

Istraživanje učinka ekstrakta češnjaka (*Alium sativum* L.) u suzbijanju lisne uši (*Hyalopterus pruni* Geoffr.)

Sažetak

Lisne uši (Insecta: Aphidoidea) pripadaju jednoj od najvažnijih skupina poljoprivrednih štetnika širom svijeta. Često uzrokuju ozbiljne, ekonomske probleme na različitim poljoprivrednim kulturama. Ponekad, zbog pojave rezistentnosti ovih kukaca na konvencionalna sredstva za zaštitu bilja zaštita je jako složena. Za razliku od kemijskih sredstava biljni ekstrakti pokazuju pozitivni učinak na okoliš, biološku raznolikost i ljudsko zdravlje. Cilj ovog istraživanja bio je odrediti učinkovitost različitih koncentracija vodenog i alkoholnog ekstrakta autohtonog (lokalni sortiment) i uvoznog češnjaka (*Alium sativum* L.) na šljivinu zelenu uš (*Hyalopterus pruni* Geoffr.). Pokus je obavljen u laboratorijskim uvjetima korištenjem Petrijevih posuda prethodno obloženih filter papirom na koji su postavljene lisne uši. U svaku Petrijevu posudu postavljeno je 15 jedinki. Vodeni i alkoholni ekstrakti su razrijeđeni u tri koncentracije (100%, 50% i 25%). Smrtnost kukaca je kontrolirana nakon 24 h i 48 h. Za izračun i korekciju mortaliteta korištena je Abbott-ova formula. Statistički značajna razlika je uočena između tretmana i kontrole. Najveći učinak unutar 24 h je pokazao je 100 %-tni vodeni ekstrakt, kao i sve koncentracije alkoholnog ekstrakta. Najlošiji rezultat (9.99%) nakon 24 h je uočen kod 25%-tne vodene otopine. Nakon 48 h smrtnost je kod svih koncentracija bila veća od 75%.

Ključne riječi: botanički pesticidi, češnjak, ekstrakt, lisne uši, otopina

Uvod

Mnoge biljne vrste se od davnina upotrebljavaju u suzbijanju velikog broja poljoprivrednih štetnika. Neki autori (Akhtar i sur., 2008; Pavela, 2009; Nowsad i sur., 2010; Erdogan i sur., 2012) se slažu kako botanički insekticidi predstavljaju važnu skupinu zaštitnih sredstava koja je za ljudsko zdravlje i okoliš puno sigurnija za razliku od konvencionalnih pesticida. Štoviše, Pavela (2007) preporuča korištenje botaničkih pesticida kao odgovarajuću alternativu u zaštiti bilja s minimalnim negativnim posljedicama. Sintetski insekticidi uzrokuju zagađenje okoliša, posebno pojavu rezidua u poljoprivrednim proizvodima, kao i razvoj otpornosti štetnika (Laznik i sur., 2010). Veliki broj biljnih vrsta koje se koriste u fitomedicini sadrže određene komponente koje mogu usporiti razvoj kukaca (Megersa, 2016). Prema podacima Jbilou i sur. (2006) učinak biljnih insekticida se može manifestirati na nekoliko načina, a to su pojava otrovnosti, uginuće kukaca, poremećaj ishrane, kao i poremećaji u oplodnji, te razvoj steriliteta. Prema podacima Chakravarthy (2007) ovi biopesticidi nisu štetni za korisne kukce, oprašivače kao i ostalu korisnu entomofaunu, a posebno su dijetetivni na kukce, sa svojim aparatom za hodenje i sisanje. Neki prirodni ekstrakti (Prowse i sur., 2000; Demoye, 2010) su istraživanjima pokazali i fumigantno djelovanje biljnih ekstrakata na kukce. Ekstrakt češnjaka je pokazao određenu učinak na skupine kukaca kao što su kornjaši, leptiri, stjenice i dvokrilci (Prowse i sur., 2006). Prema podacima Kazem i El-Shereif (2010) češnjak sintetizira određene produkte na bazi sumpora koje imaju repelentno i insekticidno djelovanje. Osim toga, ekstrakt češnjaka prema

