

Izvorni znanstveni rad
Original scientific paper

UČINKOVITOST OZONA U SUZBIJANJU KUKACA

Darija LEMIĆ, Davor JEMBREK*, Lucija JANTOLEK*, Katarina ŠIMUNOVIĆ*,
Matej GENDA*, Marija Andrijana GALEŠIĆ*

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

* Izvod iz rada nagrađenog Rektorovom nagradom, Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet dlemic@agr.hr

Prihvaćeno: 5-12-2019

SAŽETAK

Napad kukaca unutar skladišnih objekata glavni je problem u industriji ljudske i životinjske hrane. Infekcije kukcima u skladišnim sustavima mogu dovesti do ekonomskih gubitaka od 9 do 20 %. Prisutnost kukaca i njihovi ostatci u zrnu i drugoj uskladištenoj hrani predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i stoke. Trenutno se štetnike u skladišnim prostorima suzbija kombinacijom različitih mjera, od čišćenja i hlađenja do tretmana uskladištenog materijala s kontaktnim insekticidima ili fumigacijom. Brojnost raspoloživih pesticida za tretiranje zrna i drugih uskladištenih proizvoda smanjuje se, a njihova ekotoksikološka svojstva povećavaju zabrinutost potrošača i društva zbog zaštite okoliša i sigurnosti, naglašavajući potrebu za alternativnim mjerama suzbijanja štetnika. Jedna je od potencijalnih mjera uporaba ozona. Iako mehanizam djelovanja ozona na kukce nije u potpunosti poznat, dišni sustav kukaca ciljano je područje djelovanja. Glavni cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi učinkovitost ozona u suzbijanju različitih vrsta kukaca. Istraživanje je provedeno na šest različitih vrsta kukaca koji su bili u različitim stadijima razvoja (odrasli: *Blatta lateralis*, *Blaptica dubia*, *Gryllus campestris*; ličinke: *Pachnoda sinuata flaviventris*, *Tenebrio molitor* i *Zophobas morio*). Rezultatima je utvrđeno štetno djelovanje ozona na kukce. Najveća učinkovitost ozoniranja utvrđena je kod kukaca kod kojih su ozonirane odrasle jedinke, a vrlo mala ili nikakva učinkovitost utvrđena je na tretiranim ličinkama. Učinkovitost ozona povećava se s povećanjem trajanja ozoniranja. Rezultati ovog istraživanja sugeriraju da ozoniranje ima potencijal da postane realan izbor u suzbijanju štetnih organizama u skladišnim sustavima sirovina za ljudsku i životinjsku prehranu ili gotovih proizvoda, samostalno ili kao nadopuna drugim metodama.

Ključne riječi: skladišni štetnici, ozon, ozoniranje, mortalitet, učinkovitost

OZONE EFFICIENCY IN INSECT SUPPRESSION

SUMMARY

Insect infestation within stored product facilities is a major concern to the animal and human food industry. Insect infestation in storage systems can result in economic losses of up to 9 till 20 %. Furthermore, the presence of insects and their remains in grain and stored food may pose a health risk to humans and livestock. At present, pests in commercial storages are managed by a combination of different methods ranging from cleaning and cooling to treatment of the stored material with contact insecticides or fumigation. The available pesticides for treatment of grain and other stored products are decreasing, owing in some cases to environmental and safety concerns among consumers and society, thus emphasizing the need for alternative pest control methods. One of the potential methods is the use of ozone. Although the mechanism of ozone action on insects is not completely known, the insect's respiratory system is a likely target. The main goal of this investigation was to determine efficacy of ozone in suppression of different insect pests. The investigation has been conducted on six different insect species which were in different growing stages (adults: *Blatta lateralis*, *Blaptica dubia*, *Gryllus campestris*; larvae: *Pachnoda sinuata flaviventris*, *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio*). The results have shown the harmful effects of ozone on insects. The maximum efficiency of ozonation was found in insects where adults have been treated and a very small or no efficacy was found in the treated larvae. Ozone efficiency increased with increasing ozone exposure. The results of this investigation suggest that ozone has the potential to become a realistic choice in suppressing harmful insects in storage systems for human and animal nutrition, either alone or as a complement to other methods.

Key words: storage pests, ozone, ozonation, mortality, efficiency

UVOD

Napad kukaca unutar skladišnih objekata glavni je problem u industriji ljudske i životinjske hrane. Skladišni sustavi (silosi, skladišta, kontejneri) savršena su staništa za kukce koji se hrane uskladištenom hranom: zaštićeni su od vremenskih ekstrema, imaju neograničen pristup izvoru hrane i žive neometano (Pimentel, 1991). Gubitci zbog oštećenja uskladištene hrane uzrokovani ishranom kukaca te kontaminacijom mikotoksinima mogu premašiti 500 milijuna dolara godišnje (Harein i Meronuck, 1995). Napadi kukaca u skladišnim prostorima mogu dovesti do ekonomskih gubitaka od 9 % u razvijenim zemljama, a do 20 % u zemljama u razvoju. Nadalje prisutnost kukaca i njihovi ostaci u zrnu i drugoj uskladištenoj hrani predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i stoke (Hansen, 2008). Trenutno se štetnici u

