

INSEKTICÍDNY ÚČINOK ESENCIÁLNYCH OLEJOV VOČÍ LYKOŽRÚTOVI SMREKOVÉMU

INSECTICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST SPRUCE BARK BEETLE

Silvia MUDRONČEKOVÁ¹ – Ján FERENČÍK¹ – Daniela GRULOVÁ² – Marek BARTA³

ABSTRACT

Spruce Bark beetles (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) belong to the important pests of spruce forests. Ips typographus, the most destructive species of bark beetles, has invaded the High Tatras after wind storm in 2004 and has spread to relatively uninfluenced forest environment causing huge economic losses. The aim of our study was to test the insecticidal activity of six essential oils (extracted from Origanum vulgare, Thymus vulgaris, Hyssopus officinalis, Mentha × piperita, Pimpinella anisum and Foeniculum vulgare) against spruce bark beetle (Ips typographus). In our work we analysed the insecticidal effects of different concentrations of particular EOs and we also compared the insecticidal effects of particular EOs. IT adults were exposed to different concentrations of EOs, and their effects were recorded 2–96 h post-treatment. The greatest insecticidal effect was detected for O. vulgare, T. vulgaris, and P. anisum; but O. vulgare EO was significantly more toxic at all doses or exposure times. Mentha × piperita EOs did not exhibited insecticidal activity against IT. To our knowledge, this is the first time that EOs biological activity against IT was studied.

KEYWORDS

Apiaceae, integrated pest management, Ips typographus, Lamiaceae, natural products

ÚVOD

Lesy tvoria najrozšírenejší typ vegetácie v biosfére a v rámci Slovenska tvoria takmer polovicu rozlohy našej krajiny. Zvláštnosťou našich lesov je skutočnosť, že na relatívne malej ploche sa vyskytujú pestré prírodné podmienky, čo sa odráža na výskyte rozličných typov lesov (ČABOUN a kol. 2008). Stabilitu ekosystému ovplyvňujú abiotické a biotické faktory prostredia. Najvýznamnejším činiteľom destabilizácie lesov je vietor a podkórny hmyz. Premnoženie nežiaduceho hmyzu rastie čo do veľkosti a závažnosti v celosvetovom meradle (SIX et al. 2014). Jedným z najvýznamnejších hmyzích škodcov dospelých smrekových porastov v celej Eurázii je lykožrút smrekový (IT). Predzvesťou ich premnoženia sú veterné kalamity, ktoré poskytujú podkórnikom bohaté potravové zdroje. Integrovaná ochrana pred škodcami je celosvetovo uznávaný systém kombinujúci mechanické, technologické, biologické a chemické metódy ochrany (KUNCA et al. 2011; SIX et al. 2014; WERMELINGER 2004).

¹ Výskumná stanica a múzeum Štátnych lesov TANAPu, Tatranská Lomnica 64, SK – 059 60 Vysoké Tatry, Slovensko; e-mail: mudroncekova.silvia@gmail.com,

² Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, Ul. 17. Novembra č.1, SK – 081 16 Prešov, Slovensko; e-mail: daniela.grulova@unipo.sk

³ Ústav Ekológie lesa SAV, oddelenie fytopatológie a mykológie, Akademická 2, SK – 949 01 Nitra, Slovensko; e-mail: marek.barta@savba.sk

V súčasnosti sa silice používajú ako alternatíva k bežnej chemickej ochrane voči škodcom a predstavujú perspektívnu formu biologickej regulácie nežiadúceho hmyzu (LOPEZ et al., 2008, TRIPATHI et al., 2009, ABDELGALEIL et al. 2016; ARAÚJO a kol. 2017; KOUTSAVITI a kol. 2018). Silice resp. esenciálne oleje (EO) rastlín a ich obsahové látky najmä v posledných rokoch získavajú rastúci záujem nie len pre ľudské zdravie, ale aj v širokom využití v poľnohospodárstve ako bio-insekticídy (ORMANCEY a kol., 2001; PEIXOTO et al. 2015; RATTAN 2010; THORMAR 2012). Skutočnosť, že prírodné látky sú biologicky odbúrateľné, oživuje záujem k prírodným zdrojom bez zaťažovania ekosystémov. Vyše 1500 druhov rastlín vykazuje insekticídne účinky, aj napriek vedomiu, že syntetické insekticídy sú účinnejšie ako tie rastlinné, stále viac sa dbá o trvalo udržateľný rozvoj bez chemického zaťaženia (KUMAR a kol. 2011). Tieto sekundárne metabolity rastlín sú dôležitou súčasťou ochrany rastlín voči herbivornému hmyzu. Môžu pôsobiť toxicky kontaktne - prienikom cez integument hmyzu, fumigantne - prostredníctvom dýchacieho systému alebo prostredníctvom zažívacieho aparátu (požerový účinok) (PRATES a kol., 1998).