1 Frantin Kristijan, Dr. sc. Poslijedoktorand. Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
 2 Perinčić Branka, Mr. sc. Asistent. Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
 3 Tomislav Kos, Dr. sc. Docent. Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
 4 Slaven Zjalić, Dr. sc. Izvanredni profesor. Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu
 5 Josipa Mustapić, univ. bacc. ing. agr.

Harris i sur. (2001) posjeduje širok spektar biološke aktivnosti uključujući antibakterijsko i antigljivično djelovanje. Dancewicz i sur. (2011) navode podatke o larvicidnom učinku vodenog i ekstrakta metanola češnjaka na brašnenog kornjaša, nekoliko vrsta komaraca i gusjenica, te sovicu *Euproctis* spp. Djelatne tvari češnjaka koje imaju antagonistički učinak na neke ekonomski značajne štetnike su dialilsulfid ($C_6H_{10}S$), dialildisulfid ($C_6H_{10}S_2$) i dialiltrisulfid ($C_6H_{10}S_3$) (Amokar i Banerji, 1971). Unatoč činjenici što mehanizam djelovanja ovih tvari još uvijek nije dovoljno jasan, Prowse i sur. (2006) kao mogući način djelovanja navode inhibiciju enzimske aktivnosti. Tvari koje se nalaze u češnjaku inhibiraju djelovanje nekih enzima kao što je acetilkolinesteraza. Isti autori tvrde da učinkovitost ovih insekticida ovisi o prodoru djelatnih tvari u organizam kukaca, sposobnosti kukaca da metaboliziraju djelatne supstance, kao i o osjetljivosti ciljanih enzima. Za razliku od „početnih“ djelatnih tvari, kemijski spojevi koji nastaju nakon tretmana tzv. „međuspojevi“ su puno otrovniji za lisne uši (Bahar i sur., 2007). U istraživanju Zhou i sur. (2013) navodi se pozitivan učinak ulja češnjaka u suzbijanju nekoliko vrsta lisnih ušiju. Osim samog ekstrakta, češnjak može djelovati repelentno ako se uzgaja u konsocijaciji, odnosno, kao međukultura (Karavina i sur., 2014). Botanički pesticidi imaju značajne izgleda u ekološkoj proizvodnji, međutim prema dostupnim podacima sustavnih istraživanja o ovoj tematici u Hrvatskoj nije bilo. Veliki broj biljnih vrsta na području mediteranskog dijela Hrvatske (Dalmacija), posebno onih koje sintetiziraju eterična ulja, predstavlja važan izvor materijala za buduća istraživanja.

Materijali i metode

Osnovni cilj ovog rada je bio istražiti insekticidni učinak češnjaka na lisne uši u laboratorijskim uvjetima. Istraživanje je obavljeno u laboratoriju Odjela za ekologiju, agronomiju i akvakulturu Sveučilišta u Zadru tijekom 2015. godine. Za pripremu ekstrakta korišten je autohtoni lokalni ekotip i uvozni češnjak porijeklom iz Kine. Češnjevi su narezani i usitnjeni na male komade. Za svaki uzorak korišteno je 20 g biljnog materijala. Materijal je ekstrahiran uz pomoć dva otapala (voda i etanol). Usitnjeni češnjak je stavljen u plastične epruvete i prekriven destiliranom vodom i 70%-tnim etanolom odvojeno. Nakon 24 sata biljni materijal je filtriran kroz muslinsku tkaninu. Filtrirani ekstrakt je označen kao „primarni ekstrakt“ koji je zatim razrijeđen u omjerima 1:1 i 1:3. Testirane su tri otopine (100%, 50% and 25%) vodenog i alkoholnog ekstrakta u pet ponavljanja. Kukci su sakupljeni s mladih listova šljive (*Prunus domestica* L.) i postavljeni u Petrijeve posude prethodno obložene filter papirom. U svaku Petrijevu posudu na filter papir aplicirano je 3 ml ekstrakta na način da je papir bio u potpunosti pokriven. U svaku petrijevku pomoću mekane četkice prebačeno je 15 lisnih ušiju, a zatim su prekrivene perforiranim poklopcem. Svaki tretman je ponovljen pet puta. Za kontrolu je korišten jednak broj ušiju tretiran čistom destiliranom vodom. Smrtnost je provjeravana 24 i 48 h nakon tretiranja.