skladišnim prostorima suzbijaju kombinacijom različitih mjera, od čišćenja i hlađenja do termičke obrade uskladištenog materijala s kontaktnim insekticidima ili fumigacijom. Jaja i ličinački razvojni stadiji najčešće nisu izravno pogođeni kontaktnim insekticidima. Fumigacija djeluje na te razvojne stadije, ali je problematična jer ima visoku toksičnost te velik potencijal za razvoj rezistentnih sojeva štetnih kukaca (Rees, 1996). Brojnost raspoloživih pesticida za tretiranje zrna i drugih uskladištenih proizvoda iz godine u godinu se smanjuje, a njihova ekotoksikološka svojstva povećavaju zabrinutost potrošača i društva zbog zaštite okoliša i sigurnosti, naglašavajući potrebu za alternativnim mjerama suzbijanja štetnika. Osim u skladišnim sustavima, kontejneri u kojima se transportira i izvozi ljudska i životinjska hrana, ali i ukrasno bilje, potencijalna su mjesta zaraze brojnim štetnicima. Dok se voće i povrće uglavnom tretira prije izvoza kako bi se uništili štetnici (kao što su voćne muhe) koji mogu biti prisutni u samom plodu, većina ukrasnih biljaka otprema se bez obrade ako se vizualno ne primijete štetnici (van Gorsel, 1994). Zbog takvog pristupa i širokog raspona štetnika koji napadaju robu pripremljenu za izvoz, utvrđivanje štetnika na uvezenim ukrasnim proizvodima često je, a *napadnuta roba* mora biti vraćena, tretirana ili uništena. Standardni tretman u karanteni biljnog materijala bio je fumigacija s metil bromidom (Shelton i sur., 1996). Međutim, upotreba metil bromida zabranjena je 1995. jer je međunarodna konvencija ovaj fumigant povezala sa smanjenjem zaštitnog sloja ozona prisutnog u stratosferi zemlje (Johnson i sur., 1998).

Zbog navedenih ograničenih mogućnosti suzbijanja štetnika u skladišnim i transportnim sustavima te velikim potencijalom razvoja rezistentnosti kukaca na insekticide (Zettler i sur., 1989; Zettler i Cuperusi, 1990; Benhalima i sur., 2004), potrebne su nove mjere, tj. metode suzbijanja kukaca. Jedna od potencijalnih mjera je uporaba ozona koji se pokazao učinkovitim u malobrojnim test- istraživanjima (Erdman, 1980; Strait, 1998; Kells i sur., 2001; Leesch, 2003; Zhanggui i sur., 2003; Isikber i Öztekin, 2009). Iako mehanizam djelovanja ozona na kukce nije u potpunosti poznat, dišni sustav kukaca ciljano je područje djelovanja (Tiwari i sur., 2010). Ozon je vrlo reaktiv i oštećuje stanične membrane organizama uzrokujući oksidativni stres. Kada ozon uđe u stanicu, on oksidira sve bitne komponente (enzime, proteine, DNA, RNA). Kako se membrana ošteti tijekom ovog procesa, stanica se raspada i organizam ugiba (Hollingsworth i Armstrong, 2005; EPPA, 2018; Lenntech, 2019).

Ozon (O_3) plin je sastavljen od triju atoma kisika i prirodno se javlja u malim količinama u gornjoj atmosferi te maksimalne koncentracije ne prelaze 0,001 %. Ozon ima poluživot 20 - 50 minuta, brzo se raspada u dvoatomski kisik (O_2) te ima prirodnu komponentu u atmosferi (Msayleb, 2015). Raspadanjem u O_2 oslobođa se jedan atom kisika koji je visoko reaktiv (NASA, 2016). Ovaj pojedinačni slobodni kisik reagira sa staničnom membranom organizama i narušava njenu normalnu staničnu aktivnost (EPPA, 2018). Ako se ozon spoji s hlapljivim organskim spojem u zraku, slobodni atom kisika reagira s njim

