornost za akademsku čestitost (znanstvenu etiku, plagiranje i prava o intelektualnom vlasništvu). Rukopis dostaviti e-poštom na adresu : apintar@agr.hr