

Bioaktivnost 1,8-cineola i eugenola na ličinke *Tribolium castaneum* (Herbst) u praznom i ispunjenom prostoru

Anita Liška^{1*}, Vlatka Rozman¹, Pavo Lucić¹, Emir Ismić²

¹Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d, 31000 Osijek, Hrvatska,

²Student Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku

Sažetak

Primjena botaničkih pesticida jedan je od sigurnijih načina zaštite uskladištenih poljoprivrednih proizvoda u smislu niske toksičnosti te manje štetnosti za ljudsko zdravlje i okoliš u odnosu na konvencionalne pesticide. Ovo istraživanje usmjereno je na testiranje fumigantne aktivnosti 1,8-cineola i eugenola, komponenata u sastavu eteričnih ulja, u kontroli ličinki kestenjastog brašnara *Tribolium castaneum* (Herbst). Cilj rada je ispitati utjecaj ispunjenog prostora pšenicom, na učinkovitost testiranih komponenata.

Po 50 ličinki stavljeno je u kaveze od mlinske svile, u četiri ponavljanja. Kavezi su stavljeni u staklene posude volumena 350 ml, prazne (tretman bez zrna) i ispunjene zrnom pšenice zauzimajući 50% volumena staklenki (tretman sa zrnom). Komponente su testirane u 4 koncentracije (60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u praznom prostoru, te 120 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u ispunjenom prostoru). Mortalitet ličinki bilježen je svaka 24 sata tijekom 7 dana ekspozicije.

U praznom prostoru 7. dan nakon fumigacije, 1,8-cineolom je postignut značajno viši mortalitet ličinki (67,5% i 84,0% pri 60 odnosno 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) u odnosu na eugenol (35,5% i 48,0% pri 60 odnosno 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Također i u ispunjenom prostoru, učinkovitost 1,8-cineola je bila značajno viša (24,0% i 41,0% pri 120 odnosno 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) nego učinkovitost eugenola (1,5% pri 120 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$). Fumigacijom u ispunjenom prostoru pšenicom, zabilježeno je značajno slabije djelovanje obje testirane komponente. Tako je s 1,8-cineolom, mortalitet ličinki smanjen sa 84,0% (tretman bez zrna) na 24,0% (tretman sa zrnom), dok je kod eugenola mortalitet smanjen sa 48,0% (tretman bez zrna) na 1,5% (tretmanu sa zrnom).

Značajno bolju djelotvornost u kontroli ličinki *T. castaneum* pokazala je komponenta 1,8-cineol i to u oba tretmana fumigacije. U ispunjenom prostoru, učinkovitost 1,8-cineola je smanjena za 3,5 puta, a eugenola za čak 32 puta.

Ključne riječi: 1,8-cineol, eugenol, ličinke, *Tribolium castaneum*, fumigacija

* e-mail adresa: aliska@pfos.hr

Uvod

Kestenjasti brašnar, *Tribolium castaneum* (Herbst) je polifagni, kozmopolitski štetnik iz reda Coleoptera, porodice Tenebrionidae. Osim žitarica, može infestirati široki raspon uskladištenih proizvoda uključujući suncokret, uljanu pogaču, brašno, leguminoze, kikiriki, kavu, suho voće, kakao, čokoladu, mlijeko u prahu, začine, kao i muzejske kolekcije herbarija (Mason L.J., 2003.). U svrhu kontrole ovoga kao i ostalih skladišnih štetnika, najčešće se provodi fumigacija. No široka primjena fumiganata, odnosno općenito sintetičkih insekticida rezultirala je mnogim negativnim posljedicama, kao što su: toksičnost za sisavce i druge neciljane životinje, problemi s ostacima pesticida u hrani, rezistentnost štetnih kukaca, onečišćenje okoliša (Isman M.B., 2006.) S druge strane, primjena biljaka, biljnih dijelova i njihovih ekstrakata (botaničkih insekticida) predstavlja alternativnu metodu kontrole štetnika s nižom toksičnošću za sisavce i niskom perzistentnošću u okolišu (Isman M.B., 2000., Isikber M.B. *et al.*, 2006.). Postoje brojni znanstveni radovi koji su bazirani na ispitivanju utjecaja biljnih produkata na kukce u zadnjih 25 godina (Isman M.B., 2008.).