uklanjajući mirise (EPPA, 2018). Budući da se ozon može lako generirati na mjestu tretmana samo pomoću struje i zraka, on nudi nekoliko sigurnosnih prednosti u odnosu na kemijske pesticide. Prvo - ne postoje skladišta otrovnih kemikalija ni opasnosti kemijskog miješanja ili zbrinjavanja preostalih pesticida i ambalažnog otpada (Law i Kiss, 1991). Drugo - s kratkim vremenom poluraspada, vraća se natrag u kisik koji se pojavljuje u prirodi ne ostavljući nikakav ostatak na proizvodu. Treće - ako je potrebno, može se neutralizirati ozon termički aktiviranim ugljenom i katalitičkim smanjenjem emisije (Law i Kiss, 1991). Za šиру primjenu ozon se definira kao vrlo reaktivan i snažan oksidirajući agens te ga je 1982. Američka državna agencija za zaštitu okoliša (US-EPA) (Cosmed Group, Inc., 2004) klasificirala kao "GRAS" (Generally Recognized As Safe = općenito priznat kao siguran). U lipnju 2001. g. američka Uprava za hranu i lijekove odobrila je uporabu ozona kao "antimikrobnog sredstva za liječenje, skladištenje i preradu hrane u plinovitim i vodenim fazama". Ozon je također odobren od USDA u preradi organske hrane (Cosmed Group, Inc., 2004) i vrlo je dobro poznat prehrambenoj industriji. Odavno se koristi u preradi hrane za dezinfekciju, uklanjanje mirisa, okusa i boje (Legeron, 1984; Suffet i sur., 1986; EPA, 1999; Kim i sur., 1999). Širom svijeta ozon se koristi za pročišćavanje pitke vode, uništavanje bakterija, osvježavanje prostora i smanjenje onečišćenja aflatoksinima (Prudente i King, 2002; Sopher i sur., 2002; Inan i sur., 2007; Tiwari i sur., 2010; White i sur., 2010). Novije je korištenje ozona u poljoprivredi. Potencijalne primjene uključuju smanjenje mirisa u industriji peradi, uklanjanje mirisa lagune za otpad od uzgoja svinja i smanjenje patogena u skladištenju grožđa, krumpira i luka. Dodatne koristi uključuju redukciju pljesni i mikotoksina i kontrolu mirisa hrane. Osim nekoliko objavljenih radova 1960-ih i 1980-ih godina, malo se zna o učincima ozona na gljivice (Dollear i sur., 1968; Rich i Tomlinson, 1968; Maeba i sur., 1988), a još manje se zna o utjecaju ozona na kukce. Prije 1980. godine toksičnost je ozona istraživana na štetnim kukcima u polju te vrlo malo na kukcima u skladištima (Strait, 1998; Kells i sur., 2001; Leesch, 2003; Zhanggui i sur., 2003; Isikber i Öztek, 2009). U posljednjih nekoliko godina istraživala se toksičnost ozona na štetnike uskladištene robe (silosi i kontejneri). Učinkovitost je istraživana u nekoliko laboratorijskih i terenskih studija. Te su studije pokazale toksični učinak ozona na skladišne kukce. Međutim, mnogo je nedosljednosti u objavljenim izvješćima koji su sažeti u nastavku.

Prethodna su istraživanja pokazala da tretmani ozonom mogu štetno djelovati na skladišne štetnike žitarica iz reda Coleoptera: kukuruznog žiška (*Sitophilus zeamais*; Motsch), rižinog žiška (*S. Oryzae*; L), crvenog brašnara (*Tribolium castaneum*; Herbst)) i iz reda Lepidoptera: bakrenastog moljca (*Plodia interpunctella*; Hübner), brašnenog moljca (*Ephestia kuehniella*; Zeller), (Strait, 1998; Kells i sur., 2001; Leesch, 2003; Zhanggui i sur., 2003; Isikber i Öztek, 2009). Ozon je također pokazao potencijal u suzbijanju sojeva kukaca rezistentnih na fosfin (Sousa i sur., 2008; E i sur., 2017). Djelovao je

smrtonosno na kukce koji se hrane na zrnu i u zrnu. Studije su pokazale da je najotporniji stadij kukca u prijašnjim istraživanjima bilo jaje (Leesch, 2002; Bonjour i sur., 2011; Hansen i sur., 2012). Također je ustanovljena različita razina osjetljivosti između stadija ličinke, kukuljice i odraslih oblika. Bonjour i sur. (2011) i Hansen i sur. (2012) utvrdili/ustanovili su da su kukuljica i odrasli najosjetljiviji razvojni stadij kukaca. Međutim Erdman (1980) je istraživao razine osjetljivosti ličinka i kukuljica *T. castaneum* na ozon te je utvrdio/ustanovio da su mlađi stadiji ličinka i vrlo mlade kukuljice osjetljivi na primjenu ozona (Takigawa i sur., 2011). Doza ozona i vrijeme izloženosti koje dovodi do 100 %-tnoga mortaliteta nisu se razlikovali kod mlađih, srednje starih i starih ličinka jedanaest istraživanih vrsta kukaca (Hansen i sur., 2012). Općenito u svim istraživanjima smrtnost je kukaca bila veća kada su kukci ozonirani te ostavljeni bez dostupnosti hrane. Kada su imali hranu na raspolaganju, ozon je najmanje učinkovit bio na odraslim kukcima, a najučinkovitiji je bio u suzbijanju ličinka (Mahrooif i sur., 2018).