EO sú veľmi zložité prírodné zmesi, ktoré môžu obsahovať približne 20 až 60 zložiek v úplne odlišných koncentráciách. Zvyčajne sú charakterizované dvoma alebo tromi hlavnými zložkami, ktoré sú obsahovo vysoko zastúpené (20–70%) v porovnaní s inými zložkami prítomnými v stopových množstvách (BAKKALI et al. 2008; ISMAN 2000). EO zahŕňajú terpénové zlúčeniny, najmä monoterpény, monoterpenoidy, seskviterpény a seskviterpenoidy a rôzne iné aromatické zložky, ako sú alkoholy, aldehydy, estery, étery a ketóny. EO niekoľkých rastlín z čeľadí ako *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae* a *Myrtaceae* môžu vykazovať toxické, repelentné, fumigantné, reprodukčné a i. účinky proti rôznym škodcom hmyzu (SHAAYA a RAFAELI 2007; EBADOLLAHI a JALALI-SENDI 2015; ISMAN a GRIENEISEN 2014). Napriek tomu, že účinky EO boli testované proti mnohým druhom hmyzu (SAMPSON et al. 2005; BHATHAL a SINGH 1993; CHOI et al. 2003, GONZALEZ-COLOMA et al. 2013), efekt na lykožrútovi smrekovom bol prvýkrát popísaný len nedávno (MUDRONČEKOVÁ et al. 2018). Zložky silíc-EO *Origanum vulgare* (L.), *Pimpinella anisum* (L.) a *Thymus vulgaris* (L.) vykazujú silnú kontaktnú toxicitu proti viacerým druhom švábov alebo chrobákov, napr. *Blattella germanica*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae*, *Acanthosceides obtectus* (YEOM a kol., 2012; KIM a kol., 2010; SAROUKOLAI a kol., 2010; REGNAULT-ROGER a HAMRAOUI 1995; REGNAULT-ROGER a kol. 2012). Cieľom testovania rôznych EO je vyselektovanie takých, ktoré majú vysokú účinnosť voči IT, s možnosťou ich využitia v podobe bioinsekticídov alebo repelentu v rámci ochrany lesa kombinovanými metódami.

MATERIÁLY A METÓDY

Hmyz

Imága *Ips typographus* sa vyberali z prirodzene naletených smrekových stromov lesov TANAP-u (49.167168°N, 20.138477°E) počas júla až septembra 2016. Naletené polená lykožrútkami boli odkôrnené a lykožrúty opatrne vyberané z galérii, aby nedošlo k poškodeniu tela jedinca. Použili sa len dospelé jedince, okamžite vybraté z galérii, bez predchádzajúceho uchovávaní v boxoch.

Esenciálne oleje

EO sme nadobudli od spoločnosti Calendula a.s. (Nová Lubovňa, Slovensko) ako obchodné esenciálne oleje – štyri EO z rastlín *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Hyssopus officinalis* a *Mentha × piperita* L. patriace do čeľade *Lamiaceae* a dva druhy *Pimpinella anisum* a *Foeniculum vulgare* Mill. patriace do čeľadi *Apiaceae*.

Analýza GC / MS a identifikácia komponentov

Vzorky EO sme analyzovali pomocou plynovej chromatografie / hmotnostná spektrometria (GC / MS) na Prešovskej univerzite (Prešov, Slovensko). Na analýzu sme použili zariadenie Varian 450-GC spojený s hmotnostným spektrometrom Varian 220-MS IT (Varian, Inc., CA, USA). Separácia esenciálneho oleja prebiehala na kolóne Bruker Br-5ms ms (30 m x 0,25 mm ID, hrúbka filmu 0,25 μm ; Bruker Daltonics Inc., MA, USA). Injektor typu 1177 sa zahrial na teplotu 220 ° C. Režim vstrekovania - mód splitless (1 μl Lanalytív pomere 1:1,000 rozpúšťadla n-hexánu). Ako nosný plyn sa použilo hélium s konštantným prietokom kolóny 1,2 ml min⁻¹. Teplotný program kolóny bol naprogramovaný do štyroch krokov: (1) 50 ° C pre 10 min, (2) 100 ° C pri 3 ° C min⁻¹, (3) izotermická počas 5 minúta (4) 150 ° C pri 10 ° C min⁻¹. Celkový čas analýzy trval 87,67 min. Záchyt MS bol zahrievaný na 200 ° C, rozdeľovač 50 ° C a prenosovej línii 270 ° C. Hmotnostné spektrá sa skenovali každú sekundu v rozmedzí 40-650 m/z. Retenčné indexy sa stanovovali vo vzťahu k hodnotám Rt homológnych série n-alkánov (C10-C35) za rovnakých podmienok. Zložky boli identifikované porovnaním ich retenčných indexov (RI) s renomovanou literatúrou. Ďalšia identifikácia sa uskutočnila porovnaním hmotnostných spektier buď s dátami uloženými v NIST 02 alebo s literatúrou (ADAMS 2007). Relatívne koncentrácie zložiek boli hodnotené ako percento normalizácie plochy píku.