Komponenta eugenol je sastavni dio eteričnog ulja češnjaka, muškarnog oraščića i kore cimeta, dok je 1,8-cineol sastavni dio esencijalnog ulja dobiven iz lišća biljke eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* L.), u medicini se koristi kao sredstvo za iskašljavanje te kao kozmetički preparat. U svrhu kontrole *T. castaneum*, utvrđena je repelentna i insekticidna aktivnost 1,8-cineola (Wang J.L. *et al.*, 2009.), kao i njegova fumigantna toksičnost (Suthisut D. *et al.*, 2011.).

Pored toga što eterična ulja imaju velike prednosti u odnosu na sintetičke pesticide u smislu ekološke prihvatljivosti, postoje mnoge barijere koje sprječavaju primjenu eteričnih ulja u praksi. Neke od njih su nepovoljne fizikalne karakteristike eteričnih ulja, kao što su visoka točka vrenja, velika molekularna masa i vrlo nizak tlak para (Rajendran i Sriranjini, 2008.). Upravo ove karakteristike eteričnih ulja ograničavaju njihovu primjenu na fumigaciju praznih prostora ili na zaštitu manje količine robe (Shaaya E. *et al.*, 1997.; Lee B.H. *et al.*, 2004.; Rozman V. *et al.*, 2008.). Vođeni ovim činjenicama, u radu smo ispitali je li fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola na ličinke *T. castaneum* opada u prostoru 50% ispunjenim zrnom pšenice u odnosu na prazan prostor.

Materijal i metode rada

Komponente eteričnih ulja

U istraživanju su upotrebljene komponente 1,8-cineol i eugenol „Sigma-Aldrich“ (Export Division Grünwalder Weg 30 D-82041 Deisenhofen, Njemačka) i „Fluka“ (Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs, SG Švicarska).

Uzgoj test kukaca

Uzgoj test kukaca obavljen je u kontroliranim uvjetima na $30\pm 1^{\circ}\text{C}$; 70-80% rvz; u tami (Liu Z.L. *et al.*, 1999.). Korištena je uzgojna podloga pšeničnog oštrog brašna i suhog kvasca u omjeru 10:1. Za uzgoj ličinki, populacija kestenjastog brašnara, u stadiju imaga pomiješanog spola, stavljena je u staklenke s hranjivim medijem radi kopulacije i polijeganja jajašaca. Uzgoj je ostavljen tri dana u kontroliranim uvjetima na $30\pm 1^{\circ}\text{C}$; 70-80% rvz, u tami. Nakon trećeg dana izdvojeni su odrasli (imago), a preostalo brašno s položenim jajašcima ostavljeno je pri istim uvjetima na 16 dana za uzgoj ličinki.

Fumigantna toksičnost

Fumigantna toksičnost 1,8-cineola i eugenola utvrđena je na stadij ličinke kestenjastog brašnara starosti 16 dana. Fumigacija je obavljena u dva tretmana: tretman u praznom prostoru (bez zrna pšenice) i tretman u ispunjenom prostoru (s 50% ispunjenosti prostora zrnom pšenice).