Osim klasičnih štetnika uskladištene robe iz redova Coleoptera i Lepidoptera, velike probleme u tzv. zatvorenim sustavima (skladišta, silosi, kontejneri i sl.) pričinjavaju i žohari koji mogu biti prijenosnici raznih patogena, bakterija, virusa, pljesni (Cochran, 1985; Tian, 2015). U radu Tian (2015) istraživana je učinkovitost ozona u suzbijanju smeđeg žohara (*Blatella germanica* L.) koji je razvio rezistentnost na sve primjenjivane insekticide (Cochran, 1985; Buczkowski i sur., 2001; Appel, 2003; Wang i sur., 2004; Buczkowski i sur., 2008; Gondhalekar i sur., 2011). Eksperimentima je utvrđeno da odrasle žohare suzbija ozoniranje u trajanju od 18 sati. Jaja žohara izuzetno su otporna, ali je ipak njihova smrtnost utvrđena nakon ozoniranja u kontinuiranom trajanju od 24 sata (Tian, 2015). Autor navodi razloge zašto su žohari, za razliku od drugih štetnika skladišnih sustava, tolerantniji na ozon. Prvi je razlog njihova veličina u odnosu na druge kukce štetne u skladišnim prostorima, drugi razlika u količinama udahnutog plina te u konačnici postoje i razlike u ekspresiji i aktivnosti antioksidativnih enzima u žohara i drugih štetnika uskladištenog zrna, što u konačnici dovodi do različite tolerancije na ozon kod ovih dviju kategorija štetnika (Tian, 2015).

Veća istraživanja uporabe ozona u suzbijanju kukaca u Evropi nisu provođena (jedino istraživanje u Danskoj: McDonough i sur., 2011), a rezultati američkih i azijskih istražitelja usko su vezani na štetne kukce u skladištima žitarica, te su rezultati često međusobno kontradiktorni. Pregledom literature vrlo je malo evidentiranih radova na drugim vrstama kukaca (jedna vrsta žohara, uši i tripsa). Stoga je ovo istraživanje prvo ovakvog tipa u Republici Hrvatskoj te među prvima u Europi, a pitanje na koje smo tražili odgovor glasi: Može li primjena ozona biti nova strategija u suzbijanju štetnika? Istraživanje polazi od hipoteze da ozon djeluje štetno na različite vrste kukaca te predstavlja alternativu kemijskom suzbijanju. Cilj je rada bio utvrditi učinkovitost ozona u

suzbijanju različitih vrsta kukaca te utvrditi potrebno vrijeme izloženosti ozonu za postizanje zadovoljavajućeg mortaliteta (> 95 %) kukaca.

MATERIJALI I METODE RADA

Istraživanje je provedeno u laboratoriju Zavoda za poljoprivrednu zoologiju od siječnja do ožujka 2019. godine. Temperatura laboratorija bila je 24 ± 2 °C, a vлага zraka 30 - 40 % u cijelom razdoblju istraživanja.

Ozonator

Za ozoniranje korišten/uporabljen je ozonator tvrtke Tiens d. o. o. model DiCHO. Uređaj koristi električni naboј kako bi transformirao O₂ iz zraka u O₃ – ozon. Izlazna je snaga ozona 150 mg/h (Tiens, 2019). Ta izlazna snaga ozona stvara 2,5 mg ozona u litri vode, odnosno 0,001 ppm ozona u litri zraka (Tiens, 2019). Važno je napomenuti da se radi o količini koja je prirodno prisutna u višim slojevima atmosfere i potpuno je neštetna za ljudе (0,040 - 0,100 ppm maksimalno su dopuštene koncentracije za primjenu u ljudskoj prisutnosti: Lenntech, 2018). Kako se radi o vrlo malom ozonatoru ograničene uporabe (primarno registriranom za dezinfekciju hrane i vode: Tiens, 2019), izlaznu količinu ozona nije bilo moguće mijenjati te je vremenska izloženost ozonu definirala i količinu uporabljenoga ozona u varijantama pokusa.

Kukci i ozoniranje

Za istraživanje su nabavljeni kukci iz uzgoja od tvrtke „EGZOTIKA SHOP“, Tratinska 22, Zagreb. Kako je istraživanje provedeno tijekom zimskih mjeseci, nisu se mogle koristiti prirodne populacije kukaca, a dostupnost živoga materijala na tržištu vrlo je ograničena. Za istraživanje je odabранo šest vrsta kukaca različitih razvojnih stadija iz triju različitih redova koji predstavljaju važne štetnike za poljoprivredu i čovjeka. Varijante u pokusu za svaku vrstu kukca bile su vremenska izloženost ozonu od 30, 60, 90, 120, 240 i 360 minuta i kontrolna varijanta (bez ozona). Svaka je varijanta tretirana u četiri ponavljanja, a u svakom ponavljanju bilo je po 10 jedinka kukaca. Ukupno u drugoj fazi istraživanja bilo je 1680 kukaca, odnosno 280 kukaca pojedine vrste. Sistematski opis vrsta, stadij razvoja i broj kukaca tevarijante pokusa prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Opis istraživanih vrsta kukaca i stadij razvoja podvrgnut ozoniranju
Table 1 Description of the insect species and the stage of development exposed to ozonation

Red	Porodica	Vrsta (lat.)	Vrsta (hrv.)	Stadij
Blattodea	Blattidae	<i>Blatta lateralis</i>	turski žohar	odrasli
Blattodea	Blattidae	<i>Blaptica dubia</i>	žohar dubija	odrasli
Orthoptera	Gryllidae	<i>Gryllus campestris</i>	poljski zrikavac	odrasli
Coleoptera	Scarabaeidae	<i>Pachnoda sinuata</i> <i>flaviventris</i>	voćni kornjaš	ličinke
Coleoptera	Tenebrionidae	<i>Tenebrio molitor</i>	veliki brašnar	ličinke
Coleoptera	Tenebrionidae	<i>Zophobas morio</i>	brašnar fobas	ličinke