Insekticídny účinok

Insekticídny účinok EO bol stanovený metódou kontaktnej toxicity. Každá pokusná jednotka pozostávala zo sklenenej Petriho misky (60 × 15 mm), obsahujúca filtračný papier (priemer 60 mm; Whatman No. 1) umiestnený na dne misky. Použilo sa päť rôznych koncentrácií EO (0.017, 0.043, 0.084, 0.123 a 0.161 $\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-2}$). Na povrch filtračného papiera sme naniesli 50 μl príslušného roztoku EO. Na kontrolu bol použitý iba acetón. Po 10 minútach, akonáhle sa rozpúšťadlo odparilo, 10 dospelých lykožrútov (bez determinácie pohlavia) sa vložilo do každej Petriho misky. Petriho misky boli uložené v tme pri teplote $23 \pm 1^\circ\text{C}$ a 70-80% relatívnej vlhkosti. Mortalitu lykožrútov sme zaznamenávali po 24, 48, 72, 96 hodinách. Jedince sme považovali za mŕtve, až v prípade, keď pod binokulárnou lupou neboli zaznamenané žiadne pohyby nôh, alebo tykadiel ani po stimulácii entomologickou pinzetou. Experimentálny dizajn bol náhodný s desiatimi opakovaniami pre každý EO a koncentráciu.

Analýza dát

Priemerná úmrtnosť lykožrútov v teste kontaktnej toxicity sa vyhodnotila štatistickým

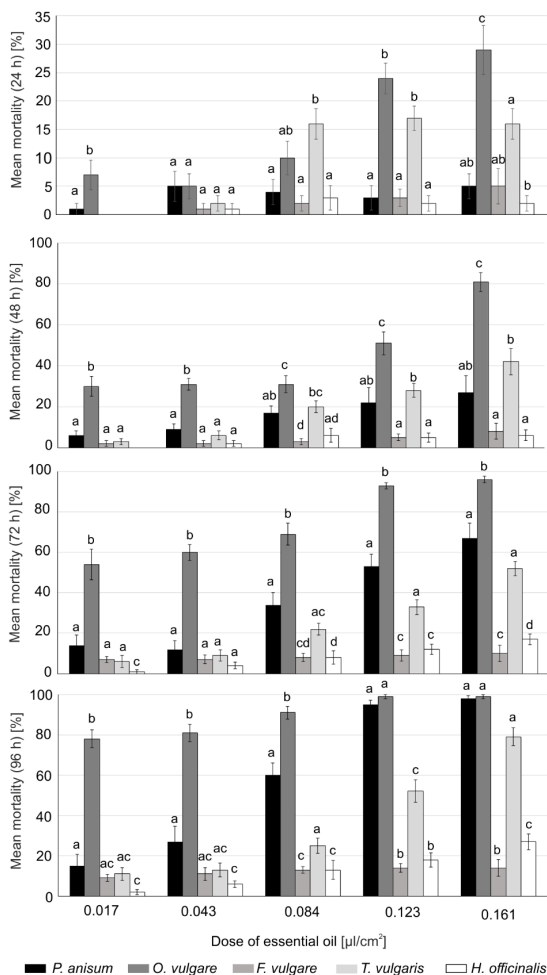
testom ANOVA na stanovenie rozdielov medzi EO a koncentráciami. Test post-hoc Tukey HSD sa použil na rozlíšenie a porovnanie priemerov v prípade, že boli zistené významné rozdiely ($p = 0,05$). Kumulatívnu mortalitu z testu toxicity sme vyhodnotili probitovou analýzou (FINNEY 1971) na výpočet letálnych dávok (LD50, LD90) a letálnych časov (LT50, LT90) s 95% intervalom spoľahlivosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýzy GC-MS sme identifikovali 25 zlúčenín v EO *O. vulgare*, 20 v EO *M. piperita*, 19 v *H. officinalis* a 18 v EO *P. anisum*, *T. vulgaris* a *F. vulgare*, čo zodpovedá 99,2; 98,4; 96,8; 98,5; 99,6 a 99,1%, v danom poradí. Chemický profil každého EO je charakterizovaný 2-3 dominantnými a niekoľkými menej významnými zložkami. Hlavné zložky EO patria hlavne do troch chemických skupín: oksyložené monoterpény, monoterpénové uhľovodíky a fenolové zlúčeniny. Mentol (49,3%), mentón (22,4%) a limonén (9,4%) dominoval v esenciálnom oleji *M. × piperita*; EO *O. vulgare* bol charakterizovaný hlavne karvacrolom (78,2%), p-cyménom (4,4%) a γ -terpinénom (3,2%); EO *T. vulgaris* obsahoval hlavne tymol (50,4%), limonén (33,6%) a fenacylacetát (4,6%); EO *H. officinalis* bol charakterizovaný cis-pinocamphone (44,4%), izopinokamfón (25,2%) a β -pinén (12,3%); EO *P. anisum* obsahoval dve hlavné zložky anetolu (88,6%) a estragolu (4,4%); a EO *F. vulgare* väčšinou anetol (65,5%), fenchón (20,2%) a estragol (5,0%). Chemický profil každého EO je podrobne popísaný v publikácii MUDRONČEKOVÁ et al. (2018). EO šiestich aromatických rastlín z *Lamiaceae* a *Apiaceae* vykazujú rozdiel v percentuálnom pomere komponentov s publikovanými údajmi v renomovaných časopisoch rôznych autorov. Tieto rozdiely v kompozícii esenciálnych olejov môžu vzniknúť z abiotických a environmentálnych faktorov (klimatické, sezónne, geografické), alebo genetické rozdiely, rôzne chemotypy, nutričný stav a zbieraná časť rastliny (Esen a kol., 2007; Kordali a kol., 2008; Kim a kol., 2010; Daferera a kol., 2003; Nenaah a kol., 2014; Perry a kol., 1999; Isman and Machial 2006; Orth a kol., 1999).