Za određivanje fumigantne aktivnosti komponenata eteričnih ulja korištena je metoda koju su opisali Huang Y. *et al.* (1998.). Po 50 ličinki stavljeno je u kaveze od mlinske svile, u četiri ponavljanja. Kavezi su stavljani u staklene posude volumena 350 ml, prazne (za tretman bez zrna) ili ispunjene zrnom pšenice zauzimajući 50% volumena staklenki (za tretman sa zrnom). Korištene komponente (1,8-cineol i eugenol) testirane su u 2 koncentracije (60 i 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u praznom prostoru, te 120 i 300 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ za tretman u ispunjenom prostoru). Komponente su aplicirane Kartell mikropipetom na filter papir, zalijepljen na unutrašnjoj strani poklopca staklenki, koje su tijekom pokusa bile hermetički zatvorene i čuvane u kontroliranim uvjetima na $30\pm 1^\circ\text{C}$; 70-80% rvz, u tami tijekom 48 sati. Nakon toga, tretirane ličinke kestenjastog brašnara prebačene su u čiste bočice. Kako bi se osigurala hrana za preživjele jedinke, u bočice je stavljen hranjivi medij, (pšenično brašno i kvasac) (Huang Y. *et al.*, 2000.). Tijekom praćenja mortaliteta, bočice su čuvane pri navedenim kontroliranim uvjetima. Kontrola je rađena pri istim uvjetima, ali bez aplikacije ulja. Mortalitet ličinki bilježen je svaka 24 sata tijekom 7 dana ekspozicije.

Statistička obrada podataka

Rezultati fumigantne djelotvornosti testiranih komponenata obrađeni su programom SAS/STAT Software 9.3. (2013. - 2014.). Jednosmjerna analiza varijance svih ispitivanih varijabli napravljena je u modulu SAS Anlyst i korištena je procedura ANOVA. Utvrđene značajne razlike između tretmana su ispitane Tukey's Studentized Range (HSD) testom na razini vjerojatnosti 0,05.

Rezultati

U testiranju fumigantne učinkovitosti 1,8-cineola i eugenola u praznom prostoru zamijećena je različita osjetljivost ličinki *T. castaneum* ovisno o komponenti i koncentraciji (Tablica 1.). Najveći mortalitet (84,00%) postignut je 1,8-cineolom pri koncentraciji od 120 μl 350 ml^{-1} , i to već drugi dan nakon fumigacije. Vrijednosti mortaliteta kod 1,8-cineola bile su značajno veće u odnosu na kontrolu (Tukey's test, $\alpha=0,05$), osim toga porastom koncentracije, statistički je zabilježen porast mortaliteta. Eugenolom je pak najveći opravdani mortalitet ličinki postignut tek šestog dana ekspozicije i to pri koncentraciji od 60 μl 350 ml^{-1} (35,50%), obzirom da povećanjem koncentracije nije postignuto značajno povećanje mortaliteta. Tijekom sedam dana ekspozicije, povećanje mortaliteta ličinki zabilježeno je samo kod eugenola (sa 14,00% prvog dana do 78,00% sedmog dana), dok je 1,8-cineol imao brzo početno djelovanje prva dva dana ekspozicije, bez produženog djelovanja.

Tablica 1. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola u tretmanu bez zrna na ličinke *T. castaneum* tijekom sedam dana ekspozicije (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Table 1 Fumigant efficacy of 1,8-cineole and eugenol in the treatment without grain to the *T. castaneum* larvae during the exposition of seven days (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Konzentracija Concentration ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%) Mortality of <i>T. castaneum</i> larvae (%)						
	Vrijeme ekspozicije (dani) Exposure period (days)						
	1	2	3	4	5	6	7
	1,8-cineol/1,8-cineole						
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
120	83,50 \pm 5,00a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a
60	61,00 \pm 7,74b	63,00 \pm 7,39b	64,50 \pm 7,18b	66,00 \pm 8,16b	67,00 \pm 9,30b	67,00 \pm 9,30b	67,50 \pm 9,98b
0	0,00 \pm 0,00c	1,00 \pm 1,15c	1,50 \pm 1,91c	1,50 \pm 1,91c	1,50 \pm 1,91c	1,50 \pm 1,91c	1,50 \pm 1,91c
Eugenol/Eugenol							
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
120	14,00 \pm 7,30a	21,00 \pm 8,40a	25,50 \pm 9,14a	31,00 \pm 9,01a	40,00 \pm 9,09a	44,00 \pm 8,48a	48,00 \pm 10,45a
60	18,50 \pm 5,00a	22,50 \pm 5,97a	27,00 \pm 6,21a	30,50 \pm 7,18a	33,50 \pm 9,98a	35,50 \pm 11,12a	35,50 \pm 11,12a
0	0,00 \pm 0,00b	0,00 \pm 1,15b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za pojedinu komponentu po kolonama