Ozoniranje je provedeno u za tu svrhu izrađenoj plastičnoj komori dimenzija 50 cm x 30 cm. Na vrhu komore izrađen je otvor kroz koji je uvedena cijev ozonatora kroz koju se upuhuje ozon. Kukci po varijantama stavljeni su u male plastične posudice koje su na poklopциma imale izbušene otvore da ozon može slobodno prolaziti u cijelom prostoru komore. Nakon provedenog ozoniranja svi su kukci preseljeni u posudice u kojima su imitirani uvjeti njihovih prirodnih staništa (za brašnare posude s brašnom i piljevinom, za ličinke kornjaša posude s tlom, za zrikavce minikavezi s grančicama i lišćem, za žohare treset). Mortalitet na svim ponavljanjima svih varijanta očitavan je prvi, drugi, treći, sedmi, deseti i petnaesti dan nakon ozoniranja. Tijekom cijelog razdoblja očitavanja svim je kukcima ponuđena njihova prirodna hrana na kojoj su i uzgojeni. U tablici 2 prikazana je ukupna količina ozona koja je ispuštena u komoru te kojoj su bili izloženi kukci u vremenu tretiranja (izloženosti).

Tablica 2. Primijenjena količina ozona po varijantama

Table 2 The amount of ozone applied in variants

Varijante u pokusu (izloženost ozonu u minutama)	Ukupna količina ozona po varijanti (mg)	Primijenjena koncentracija ozona u zraku (ppm)
30	75	0,0005
60	150	0,001
90	225	0,0015
120	300	0,002
240	600	0,004
360	900	0,006
kontrola	-	-

Analiza podataka

U cijelom razdoblju istraživanja očitavan je mortalitet kukaca u svakom ponavljanju svake varijante te je temeljem postotka mortaliteta izračunata učinkovitost ozona korištenjem formule po Abbot-u (Abbot, 1925). Učinkovitosti svih varijanta podvrgnute su analizi variancije (ANOVA) kako bi se odredila razlika u djelovanju ozona na kukce u različitim vremenima izloženosti. Korišten je Duncanov test usporedbe srednjih vrijednosti. Statistička obrada podataka obavljena je pomoću statističkog programa ARM 9® GDM software, Revision 9.2014.7 (Gylling Data Management Inc., 2015).

REZULTATI

Učinkovitost ozona u suzbijanju žohara

Istraživana je učinkovitost ozona na odrasli stadij dviju vrsta žohara: turski žohar *Blatta lateralis* i žohar dubija *Blaptica dubia*.

Rezultati ozoniranja turskog žohara pokazali su malu učinkovitost prvi i drugi dan nakon ozoniranja. Treći dan od ozoniranja zabilježena je smrtnost od 75 % i to na varijanti najduže tretiranoj ozonom (360 minuta). Do kraja pokusa značajno najveća učinkovitost ozona na turskog žohara zabilježena je na varijanti tretiranoj 360 minuta (tablica 3). Deseti dan od ozoniranja na toj varijanti zabilježen je 100 %-tни mortalitet jedinka. Na varijantama tretiranim manjeod 2 sata ustanovljeni mortalitet nije bio iznad 45 %. Na varijanti tretiranoj 240 minuta do kraja istraživanja nije ustanovljen mortalitet veći od 65 %. Iz rezultata se vidi da se učinkovitost ozona na turskog žohara povećava sukladno povećanju trajanja izloženosti ozonu.

Tablica 3. Učinkovitost ozona u suzbijanju vrste *Blatta lateralis*

Table 3 Ozone efficacy in *Blatta lateralis* suppression

Kukac	Trajanje ozoniranja (minute)	Dani nakon ozoniranja					
		1.	2.	3.	7.	10.	15.
<i>Blatta lateralis</i>	30	0,00 b*	0,00 d	0,00 f	5,00 f	14,87 e	19,98 e
	60	0,00 b	10,00 c	10,00 e	10,00 e	10,00 f	10,00 f
	90	0,00 b	9,75 c	19,98 c	35,00 c	35,00 d	39,92 d
	120	0,00 b	10,00 c	14,97 d	27,50 d	44,98 c	44,98 c
	240	0,00 b	40,00 b	40,00 b	55,00 b	65,00 b	65,00 b
	360	10,00 a	50,00 a	74,96 a	90,00 a	100,00 a	100,00 a
LSD p=0,05		0,502**	2,378	1,575	3,984	1,967	1,816

*Vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu pripadaju u isti rang temeljem testa višestrukih rangova po Duncan-u ($P>0,05$)

**LSD je utvrđen usporedbom učinkovitosti ozona između dužine trajanja ozoniranja za svako očitavanje

U tablici 4 prikazani su rezultati ozoniranja na vrstu žohara dubija. Ni jedna varijanta ni u jednom razdoblju očitavanja nije pokazala zadovoljavajuću učinkovitost ozona na mortalitet ove vrste. Maksimalan mortalitet od 15 % ustanovljen je na varijanti tretiranoj 240 minuta i to drugi dan od ozoniranja, i taj se mortalitet nije povećavao do kraja pokusa. Značajno najveća učinkovitost petnaesti dan od ozoniranja ustanovljena je na varijantama tretiranima 30, 120 i 240 minuta, međutim te učinkovitosti ne prelaze 15 % što se ne smatra značajnim u suzbijanju bilo koje vrste kukaca.