Napriek tomu, že účinky EO boli testované proti mnohým druhom hmyzu, tieto experimenty sú prvou správou o insekticídnej aktivite proti *I. typographus* (MUDRONČEKOVÁ et al. 2018). Bolo zistené, že by sa niektoré deriváty EO rastlín mohli použiť ako produkty vhodné na integrovanú ochranu proti škodcom, pretože sú charakterizované nemajú žiadny škodlivý účinok na necieľové organizmy, ani na životné prostredie (SAROUKOLAI a kol., 2010; ARNASON a kol., 1989; SCHMUTTERER 1992; HEDIN a kol., 1997; ISMAN 2000). Mnohé EO rastlín vykazujú akútnu toxicitu proti mnohým druhom hmyzu vďaka ich zložitým zmesiam monoterpenoidov a príbuzných fenolov (SINGH a kol. 1980; WANG a kol. 2009; ISMAN 2000). EO rastlín použité v našich experimentoch sú bohaté na anetol, karvakrol, estragol, fenchón, mentol, mentón, limonén (ESEN a kol., 2007; KORDALI a kol., 2008; GONZALES – COLOMA a kol., 2013) a kvôli ich vysokej prchavosti majú často silné fumigantné účinky s insekticídnu a akaricídnu aktivitou (Ho et al., 1997, CHANG a AHN 2002, SZCZEPANIK a kol. 2018, PARK a kol., 2017). V našich testoch sa insekticídny účinok prejavil u všetkých EO s výnimkou *M. piperita*. EO máty nespôsobil mortalitu v žiadnej sledovanej koncentrácii počas celej doby trvania pokusu. Pri ostatných olejoch sa miera úmrtnosti výrazne líšila v závislosti od typu EO, koncentrácie a času expozície. V kontrolnej pokusnej jednotke, počas celej doby trvania pokusu, všetky lykožrúty zostali živé a aktívne.

Toxický účinok olejov sa zvyšoval so zvyšujúcou koncentráciou, ale aj v závislosti od času. Najúčinnější bol *O. vulgare*, *P. anisum* a *T. vulgare*. Pearsonova korelačná analýza potvrdila významnú pozitívnu koreláciu medzi kumulatívnou úmrtnosťou a dávkou EO ($r = 0,975$, $p = 0,005$ pre *P. anisum*, $r = 0,963$, $p = 0,008$ pre *O. vulgare*, $r = 0,926$, $p = 0,024$ pre *F. vulgare*; $r = 0,972$, $p = 0,006$ pre *T. vulgaris*; a $r = 0,996$, $p = 0,005$ pre *H. officinalis*). Významné ($p < 0,05$) rozdiely v mortalite IT boli zaznamenané aj medzi EO v rámci rovnakého času expozície a letálnej dávky (obrázok 1).



Obrázok 1. Priemerná % mortalita dospelých *Ips typografus* po ošetrení rôznymi dávkami rastlinných silíc (*Pimpinella anisum*, *Origanum vulgare*, *Foeniculum vulgare*, *Thymus vulgaris* a *Hyssopus officinalis*) v priebehu 24-96 hodín. Slúpce predstavujúce úmrtnosť a písmená v stĺpci znázorňujú signifikantné rozdiely medzi olejmi v rámci tej istej koncentrácie ($P = 0,05$; Tukey's HSD test).

Najväčší insekticídny účinok sa zistil u troch EO, *O. vulgare*, *T. vulgaris* a *P. anisum* s celkovou úmrtnosťou 99, 98 alebo 78% na konci testu (po 96 hodinách expozície) a dávkou 0,161 $\mu\text{l.cm}^{-2}$. Esenciálny olej *O. vulgare* bol významne ($p < 0,05$) toxickejší takmer vo všetkých dávkach alebo časoch expozície ako *T. vulgaris* a *P. anisum*. EO *Thymus vulgaris* vykazoval vyššiu toxicitu ako *P. anisum* počas prvých 48 hodín expozície, ale *P. anisum* bol účinnejší v dlhších expozičných časoch (te \geq 72 hodín). *Origanum vulgare* bol pre IT najtoxickejší a spôsobil úmrtnosť od 7-78% pri najnižšej dávke (0,017 $\mu\text{l.cm}^{-2}$) a 29-99% pri najvyššej dávke (0,161 $\mu\text{l.cm}^{-2}$) v závislosti od času expozície. Esenciálne oleje *F. vulgare* a *H. officinalis* nepreukázali žiadnu alebo slabú toxicitu voči lykožrútom v závislosti od dávky a času expozície. Pri najvyššej dávke (0,161 $\mu\text{l.cm}^{-2}$) *F. vulgare* spôsobil maximálnu mortalitu 14% a *H. officinalis* 27% za 96 hodín.