Statistička analiza

Za izračun razlika između tretmana korištena je jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), a za post hoc testiranje korišten je Tukijev test. Za statističku analizu korišten je program SigmaPlot 11 (Systat Software). Korekcija mortaliteta je izvršena pomoću formule po Abbott-u (1925) koja je prikazana u sljedećoj formuli (1).

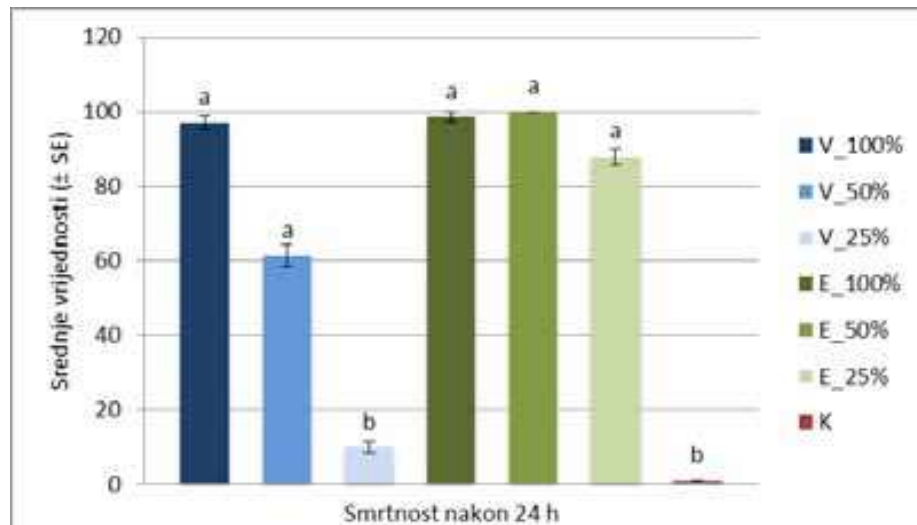
(1)

$$\text{Korigirana smrtnost (\%)} = \left(\frac{\% \text{ živih kukaca u kontroli} - \% \text{ živih kukaca u tretmanu}}{\% \text{ živih kukaca u kontroli}} \right) \times 100$$

Rezultati i rasprava

Smrtnost lisnih ušiju nakon 24 h

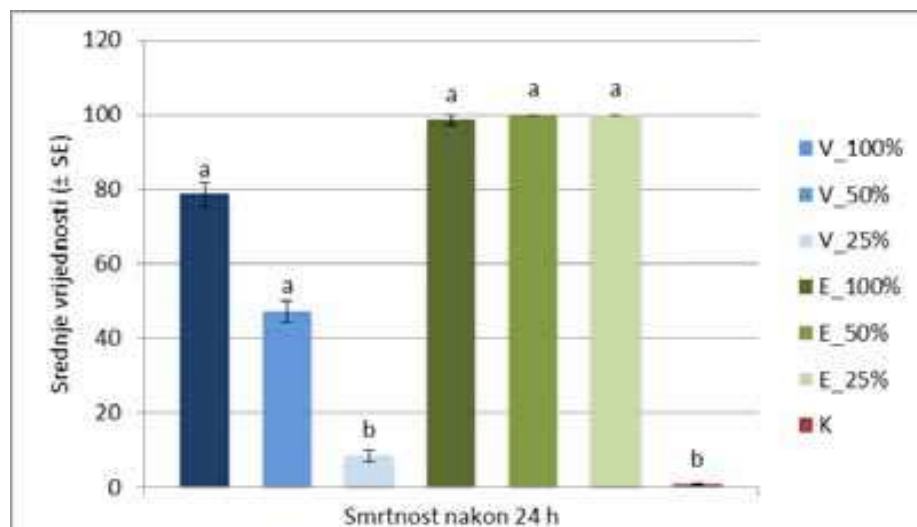
Unutar 24 h je uočena statistički značajna razlika (Kruskal-Wallis test, $H=32,011$, $df=6$, $p<0,001$) između različitih koncentracija ekstrakta uvoznog češnjaka i kontrole (grafikon 1).