* Means followed by the same letters are not significantly ($P<0.05$) different, comparison is made by each compound through the columns

U tretmanu s 50% ispunjenošću prostora zrnom pšenice, djelotvorna je bila samo komponenta 1,8-cineol (Tablica 2.). Naime, niti s najvišom dozom ($300 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$) eugenola tijekom svih 7 dana ekspozicije nije postignuta značajna razlika u odnosu na kontrolne uzorke (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Komponenta 1,8-cineol je imala brzo početno djelovanje i u ispunjenom prostoru, postigavši najviši mortalitet (41,00%) ličinki već drugi dan ekspozicije ($300 \mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$). Vrijednosti mortaliteta kod 1,8-cineola bile su značajno veće u odnosu na kontrolu te je porastom koncentracije zabilježen statistički porast mortaliteta (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Nakon drugog dana očitavanja, kada je i postignuta najviša vrijednost mortaliteta, nisu zabilježene nikakve promjena u smrtnosti tretiranih ličinki.

Tablica 2. Fumigantna učinkovitost 1,8-cineola i eugenola u tretmanu sa zrnom na ličinke *T. castaneum* tijekom sedam dana pregleda mortaliteta (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Table 2 Fumigant efficacy of 1,8-cineole and eugenol in the treatment with grain to the *T. castaneum* larvae during the exposition of seven days (Tukey's test, $\alpha=0,05$)

Konzentracija Concentration ($\mu\text{l } 350 \text{ ml}^{-1}$)	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%) Mortality of <i>T. castaneum</i> larvae (%)							
	Vrijeme ekspozicije (dani) Exposure period (days)							
	1	2	3	4	5	6	7	
	1,8-cineol/1,8-cineole							
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
300	39,50±8,38a	41,00±8,24a	41,00±8,24a	41,00±8,24a	41,00±8,24a	41,00±8,24a	41,00±8,24a	41,00±8,24a
120	22,00±5,88b	24,00±7,11b	24,00±7,11b	24,00±7,11b	24,00±7,11b	24,00±7,11b	24,00±7,11b	24,00±7,11b
0	0,00±0,00c	0,50±1,00c	1,50±1,91c	1,50±1,91c	1,50±1,91c	1,50±1,91c	1,50±1,91c	1,50±1,91c
Eugenol /Eugenol								
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
300	1,00±2,00a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a
120	1,00±1,15a	1,00±1,15a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a
0	0,00±0,00a	0,50±1,00a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a	1,50±1,91a

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p<0,05$; usporedba je za pojedinu komponentu po kolonama

* Means followed by the same letters are not significantly ($P<0.05$) different, comparison is made by each compound through the columns

Upoređujući djelotvornost testiranih komponenata između tretmana (Tablica 3.), vidljivo je da su obje komponente u tretmanu s ispunjenim prostorom imale značajno slabiju učinkovitost na ličinke *T. castaneum* (Tukey's test, $\alpha=0,05$). Naime, eugenol u tretmanu sa zrnom pšenice nije bio djelotvoran. Što se tiče komponente 1,8-cineol, njegova je djelotvornost u tretmanu sa zrnom bila značajno niža u odnosu na tretman bez zrna ($F=207,69$; $df=1$; $p<0,001$; $R^2=0,97$) drugi dan ekspozicije, kada je i zabilježen maksimalni mortalitet ličinki (84,00% u tretmanu bez zrna, odnosno 24,00% u tretmanu sa zrnom).