V prípade troch najúčinnejších EO, *O. vulgare*, *T. vulgaris* a *P. anisum* sme probitovou analýzou stanovili hodnoty letálnych koncentrácií (LC_{50} , LC_{90}) (Tab. 1) a letálnych časov (LT_{50} , LT_{90}) (Tab.2) s 95% intervalmi spoľahlivosti. Hodnoty letálnych dávok boli vypočítané pre časy expozície 72 a 96 hodín v prípade olejov *P. anisum* a *T. vulgaris* a v prípade oleja *O. vulgare* 48, 72, 96 hodín. Doba expozície 24 alebo 48 hodín nebola zahrnutá do analýzy z dôvodu nízkej mortality. Hodnoty LD vykazujú najvyššiu toxicitu pre olej *O. vulgare* ($LD_{50} = 0,006 \pm 0,002 \mu\text{l.cm}^{-2}$, $LD_{90} = 0,054 \pm 0,008 \mu\text{l.cm}^{-2}$ 96 hodín po ošetrení). Z analyzovaných EO sa insekticídny účinok zvýšil v tomto poradí *T. vulgaris* < *P. anisum* < *O. vulgare*. Čas potrebný na zabitie 50% dospelých lykožrútov závisel od typu a dávky EO. Vo všeobecnosti najrýchlejšie usmrtil chrobáky esenciálny olej *O. vulgare* potom *P. anisum* a nakoniec *T. vulgaris*. Hodnoty letálneho času (LT) EO *O. vulgare* sa pohybovali v rozmedzí $31,34 \pm 1,46$ h pre maximálnu dávku (0,161 $\mu\text{l.cm}^{-2}$) a $64,03 \pm 2,83$ h pre minimálnu dávku (0,017 $\mu\text{l.cm}^{-2}$). Hodnoty LT neboli vyhodnocované pre dávky $\leq 0,043 \mu\text{l.cm}^{-2}$ a $\leq 0,084 \mu\text{l.cm}^{-2}$ v prípade olejov *P. anisum* a *T. vulgaris*, z dôvodu nízkej mortality.

EO z *O. vulgare*, *T. vulgaris* a *P. anisum* mali významný insekticídny účinok proti dospelým *I. typographus*. Vzhľadom na fakt, že neexistuje štúdia testujúca vplyv esenciálnych olejov na lykožrúta smrekového, výber rastlín a ich olejov sme vyberali na základe početných správ a publikácií o insekticídnych účinkoch na druhy hmyzu z radu Coleoptera (KIM a kol., 2010; PRATES a kol., 1998; GARCÌA a kol., 2005; GONZALES – COLOMA a kol., 2013; NENAAH a IBRAHIM 2011; PAVELA 2011; SAROUKOLAI a kol., 2010).

Naším cieľom bolo testovať nový potencionalný bioinsekticíd pre možnosti využitia kombinovanej metódy ochrany lesa s využitím tradičných metód. Mohli by byť užitočnými prostriedkami pre ovplyvnenie preferencie a ataku smrekov lykožrútmí, ochrany jednotlivých stromov spoločenského významu alebo skládok dreva. Záverom je, že *O. vulgare* má veľmi vysoký a rýchly nástup insekticídneho účinku a *M. piperita* sa javí ako atraktant, ktorú je nutné potvrdiť ďalšími experimentmi. Pred zavedením biologickej kontroly lykožrútov prostredníctvom esenciálnych olejov do praxe sú potrebné ešte ďalšie experimenty. Testovanie by sa malo zamerať na identifikáciu tých komponentov, ktoré sú zodpovedné za vysokú účinnosť EO a na štúdium účinnosti hlavných zložiek EO voči lykožrútom. Ďalej repelentné účinky, či štúdium in vivo účinkov EO a ich jednotlivých zložiek na necieľové druhy je tiež dôležité. Dospeli sme k záveru, že EO môžu mať potenciál ako alternatíva k chemickej kontrole, a preto môžu byť posúdené pre začlenenie integrovanej ochrany proti škodcom tohto škodcu.

Tabuľka 1. Priemerná letálna dávka (LD_{50} and LD_{90}) z probitovej analýzy testujúca insekticídnu aktivitu esenciálnych olejov proti imágam lykožrúta smrekového po 48, 72 a 96 hodinách.