Tablica 4. Učinkovitost ozona u suzbijanju vrste *Blaptica dubia***Table 4** Ozone efficacy in *Blaptica dubia* suppression

Kukac	Trajanje ozoniranja (minute)	Dani nakon ozoniranja				
		1.	2.	3.	7.	10.
<i>Blaptica dubia</i>	30	0,00 b*	4,98 b	0,00 c	10,00 b	10,00 b
	60	5,00 a	4,98 b	4,24 b	5,00 c	9,95 b
	90	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 c
	120	0,00 b	0,00 c	0,00 c	5,00 c	9,80 b
	240	0,00 b	15,00 a	15,00 a	15,00 a	15,00 a
	360	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d	4,81 c
LSD p=0,05		1,811**	0,773	3,085	2,190	2,615
						2,763

* Vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu pripadaju u isti rang temeljem testa višestrukih rangova po Duncan-u ($P>0,05$)

**LSD je utvrđen usporedbom učinkovitosti ozona između dužine trajanja ozoniranja za svako očitavanje

Učinkovitost ozona u suzbijanju brašnara

Istraživana je učinkovitost ozona na zadnji ličinački stadij dviju vrsta brašnara: veliki brašnar *Tenebrio molitor* i brašnar fobas *Zophobas morio*.

Na ličinke velikog brašnara značajno najveća učinkovitost ustanovljena je na varijantama ozoniranima u trajanju od 360 minuta, što je zabilježeno u svim terminima praćenja (tablica 5). Deseti dan od ozoniranja 95 % ličinka uginulo je na varijanti ozoniranoj 360 minuta, dok je na većini ostalih varijanta tek deseti dan od ozoniranja ustanovljeno ugibanje brašnara. Između ostalih varijanta nisu zabilježene razlike u cijelom pokusu.

Tablica 5. Učinkovitost ozona u suzbijanju vrste *Tenebrio molitor***Table 5** Ozone efficacy in *Tenebrio molitor* suppression

Kukac	Trajanje ozoniranja (minute)	Dani nakon ozoniranja					
		1.	2.	3.	7.	10.	15.
<i>Tenebrio molitor</i>	30	0,00 c	0,00 c	5,00 c	5,00 c	10,00 c	10,00 d
	60	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	4,98 d	19,84 c
	90	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	4,98 d	19,84 c
	120	0,00 c	0,00 c	0,00 d	0,00 d	5,00 d	5,00 e
	240	10,00 b	14,99 b	29,90 b	39,92 b	39,92 b	50,00 b
	360	24,75 a	34,97 a	55,00 a	84,96 a	94,97 a	94,97 a
LSD p=0,05		1,268	1,226	1,123	1,924	1,294	2,174

* Vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu pripadaju u isti rang temeljem testa višestrukih rangova po Duncan-u ($P>0,05$)

**LSD je utvrđen usporedbom učinkovitosti ozona između dužine trajanja ozoniranja za svako očitavanje

Na brašnare vrste fobas, *Zophobas morio*, nije ustanovljeno značajno djelovanje ozona. Ni petnaest dana nakon ozoniranja nije zabilježena značajna učinkovitost ni na jednoj varijanti, maksimalni mortalitet nije prešao 30 % u cijelom razdoblju praćenja na svim varijantama (tablica 6). Premda je statistička analiza pokazala značajne razlike između varijanta u pojedinim razdobljima praćenja, s obzirom na ukupno vrlo mali mortalitet ove vrste brašnara te razlike ne ukazuju na značajniju učinkovitost ozona u suzbijanju ovog štetnika.

Tablica 6. Učinkovitost ozona u suzbijanju vrste *Zophobas morio***Table 6** Ozone efficacy in *Zophobas morio* suppression

Kukac	Trajanje ozoniranja (minute)	Dani nakon ozoniranja					
		1.	2.	3.	7.	10.	15.
<i>Zophobas morio</i>	30	0,00 b	0,00 c	5,00 b	22,43 ab	25,00 b	25,00 b
	60	0,00 b	0,00 c	4,91 b	9,95 c	20,00 c	20,00 c
	90	5,00 a	10,00 b	22,43 a	22,43 ab	22,43 c	22,43 bc
	120	5,00 a	14,79 a	20,00 a	24,88 a	29,90 a	29,90 a
	240	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 d	4,98 d	4,98 d
	360	0,00 b	0,00 c	5,00 b	5,00 b	19,84 c	22,43 bc
LSD p=0,05		1,005	2,204	1,516	1,516	2,312	1,971

*Vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu pripadaju u isti rang temeljem testa višestrukih rangova po Duncan-u ($P>0,05$)

**LSD je utvrđen usporedbom učinkovitosti ozona između dužine trajanja ozoniranja za svako očitavanje

Učinkovitost ozona na zrikavce

Istraživana je učinkovitost ozona na odrasle jedinke poljskog zrikavca *Gryllus campestris*. Kod ove vrste kukaca zabilježena je najveća učinkovitost ozona u

suzbijanju. Treći dan praćenja značajno najveća učinkovitost ustanovljena je na varijantama tretiranima 240 i 360 minuta i iznosila je > 70 %. Sve varijante u pokusu imale su mortalitet od 60 do 95 % već sedmi dan od tretiranja. Mortalitet 80 - 100 % na svima varijantama zabilježen je deseti dan od ozoniranja, a nakon petnaest dana svi su zrikavci uginuli (tablica 7).