Grafikon 1. Srednja vrijednost ($\pm SE$) korigiranog mortaliteta lisnih ušiju tretiranih sa tri različite koncentracije ekstrakta uvoznog češnjaka tijekom 24h. Vrijednost sa jednakim slovima nisu statistički značajne (Tukey's test, $p<0,05$). V – voda, E – etanol, K – kontrola.

Sve koncentracije (100%, 50% and 25%) alkoholnog ekstrakta su pokazale visoki učinak na smrtnost lisnih ušiju. Između tretmana različitih koncentracija vodenih otopina najveći učinak (97,14%) je pokazala 100%-tna koncentracija. Najslabiji učinak je zabilježen kod 25%-tne vodene otopine uvoznog češnjaka (8,56%).

Na grafikonu 2. je prikazana statistički značajna razlika između uzoraka (Kruskal-Wallis test, $H=33,087$, $df=6$, $p<0,001$) prilikom tretiranja ekstraktima domaćeg češnjaka.



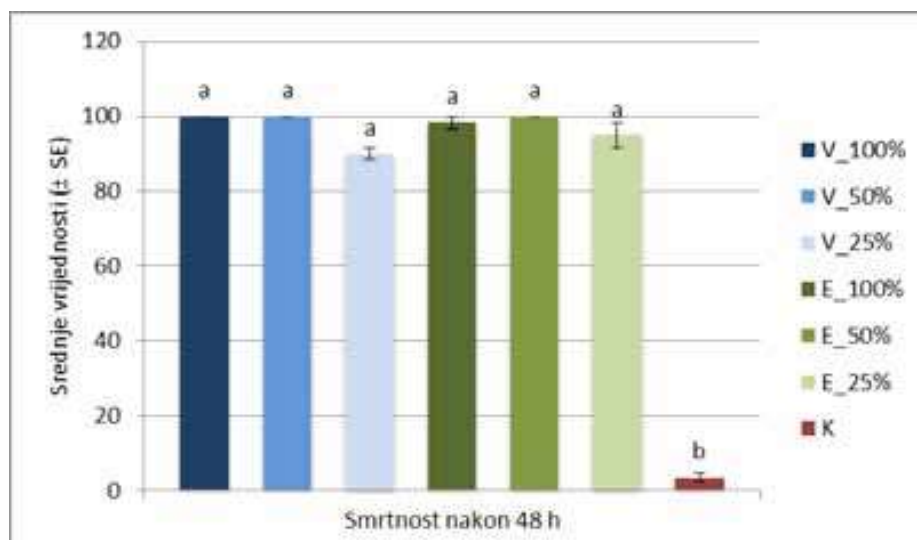
Grafikon 2. Srednja vrijednost (\pm SE) korigiranog mortaliteta lisnih ušiju tretiranih sa tri različite koncentracije ekstrakta domaćeg češnjaka tijekom 24h. Vrijednost sa jednakim slovima nisu statistički značajne (Tukey' s test, $p < 0,05$). V – voda, E – etanol, K – kontrola.