Tablica 3. Fumigantna učinkovitost testiranih komponenata na mortalitet ličinki *T. castaneum* pri koncentraciji od 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ ovisno o tretmanu

Table 3 Fumigant efficacy of the tested compounds to the *T. castaneum* larvae at the dose of 120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$ depending on the treatment

Tretman Treatment	Mortalitet ličinki <i>T. castaneum</i> (%) Mortality of <i>T. castaneum</i> larvae (%)						
	Vrijeme ekspozicije (dani) Exposure period (days)						
	1	2	3	4	5	6	7
	1,8-cineol/1,8-cineole						
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Bez zrna Without grain	83,50 \pm 5,00a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a	84,00 \pm 4,32a
Sa zrnom With grain	22,00 \pm 5,88b	24,00 \pm 7,11b	24,00 \pm 7,11b	24,00 \pm 7,11b	24,00 \pm 7,11b	24,00 \pm 7,11b	24,00 \pm 7,11b
Eugenol/Eugenol							
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Bez zrna Without grain	14,00 \pm 7,30a	21,00 \pm 8,40a	25,50 \pm 9,14a	31,00 \pm 9,01a	40,00 \pm 9,09a	44,00 \pm 8,48a	48,00 \pm 10,45a
Sa zrnom With grain	1,00 \pm 1,15b	1,00 \pm 1,15b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b	1,50 \pm 1,91b

*srednje vrijednosti s istim slovom nemaju statistički značajne razlike za nivo $p < 0,05$; usporedba je za pojedinu komponentu po kolonama

* Means followed by the same letters are not significantly ($P < 0.05$) different, comparison is made by each compound through the columns

Rasprava i zaključak

U provedenom istraživanju, usporedbom učinkovitosti testiranih komponenata nakon fumigacije u praznom prostoru i prostoru s 50% ispunjenosti zrnom pšenice, vidljivo je da je pri istoj koncentraciji (120 μl 350 $\text{ml}^{-1}\text{vol.}$) aktivnost komponenata značajno smanjena u ispunjenom prostoru. Iako nismo radili dodatna istraživanja kako bi se ova pojava objasnila, pretpostavlja se da je uzrok tome slabiji prodor para komponenata kroz međuzrnati prostor, te djelomično i sorpcija para od strane zrna, što dovodi do smanjene raspoložive količine aktivne tvari komponenata dostatne za visoko letalno djelovanje na štetnika (Don-Pedro K.N., 1996.; Lee B.H. *et al.* 2003.).

Djelotvornost 1,8-cineola je u ispunjenom prostoru bila smanjena za 3,5 puta, a povećanje učinkovitosti se ne bi postiglo niti produženjem ekspozicije, obzirom na ujednačeno djelovanje 1,8-cineola tijekom svih 7 dana ekspozicije. Eugenol pak u tretmanu fumigacije u