Tablica 7. Učinkovitost ozona u suzbijanju vrste *Gryllus campestris*

Table 7 Ozone efficacy in *Gryllus campestris* suppression

Kukac	Trajanje ozoniranja (minute)	Dani nakon ozoniranja					
		1.	2.	3.	7.	10.	15.
<i>Gryllus campestris</i>	30	0,00 d	10,00 c	10,00 b	93,70 a	96,21 ab	100,00
	60	5,00 c	4,85 d	4,85 c	94,97 a	97,48 ab	100,00
	90	5,00 c	5,00 d	5,00 c	64,95 b	89,75 b	100,00
	120	5,00 c	12,38 c	12,38 b	64,86 b	79,96 c	100,00
	240	15,00 b	69,82 a	73,57 a	93,67 a	100 a	100,00
	360	32,50 a	52,47 b	72,39 a	89,97 a	92,48 ab	100,00
LSD p=0,05		3,197	2,562	2,793	6,899	8,598	-

*Vrijednosti označene istim slovom u istom stupcu pripadaju u isti rang temeljem testa višestrukih rangova po Duncan-u ($P>0,05$)

**LSD je utvrđen usporedbom učinkovitosti ozona između dužine trajanja ozoniranja za svako očitavanje

Učinkovitost ozona na voćnog kornjaša

Istraživana je učinkovitost ozona na zadnji razvojni ličinački stadij voćnog kornjaša *Pachnoda sinuata flaviventris*. Djelovanje ozona, odnosno mortalitet ličinka vrste *Pachnoda sinuata flaviventris* nije ustanovljen ni na jednoj varijanti u cijelom razdoblju istraživanja. Čak je tijekom zadnjeg datuma očitavanja zabilježeno kukuljenje ličinaka.

RASPRAVA

Istraživanje je provedeno s glavnim ciljem utvrđivanja učinkovitosti ozona na suzbijanje štetnih vrsta kukaca u poljoprivredi te utvrđivanje/ustanovljivanje trajanja ozoniranja potrebnog da uzrokuje mortalitet. Zbog toga što je u dosadašnjim istraživanjima smrtnost kukaca bila veća kada su kukci ozonirani te ostavljeni bez dostupnosti hrane (Mahroof i sur., 2018), u ovom su istraživanju svim kukcima omogućeni prirodni uvjeti i hrana na koju su navikli kako bismo umanjili okolišni utjecaj na mortalitet.

Žohari su kukci koji prije svega uzrokuju kontaminaciju vode i širenje raznih bolesti (Cochran, 1985; Tian, 2015), a mogu pričiniti štete kućnim biljkama, u vrtovima, osobito u grijanim staklenicima gdje glođu mekše dijelove biljaka (Eggleston, 2003; Gotlin Čuljak i Juran, 2016). U ovom su istraživanju prvi put ozonirani odrasli stadiji dviju vrsta žohara: turski žohar *Blatta lateralis* i žohar

dubija *Blaptica dubia*. Turski je žohar dimenzijama manji te građom tijela osjetljiviji od žohara dubije. Te morfološke karakteristike uzrokovale su različito djelovanje ozona na ove štetnike. Turski je žohar uspješno suzbijen ozoniranjem u trajanju od 360 minuta, gdje je 90 %-tna učinkovitost zabilježena deseti dan od tretiranja, a petnaesti dan od ozoniranja zabilježena je i 100 %-tna učinkovitost. Kraća izloženost ozonu nije pokazala značajnije pozitivne rezultate. Istovremeno 360 minuta ozoniranja nije uzrokovalo više od 15 % mortaliteta žohara dubije te se može zaključiti da ozon ne djeluje na suzbijanje žohara dubije. Kako je jedino istraživanje provedeno na ovoj skupini štetnika i to na odrasлом smeđem žoharu *Blatella germanica* pokazalo učinkovitost ozona nakon 18 sati izloženosti (Tian, 2015), vjerujemo da je loš rezultat ozoniranja na žohara dubiju posljedica prekratkog vremena izloženosti ozonu. Žohari su, prema istraživanju Tian (2015), tolerantniji na ozon od ostalih kukaca prvenstveno zbog veličine, a potom i zbog specifičnosti građe tijela i aktivnosti enzima koji uvjetuju tolerantnost, stoga vrijeme ozoniranja od šest sati nije bilo dovoljno za uspješno suzbijanje žohara dubije.