Iznimno visoku učinkovitost na smrtnost lisnih ušiju su pokazale sve koncentracije alkoholnog ekstrakta. Vodeni ekstrakti su bili manje učinkoviti. Između različitih tretmana vodenog ekstrakta najveći učinak (78,56%) je uočen kod 100%-tne koncentracije.

Erdogan i sur. (2012) su istraživali učinkovitost različitih koncentracija (1%, 3%, 6% i 12%) ekstrakta češnjaka na koprivinu grinju (*Tetranychus urticae* Koch) i zaključili da porast koncentracije dovodi do porasta smrtnosti odraslih oblika. U istraživanju učinka botaničkih insekticida na graškovu uš Bahar i sur. (2007) izvještavaju da je ekstrakt češnjaka uzrokovao 21,1%-tnu smrtnost nakon 12 h i 45,02%-tnu smrtnost nakon 24 h. Rezultati indiciraju da češnjak pokazuje višu insekticidnu aktivnost u alkoholnom ekstraktu. Iako je Megersa (2016) utvrdio visoku smrtnost ($>80\%$) kod koncentracije od 10% u ovom istraživanju utvrđeni su slabiji rezultati. Megersa (2016) navodi da 5%-tna otopina češnjaka može biti dovoljna u suzbijanju lisnih ušiju. U prethodnim istraživanjima mnogi autori su koristili niže koncentracije biljnih ekstrakata u suzbijanju poljoprivrednih nametnika. Međutim, Moawad i Al-Barty (2011) zaključuju da manje doze možda nisu dovoljne za suzbijanje insekata, iako ponekad kod njih izazivaju malformacije.

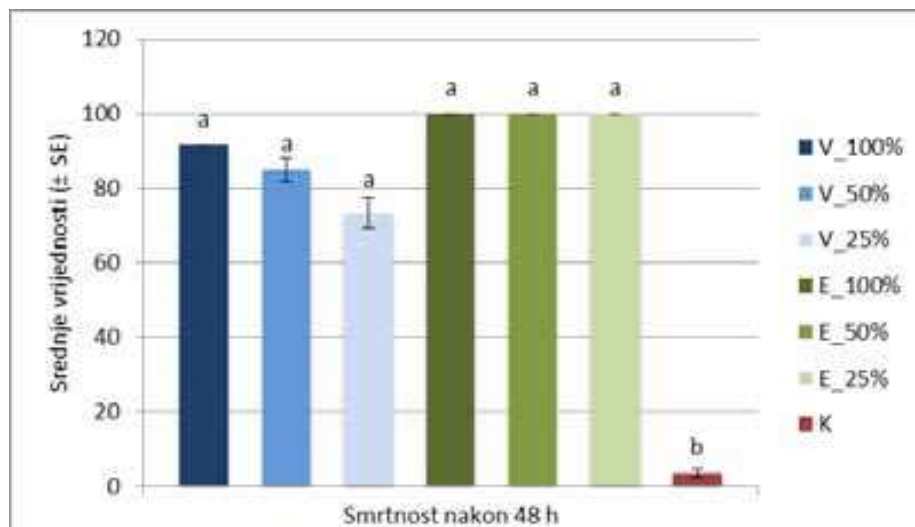
Smrtnost lisnih ušiju nakon 48 h.

Učinak ekstrakata uvoznog češnjaka na smrtnost *H. pruni* prikazan je na grafikonu 3. Najveća smrtnost je uočena nakon 48h. Između tretmana i kontrole je pronađena statistički značajna razlika (Kruskal-Wallis test, $H=24,963$, $df=6$, $p < 0,001$). Ekstrakt uvoznog češnjaka je pokazao visoku razinu učinkovitosti, preko 90% u svim koncentracijama.