ispunjenom prostoru nije imao letalni učinak na ličinke, što je i bilo za očekivati, obzirom da je i u praznom prostoru imao relativnu nisku djelotvornost (48% nakon 7 dana ekspozicije). Značajan utjecaj ispunjenosti prostora na učinkovitost 1,8-cineola kao i drugih komponenata eteričnih ulja utvrdili su i drugi autori (Shaaya E. *et al.*, 1997.; Lee B.H. *et al.*, 2004.a; Rozman V. *et al.*, 2008.). Naime, autori su utvrdili da je 1,8-cineol bio značajno manje učinkovit u prostoru ispunjenim zrnom pšenice u odnosu na učinkovitost u praznom prostoru, što je u skladu i s rezultatima našeg istraživanja. Prates H.T. *et al.* (1999.) su ukazali na različito isparavanje među monoterpenima pri $26\pm 1^\circ\text{C}$; 1,8-cineol isparava vrlo brzo (2,5 sata). S druge strane, isti autori ukazuju na vrlo slab tlak para 1,8-cineola (<1 mm Hg pri 20°C) i eugenola ($<0,1$ hPa pri 25°C), u usporedbi s fosfinom (31,92 mm Hg pri 23°C), metil bromidom (1250 mm Hg pri 20°C) i sulfuril floridom (12,087 mm Hg pri 20°C). Sve to ide u prilog slabijem djelovanju testiranih komponenata u slučaju fumigacije uskladištene robe. Jedno od mogućih rješenja slabe penetracije eteričnih ulja kroz uskladištenu zrnatu masu je primjena tehnologije kontroliranog oslobađanja komponenata (Sharifian I. *et al.*, 2011.). Naime, primjenom 1,8-cineola u formulaciji peleta na bazi biorazgradivog polimera polivinil alkohola (PVA), autori su postigli zadovoljavajuće rezultate fumigantne toksičnosti u kontroli *T. castaneum*, *Rhyzopertha dominica* (F.) i *Callosobruchus maculatus* (F.). Također, za smanjenje troškova proizvodnje, autori predlažu proizvodnju peleta s drugim biorazgradivim polimerima kao što su škrob i polivinil acetat. Prema rezultatima našeg istraživanja, opravdanu primjenu za suzbijanje ličinki *T. castaneum* bi mogla imati samo komponenta 1,8-cineol pri najvišoj koncentraciji ($120\ \mu\text{l}$ $350\ \text{ml}^{-1}$ ili višom), i to u praznim skladištima, odnosno ambalaži. Prisutnost zrnate robe u skladištu značajno utječe na smanjenje učinkovitosti 1,8-cineola i eugenola.

Literatura

1. Don-Pedro K.N., 1996. Fumigant toxicity of citruspeel oil components, *Pesticide Science* 46: 213-223.
2. Huang Y., Ho S.H., 1998. Toxicity and antifeedant activities against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst.) and *Sitophilus zeamais* Motsch., *Journal of Stored Products Research* 34(1): 11-17.
3. Huang Y., Lam S.L. and Ho S.H., 2000. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst), *Journal of Stored Product Research* 36(2): 107-117.
4. Isikber M.B., Alma M.H., Kanat M., Karsil A., 2006. Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*, *Phytoparasitica*, 34: 167-177.
5. Isman M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management, *Crop Protection*, 19. 603-608.
6. Isman M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world, *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
7. Isman M.B., 2008. Prospective botanicals insecticides: for richer, for poorer, *Pest Management Science*, 64: 8-11.
8. Lee B.H., Annis P.C., Tumaalii F., 2003. The potential of 1,8-cineole as a fumigant for stored wheat. *Stored Grain in Australia*, Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, 25-27 June, 2003, Canberra, CSIRO Stored Grain Research Laboratory, Canberra, Australia: 230-234.