Essential oils	t_c (h)	$LD_{50} \pm SE^*$ ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	95% CI^{**} ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	$LD_{90} \pm SE^*$ ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	95% CI^{**} ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	Slope $\pm SE^*$	p^{***}	χ^2^{****}
<i>Pimpinella anisum</i>	72	0.1117 ± 0.011	$0.099 - 0.145$	0.645 ± 0.163	$0.428 - 1.212$	0.75 ± 0.09	< 0.001	0.511
	96	0.0553 ± 0.003	$0.0473 - 0.059$	0.139 ± 0.011	$0.121 - 0.166$	1.32 ± 0.09	< 0.001	0.444
	48	0.088 ± 0.011	$0.069 - 0.118$	1.260 ± 0.584	$0.623 - 4.564$	0.48 ± 0.07	< 0.001	0.318
<i>Origanum vulgare</i>	72	0.020 ± 0.003	$0.014 - 0.027$	0.157 ± 0.027	$0.119 - 0.239$	0.63 ± 0.08	< 0.001	0.650
	96	0.006 ± 0.002	$0.002 - 0.011$	0.054 ± 0.008	$0.041 - 0.073$	0.59 ± 0.10	< 0.001	0.488
<i>Thymus vulgaris</i>	72	0.194 ± 0.026	$0.155 - 0.272$	1.035 ± 0.347	$0.610 - 2.494$	0.77 ± 0.10	< 0.001	0.431
	96	0.110 ± 0.008	$0.096 - 0.129$	0.447 ± 0.083	$0.329 - 0.699$	0.91 ± 0.09	< 0.001	0.525

*SE – stredná chyba priemeru, **CI – 95% interval spoľahlivosti, ***p – hodnota regresnej analýzy, **** Pearsonov test χ^2 dobrej zhody pre analýzu ($p = 0.05$, $df = 3$)

Tabuľka 2. Priemerný letálny čas (LT_{50} and LT_{90}) z probitovej analýzy testujúca insekticídnu aktivitu esenciálnych olejov proti imágam lykožrúta smrekového v závislosti od času expozície pri rôznych koncentráciách (c) oleja.

Essential oils	d ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	$LT_{50} \pm SE^*$ (h)	95% CI^{**} (h)	$LT_{90} \pm SE^*$ (h)	95% CI^{**} (h)	Slope $\pm SE^*$	p^{***}	χ^2^{****}
	0.084	87.55 \pm 5.34	78.70 – 100.96	207.70 \pm 31.18	163.31 – 304.32	1.48 \pm 0.18	< 0.001	0.225
<i>P. anisum</i>	0.123	62.60 \pm 1.96	58.79 – 66.58	103.82 \pm 5.63	94.58 – 117.68	2.53 \pm 0.23	< 0.001	0.315
	0.161	56.27 \pm 1.82	52.68 – 59.91	94.19 \pm 4.77	4.77 – 105.64	2.49 \pm 0.21	< 0.001	0.145
	0.017	64.03 \pm 2.83	58.76 – 70.13	141.59 \pm 13.68	120.46 – 178.35	1.62 \pm 0.16	< 0.001	0.747
	0.043	61.49 \pm 2.43	56.85 – 66.57	123.76 \pm 9.68	108.39 – 148.69	1.83 \pm 0.17	< 0.001	0.505
<i>O. vulgare</i>	0.084	54.36 \pm 2.12	50.24 – 58.67	107.04 \pm 7.26	95.23 – 125.06	1.89 \pm 0.17	< 0.001	0.112
	0.123	38.55 \pm 1.65	35.24 – 41.78	74.47 \pm 4.32	67.24 – 84.82	1.94 \pm 0.17	< 0.001	0.025
	0.161	31.34 \pm 1.46	28.36 – 34.15	57.98 \pm 3.17	52.62 – 65.50	2.08 \pm 0.19	< 0.001	0.011
<i>T. vulgaris</i>	0.123	112.64 \pm 18.17	87.99 – 180.63	691.84 \pm 338.90	342.99 – 3205.12	0.71 \pm 0.14	< 0.001	0.332
	0.161	57.66 \pm 3.24	51.58 – 64.69	168.55 \pm 23.65	134.15 – 239.02	1.19 \pm 0.14	< 0.001	0.264

*SE – stredná chyba priemeru, **CI – 95% interval spoľahlivosti, ***p – hodnota regresnej analýzy,