Grafikon 3. Srednja vrijednost (\pm SE) korigiranog mortaliteta lisnih ušiju tretiranih sa tri različite koncentracije ekstrakta uvoznog češnjaka tijekom 48 h. Vrijednost sa jednakim slovima nisu statistički značajne (Tukey' s test, $p < 0,05$). V – voda, E – etanol, K – kontrola.

Zabilježena je statistički značajna razlika (Kruskal-Wallis test, $H=27,162$, $df=6$, $p < 0,001$) između svih ispitivanih koncentracija ekstrakta domaćeg češnjaka i kontrolnog uzorka (grafikon 4.)



Grafikon 4. Srednja vrijednost (\pm SE) korigiranog mortaliteta lisnih ušiju tretiranih sa tri različite koncentracije ekstrakta domaćeg češnjaka tijekom 48 h. Vrijednost sa jednakim slovima nisu statistički značajne (Tukey's test, $p < 0,05$). V – voda, E – etanol, K – kontrola.

Alkoholni ekstrakt domaćeg češnjaka je pokazao najveću smrtnost (100%) u svim koncentracijama, dok su tretmani vodenim ekstraktom bili manje učinkoviti. Kao što je prikazano u grafikonu 4. najniža smrtnost (73,32%) je postignuta pri 25%-tnoj koncentraciji. Najveći učinak imale su sve otopine alkoholnog ekstrakta. Smrtnost lisnih ušiju je rasla s vremenom ekspozicije nakon tretiranja. Prema podacima nekolicine autora (Denloye, 2010; Bahar i sur., 2007) između nekoliko botaničkih insekticida jednakih koncentracija najmanju djelotvornost pokazuju sredstva na bazi češnjaka. Moguće je da su razlog tomu niže koncentracije za razliku od onih koje su korištene u ovom istraživanju. U usporedbi sa sintetskim insekticidima botanička sredstva imaju nešto sporije djelovanje, promjenjiv učinak i nedostatak perzistentnosti (Grdiša i Gršić, 2013). Razina učinkovitosti botaničkih pesticida vjerojatno ovisi o koncentraciji, ali i periodu ekspozicije. Korištenje ekstrakta češnjaka može biti dobra alternativa sintetičkim pesticidima. Češnjak može imati značajnu ulogu u integriranoj i ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji, a posebno u manjim obiteljskim vrtovima.

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja pokazuju kako više koncentracije ekstrakta češnjaka imaju bolji insekticidni učinak na lisne uši. Za razliku od vodenog, alkoholni ekstrakt je pokazao nešto bolji učinak na ove štetnike. Međutim, i vodeni i alkoholni ekstrakti bi se mogli upotrebljavati u zaštiti bilja od lisnih ušiju u integriranoj i ekološkoj proizvodnji. Na učinak češnjaka u suzbijanju lisnih ušiju osim koncentracije ima i duljina izlaganja ovoj tvari. Osim toga važna je i činjenica da etanol ima veću moć ekstrakcije u odnosu na vodu. Niže koncentracije mogu biti djelotvorne ali nakon dulje ekspozicije. Potrebna su daljnja istraživanja u svrhu razumijevanja utjecaja različitih koncentracija ekstrakta češnjaka na štetne kukce, pogotovo lisne uši.