9. Lee B.H., Annis P.C., Tumaalii F., Lee, S.E., 2004. Fumigant toxicity of *Eucalyptus blakelyi* and *Melaleuca fulgens* oils and 1,8-cineol against different development stages of rice weevil *Sitophilus oryzae*, *Phytoparasitica* 32: 498-506.
10. Lee B.H., Annis P.C., Tumaalii F., Lee S.E., 2004a. Fumigant toxicity of *Eucalyptus blakelyi* and *Melaleuca fulgens* oils and 1,8-cineol against different development stages of rice weevil *Sitophilus oryzae*, *Phytoparasitica* 32: 498-506
11. Liu Z.L., Ho S.H., 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst), *Journal of Stored Products Research* 35(4): 317-328.
12. Mason L.J., 2003. Grain insect fact sheet E-224-W: red and confused flour beetles, *Tribolium castaneum* (Hbst.) and *Tribolium confusum* Duval., Purdue University, Department of Entomology. <http://extension.entm.purdue.edu/publications/E-224.pdf>.
13. Prates H.T., Santos J.P., Waquil J.M., Fabris J.D., Oliveira A.B., 1999. The potential use of plant substances extracted from Brazilian flora to control stored grain pests. In: Zuxun, J., Quan, L., Yongcheng, L., Xiangchang, T., Lianghua, G. *Stored Product Protection, Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China*, pp. 820-825.
14. Rajendran S., Sriranjini V., 2008. Plant products as fumigants for stored-products insect control, *Journal of Stored Products Research* 44(2): 126-135.
15. Rozman V., Korunić Z., Kalinović I., 2008.) Effect of different Quantities of wheat on the effectiveness of the essential oil cineole against stored grain insect pests, *Proceedings of the 8th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Chengdu, China, September 21-26, 2008*: 503-506.
16. SAS 9.3 Copyright (c) 2013-2014 by SAS Institut Inc., Cary, NC, USA (Licensed to POLJOPRIVREDNI FAKULTET OSIJEK T/R, Site 70119033).
17. Shaaya E, Kostyukovsky M., Eilberg J., Sukprakarn C., 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects, *Journal of Stored Products Research* 33: 7-15.
18. Sharifian I., Safaralizade M.H., Najafi-Moghaddam P., 2011. Investigation on the insecticidal efficacy of novel pellet formulation against stored products beetles, *Munis Entomology & Zoology*, 6(1): 204-209.
19. Sharma R.K., Misra B.P., Sarma T.C., Bordoli A.K., Pathak M.G., LeClercq P.A., 1997. Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan, *Journal of Essential Oil Research* 9: 589-592.
20. Suthisut D., Fields P.G., Chandrapatya A., 2011. Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (Zingiberaceae) and their major compounds against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and two parasitoids, *Journal of Stored Products Research*, 47, 222-230.
21. Wang J.L., Li Y., Lei C.L., 2009. Evaluation of monoterpenes for the control of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Natural Product Research*, 23B, 1080-1088.

Bioactivity of 1,8-cineole and eugenol to *Tribolium castaneum* (Herbst) larvae in empty and filled space

Anita Liška^{1*}, Vlatka Rozman¹, Pavo Lucić¹, Emir Ismić²

¹Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d, 31000 Osijek, Croatia

²Student at the Faculty of Agriculture in Osijek

Abstract

The appliance of botanical pesticides is one of the safer ways to protect stored products in terms of low toxicity and less hazard to human health and the environment compared to conventional pesticides. This research refers to testing fumigation activities of 1,8-cineole and eugenol, compounds of essential oils, in the control of red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) larvae. The aim of this paper is to examine the influence of space filled with wheat on the efficiency of tested compounds.

Fifty larvae were placed in cages made of mill silk in four repetitions. The cages were placed in glass containers 350 ml volume, empty (treatment without grain) and filled with wheat grain occupying 50% of the glass container volume (treatment with grain). The compounds are tested in four concentrations (60 and 120 μl 350 ml^{-1} volume for the treatment in empty space, also 120 and 300 μl 350 ml^{-1} volume for the treatment in filled space). The larvae mortality is recorded every 24 hours during seven days exposure.

In the empty space on the seventh day after fumigation, 1,8-cineole had significantly higher mortality rate of larvae (67.5% and 84.0% at 60 and 120 μl 350 ml^{-1} volume) in regard to eugenol (35.5% and 48.0% at 60 and 120 μl 350 ml^{-1} volume). Also in the filled space the efficiency of 1,8-cineole was significantly higher (24.0% and 41.0% at 120 and 300 μl 350 ml^{-1} volume) than the efficiency of eugenol (1.5% at 120 and 300 μl 350 ml^{-1} volume). Fumigation in the space filled with wheat resulted with significantly lower activity for both tested compounds. Thus the larvae mortality decreased from 84.0% (treatment without grain) to 24.0% (treatment with grain) with the compound 1,8-cineole, while the larvae mortality with eugenol decreased from 48.0% (treatment without grain) to 1.5% (treatment with grain). Significantly higher efficiency in the control of *T. castaneum* larvae showed 1,8-cineole in both fumigation treatments. In the filled space efficiency of 1,8-cineole is reduced by 3.5 times and eugenol as much as 32 times.

Key words: 1,8-cineole, eugenol, larvae, *Tribolium castaneum*, fumigation

* e-mail address: aliska@pfos.hr