**** Pearsonov test χ^2 dobrej zhody pre analýzu ($p = 0.05$, $df = 2$)

LITERATÚRA

- ABDELGALEIL, S.A.M. – MOHAMED, M.I.E. – SHAWIR, M.S. – ABOU-TALEB, H.K., 2016. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J Pest Sci.*, 89: 219–229. <https://doi.org/10.1007/s1034-0-015-0665-z>
- ADAMS, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, 4th edn. Allured Publishing Corporation, Carol Stream
- ARAÚJO – A.M.N. – FARONI, L.R.D. – OLIVEIRA, J.V. et al. 2017. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *J Pest Sci.*, 90: 589–600. <https://doi.org/10.1007/s1034-0-016-0822-z>
- ARNASON, J.T., – PHILOGENE, B.J.R. – MORAND, P. – IMRIE, K. – IYENGAR, S. – DUVAL, F., SOUCY-BREAU, C. – SCAIANO, J.C. – WERSTIUK, N.H. – HASSPIELER, B. – DOWNE, A.E.R., 1989. Naturally occurring and synthetic thiophenes asphoactivated insecticides. In: ARNASON JT, PHILOGENE BJR, MORAND P (eds) *Insecticides of plant origin*. ACS Symp series no 387. American Chemical Society, Washington DC, 164–172 pp.
- BHATHAL, S.S. – SINGH, D. 1993. Toxic and developmental effects of some neem products against mustard aphid *Lipaphis erysimi* (Kalt.) through leaf surface treatment. *J Insect Sci* 6:226–228
- ČABOUN, V. – HLÁSNÝ, T. – IŠTONA, J. – JANKOVIČ, J. – KAŠTIER, P. – KOVALČÍK, M. – KUNCA, A. – LONGAUER, R. et al. 2008. *Lesy a lesníctvo na Slovensku*, NLC, ISBN: 978-80-8093-063-9
- CHANG, K.S. – AHN, Y.J., 2002. Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. *Pest Manag Sci.* 58: 161–166. <https://doi.org/10.1002/ps.435>
- CHOI, W.I – LEE, E.H. – CHOI, B.R. – PARK, H.M. – AHN, Y.J. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: aleyrodidae). *J Econ Entomol* 96:1479–1484. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-96.5.1479>
- DAFERERA, D.J. – ZIAGOS, B.N. – POLISSIOU, M.G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protect.*, 22: 39–44.
- ESEN, G. – AZAZ, A.D. – KURKCUOGLU, M – BASER, K.H.C – TINNAZ, A., 2007. Essential oil and antimicrobial activity of wild and cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) letswaart from the Marmara region, Turkey. *Flavour Fragr J.*, 22: 371–376. <https://doi.org/10.1002/ffj.1808>
- FINNEY, D.J., 1971. *Probit analysis*. Cambridge University Press, London, 68–78 pp.
- GARCÍA, M. – DONAEL, O.J. – ARDANAZ, C.E. – TONN, C.E. – SOSA, M.E., 2005. Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Manag Sci.*, 61: 612–618. <https://doi.org/10.1002/ps.1028>
- GONZALEZ-COLOMA, A. – REINA, M. – DIAZ, C.E. – FRAGA, B.M. – SANTANA-MERIDAS, O., 2013. Natural product-based biopesticides for insect control. In: Mander L, Liu HW (eds) *Comprehensive natural products II*. Elsevier, Oxford, 237–268 pp.
- HEDIN, P.A. – HOLLINGSWORTH, R.M. – MASLER, E.P. – MIYAMOTO, J. – THOMPSON, D.G., 1997. Phytochemicals for pest control, In: ACS Symp series (Eds.) American Chemical Society, Washington DC., 658 pp.
- HO, S.H. – MA, Y. – HUANG, Y., 1997. Anethole, a potential insecticide from *Illicium verum* Hook F., against two stored product insects. *International. Pest Control.* 39 (2): 50–51 .
- ISMAN, M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, 19: 603–608.
- ISMAN, M.B. – MACHIAL, C.M., 2006. Pesticides based on plant essential oils from traditional practice to commercialization. In: Rai MC, Carpinella M (eds) *Naturally occurring bioactive compounds*. Elsevier, Amsterdam, 29–44 pp.
- KIM, S.I. – YOON, J.S. – JUNG, J.W. – HONG, K.B. – AHN, Y.J. – KWON, H.W., 2010. Toxicity and repellency of *origanum* essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *J Asia-Pac Entomol.*, 13: 369–373. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.06.011>
- KORDIALI, S. – ÇAKIR, A. – OZER, H. – ÇAKMAKCI, R. – KESDEK, M. – MERE, E., 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Biores. Technol.*, 99: 8788–8795.