Literatura

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Akhtar, Y., Yeoung, Y.R., Isman, M.B. (2008). Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars *trichoplusia* and *Pseudaletia unipunctata*, *Phytochemistry Reviews*, 7, 77-88.
- Amokar, S.V., Banerji, A. (1971). Isolation and characterization of the larvicidal principle of garlic. *Science*, 174, 1343-1344.
- Bahar, H., Islam, A., Mannan, A., Uddin, J. (2007). Effectiveness of Some Botanical Extracts on Bean Aphids Attacking Yard-Long Beans, *Journal of Entomology*, 4 (2), 136-142.
- Chakravarthy, A.K. (2007). Garlic based biopesticides: a novel tool for integrated pest management. Department of Entomology, University of Agricultural Sciences, Karnataka, India. http://www.garlicbarrier.com/documents/AKC_Garlic_based_biopesticides.pdf (accessed: 20.3.2017.)
- Dancewicz, K., Gabrys, B., Przybylska, M. (2011). Effect of garlic (*Allium sativum* L.) and tansy (*Tanacetum vulgare* L.) extracts and potassic horticultural soap on the probing and feeding behaviour of *Myzus persicae* (Sulzer, 1776). *Aphids and Other Hemipterous Insects*, 17, 129-136.
- Denloye A. (2010). Bioactivity of powder and extracts from garlic, *Allium sativum* L. (Alliaceae) and spring onion, *Allium fistulosum* L. (Alliaceae) against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) on Cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Leguminosae) seeds, <https://www.hindawi.com/journals/psyche/2010/958348/> (accessed: 20.3.2017.)
- Erdogan, P., Yildirim, A., Sever, B. (2012). Investigation on the Effects of Five Different Plant Extracts on Two-Spotted Mite *Tetranychus urticae* Koch (Arachnidae: Tetranychidae). *Psyche: A Journal of Entomology*. <https://www.hindawi.com/journals/psyche/2012/125284/> (accessed: 20.3.2017.)
- Grdiša, M., Gršič, K. (2013). Botanical Insecticides in Plant Protection. *Agriculture Conspectus Scientificus*, 78 (2), 85-93.
- Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S., Lloyd, D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57, 282-286.
- Jbilou, R., Ennabili, A., Sayah, F. (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extract against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology*, 5 (10), 936-940.
- Karavina, C., Mandumbu, R., Zivenge, E., Munentsi. (2014). Use of garlic (*Allium sativum*) as a repellent crop to control Diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata*). *Journal of Agricultural Research*, 52 (4), 615-621.
- Kazem, M.G.T., El-Shereif, S.A.E.H.N. (2010). Toxic Effect of Capsicum and Garlic xylene Extracts in Toxicity of Boiled Linseed Oil Formulations against Some Piercing Sucking Cotton Pests. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 8 (4), 390-396.
- Laznik, Ž., Cunja, V., Kač, M., Trdan, S. (2010). Efficacy of three natural substances against apple aphid (*Aphis pomi* De Geer, Aphididae, Homoptera) under laboratory conditions. *Acta agriculturae Slovenica*, 97 (1), 19-23.
- Megersa, A. (2016). Botanical extracts for control of pea phid (*Acyrtosiphon pisum*; Haris). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (1), 623-627.
- Moawad, S.S., Al-Barty, A.M.F. (2011). Evaluation of some medicinal and ornamental plant extracts toward pomegranate aphid, *Aphis punicae* (Passerini) under laboratory conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (10), 2425-2429.
- Nowsad, A.A.K.M., Mondal, R., Hassan, M.N., Hossain, M.M., Islam, M.R. (2010). Suitability of some botanical pesticides (Neem, garlic and red chilli) against dry fish insects (*Dermestes* sp. Larvae and *Necrobia* sp. adult). *Progress Agriculture*, 21 (1&2), 93-103.
- Pavela, R. (2007). Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology*, 1, 47-52.
- Pavela, R. (2009). Effectiveness of Some Botanical Insecticides against *Spodoptera littoralis* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Plant Protection Science*, 45 (4), 161-167.
- Prowse, G.M., Galloway, T.S., Foggo, A. (2006). Insecticidal activity of garlic juice in two dipteran pests. *Agricultural and Forest Entomology*, 8, 1-6.
- SigmaPlot v.11, Systat Software, San Jose, California, USA.
- Zhou, H B., Chen, J L., Liu Y., Francis, F., Haubruge, E., Bragard, C., Sun J R., Cheng, D F. (2013). Influence of Garlic Intercropping or Active Emitte Volatiles in Releasers on Aphid and Related beneficial in Wheat Fields in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (3), 467-473.