- KOUTSAVITI, A – ANTONOPOULOU, V. – VLASSI, A. et al., 2018. Chemical composition and fumigant activity of essential oils from six plant families against *Sitophilus oryzae* (Col: Curculionidae). *J Pest Sci.* 91: 873–886. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0934-0>
- KUNCA, A. – NIKOLOV, CH. – VAKULA, J. – LEONTOVYČ, R. – GALKO, J. – ZÚBRİK, M., 2011. Vplyv aktívnej a pasívnej ochrany na šírenie kalamity sekundárnych škodlivých činiteľov. Národné lesnícke centrum, Žvolen, 42s. ISBN 978–8093–135-3.
- KUMAR, P. – MISHRA, S. – MALIK, A. – SATYA, S. 2011. Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Ind Crop Prod* 34:802–817. <https://doi.org/10.1016/j.indcr op.2011.02.019>
- LOPEZ, M. – JORDAN, M. – PASCUAL-VILLALOBOS, M., 2008. Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pest. *J Stored Prod Res.* 44: 273–278.
- MUDRONČEKOVÁ, S. – FERENČÍK, J. – GRUJOVÁ, D. – BARTA, M., 2018. Insecticidal and repellent effects of plant essential oils against *Ips typographus*. *J Pest Sci.* <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1038-1>
- NENAAH, G.E. – IBRAHIM, S.I.A., 2011. Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles. *J Pest Sci.* 84: 393–402. <https://doi.org/10.1007/s10340-011-0354-5>
- NENAAH, G.E., 2014. Chemical composition, insecticidal and repellence activities of essential oils of three *Achillea* species against the Khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae). *J Pest Sci.* 87: 273–283. <https://doi.org/10.1007/s10340-0-013-0547-1>
- ORMANCEY, X. – SISALLI, S. – COUTIERE, P. 2001. Formulation of essential oils in functional perfumery. In: *Parfums. Cosmetiques. Actualites.* Vol. 157, pp. 30–40.
- ORTH, M. – CZYGAN, F.C. – DEDKOV, V.P., 1999. Variation in essential oil composition and chiral monoterpenes of *Achillea millefolium* l. s. from Kaliningrad. *J Essent Oil Res.* 11: 681–687. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9711995>
- PERRY, N.B. – ANDERSON, R.E. – BRENNAN, N.J. – DOUGLAS, M.H. – HEANEY, A.J. – MCGRIMPSEY, J.A. – SMALLFIELD, B.M., 1999. Essential oil from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.), variations among individuals, plant parts, seasons and sites. *J Agric Food Chem.* 47: 2048–2054. <https://doi.org/10.1021/jf981170m>
- PAVELA, R., 2011. Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. *Ind Crop Prod.* 34: 888–892. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.02.014>
- PARK, J.H. – JEON, Y.J. – LEE, C.H. – CHUNG, N. – LEE, H.S., 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Sci Rep.* 7: 40902. <https://doi.org/10.1038/srep40902>
- PRATES, H.T. – SANTOS, J.P. – MAQUIL, T.M. – FABRIS, J.D. – OLIVEIRA, A.B. – FOSTER, J.E., 1998. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Stored Prod Res.* 34: 243–249. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(98\)00005-8](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(98)00005-8)
- PEIXOTO, M.G. – BACCI, L. – BLANK, A.F. – ARAÚJO, A.P.A. – ALVES, P.B. et al., 2015. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain Insects. *Ind crop prod* 71:31–36. <https://doi.org/10.1016/j.indcrOp.2015.03.084>
- RATTAN, R.S. 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot* 29:913–920. <https://doi.org/10.1016/j.cropr o.2010.05.008>
- REGNAULT-ROGER C. – HAMRAOUI, A., 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Stored Prod Res.* 31: 291–299. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(95\)00025-3](https://doi.org/10.1016/0022-474X(95)00025-3)
- REGNAULT-ROGER, C. – VINCENT, C. – ARNASON, J.T., 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu Rev Entomol.* 57: 405–424. <https://doi.org/10.1146/annur ev-ento-120710-100554>
- SAMPSON, B.J. – TABANCA, N. – KIRIMER, N. – DEMIRCI, B. et al. 2005. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Manag Sci* 61:1122–1128. <https://doi.org/10.1002/ps.1100>

- SAROUKOLAI, A.T. – MOHARRAMIPOUR, S. – MESHKATASADAT, M.H., 2010. Insecticidal properties of *Thymus persicus* essential oil against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *J Pest Sci.* 83: 3–8. <https://doi.org/10.1007/s10340-009-0261-1>
- SIX, D.L., BIBER, E., LONG, E., 2014. Management for Mountain Pine Beetle Outbreak Suppression: Does Relevant Science Support Current Policy? *Forests.* 5: 103-133. doi: <https://doi.org/10.3390/f5010103>.
- SCHMUTTERER, H., 1992. Control of diamondback moth by application of neem extracts. In: Talekar NS (ed) *Diamondback moth and other crucifer pests. Proceedings of Second International Workshop Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan, 325–332 pp.*
- SZCZEPANIK, M. – WALCZAK, M. – ZAWITOWSKA, B. – MICHALSKA-SIONKOWSKA, M. – SZUMNY, A. – WAWRZEŃCZYK, C. – BRZEZINSKA, M.S., 2018. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracunculus* L. essential oils. *J Sci Food Agr.* 98: 767–774. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8524>
- THORMAR, H., 2012. *Lipids and essential oils as antimicrobial agents.* Wiley, London
- TRIPATHI, A. – UPADHYAY, S. – BHUIYAN, M. – BHATTACHARYA, P., 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J Pharmacogn Phytother.* 1: 52–63.
- WANG, J.L. – LI, Y. – LEI, C.L., 2009. Evaluation of monoterpenes for the control of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Nat. Prod. Res.* 23: 1080–1088.
- WERMELINGER, B., 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. In: *Forest Ecology and Management* Vol. 202: 67 – 82.
- YEOM, H.J. – KANG, J.S. – KIM, G.H. – PARK, I.K., 2012. Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of apiaceae plant essential oils and their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*). *J Agric Food Chem.* 60: 7194–7203. <https://doi.org/10.1021/jf302009w>