Brašnari su štetnici uskladištenih prostora, međutim osim zrna vrlo često mogu pričinjavati značajne štete na brašnu, tjestenini, sušenim namirnicama i sl. (Maceljski i Igrc, 1991). Skladišni štetnici vrlo su često prisutni u sastojcima stočne hrane što predstavlja velike poteškoće u proizvodnji stočne hrane ispravnog zdravstvenog stanja i kakvoće, a malo tko razmišlja o opasnosti koju ti kukci predstavljaju za životinje (Josipović, 2019). Ovo je istraživanje prvo provedeno upravo na vrstama *Zophobas morio* i *Tenebrio molitor*. Istraživanjem je ustanovljena vrlo mala učinkovitost ozona u suzbijanju brašnara fobas *Zophobas morio* (manja od 30 % petnaest dana nakon ozoniranja u trajanju od 360 minuta). Učinkovitost ozona na velikog brašnara *Tenebrio molitor* bila je iznad 95 % na varijanti tretiranoj 360 minuta deseti dan od ozoniranja. Kraće tretirane varijante te ranija očitavanja nisu evidentirali značajniju učinkovitost. Kako se radi o zadnjem ličinačkom stadiju prije kukuljenja, možemo pretpostaviti da je to najotporniji razvojni stadij te da su potrebna duža ozoniranja za bolje rezultate. Ove rezultate potvrđuju prethodna istraživanja na srodnim vrstama *Tribolium castaneum* i *T. confusum* gdje je ustanovljeno smanjenje osjetljivosti na ozon sa starosti, odnosno mlađi stadiji ličinka pokazali su veću osjetljivost na primjenu ozona (Erdman, 1980; Mason i sur., 1997; Sousa i sur., 2008; Bonjour i sur., 2011; Hansen i sur., 2012).

Iz reda Coleoptera, porodice Scarabaeidae, dolaze brojni štetnici čiji ličinački stadiji zvani grčice pričinjavaju velike štete dijelovima biljaka u tlu (Maceljski i Igrc, 1991). Štetnici iz navedene porodice jesu: dlakavi ružičar, zlatne mare, vrtni ružičar, crni ružičar, hruštevi, *Anisoplia* spp. i japanski pivac (*Popilia japonica*). Željela se istražiti mogućnost ozoniranja tla s ciljem suzbijanja ličinka ovih značajnih štetnika. Međutim rezultati ovoga istraživanja na ličinkama voćnog kornjaša *Pachnoda sinuata flaviventris* (porodica Scarabaeidae)

pokazuju da ozon nema nikakvu učinkovitost na ove kukce. Ni jedna ličinka nije bila oštećena ozoniranjem, čak ni u varijanti tretiranoj šest sati. Štoviše, tijekom posljednjih dana očitavanja zabilježeno je uspješno kukuljenje ovih kukaca. Potrebno je eventualno istražiti učinkovitost ozona primjenjenog u intervalu puno dužem od šest sati (npr. 18 sati kao i za žohare), te istražiti učinkovitost na mlađim razvojnim stadijima ličinka. Kao i kod ostalih kornjaša, zadnji razvojni stadiji ličinka prije samog kukuljenja najotporniji su na primjenu kemijskih pripravaka, a i ozona (Takigawa i sur., 2011).

Konačno, istraživana je učinkovitost ozona na odraslog poljskog zrikavca *Gryllus campestris*. Kako do sada nije istraživana učinkovitost ozona na suzbijanje ove vrste, a ni na pripadnike istog roda, koji su vrlo česti u RH te zajedno sa srodnim štetnicima (rovčima i skakavcima) pričinjavaju štete na različitim biljnim vrstama, napadaju povrće i voće, često u staklenicima i plastenicima (DDT, 2017), drži se da podatak o učinkovitosti ozona predstavlja važan doprinos u budućim alternativnim zaštitama zaštićenih prostora. Rezultati istraživanja pokazali su vrlo veliku učinkovitost ozona u suzbijanju zrikavaca. Već neposredno nakon tretiranja primijećena je smrtnost jedinka, a samo tjedan dana od tretiranja i varijante najkraće izložene ozonu imale su više od 90 % smrtnosti. Ovako velikoj smrtnosti i vrlo malim razlikama između varijanta ozoniranja vjerojatno je pridonijelo i organiziranje staništa koje možda nije bilo najpovoljnije za zrikavce. Za konačne zaključke o učinkovitosti ozona na ovu vrstu kukaca ovaj dio pokusa potrebno je ponoviti tako da se osiguraju staništa što sličnija prirodnima.

Nakon provedenih eksperimenata evidentna je učinkovitost ozona u suzbijanju različitih vrsta štetnih kukaca. Kako je korišten ozonator za jednostavnu (kućnu) primjenu, nije bilo moguće mijenjati količine ozona primijenjene u istom vremenu, stoga ne možemo zaključiti utječe li na smrtnost veća količina ozona ili duže razdoblje izloženosti. Kako god bilo, ozon u suzbijanju štetnika ima potencijal zbog činjenica: (i) može biti generiran na mjestu primjene, (ii) ne ostavlja toksične ostatke nakon primjene i (iii) rizici za rad osoblja minimalni su zahvaljujući brzoj razgradnji. Svi dobiveni rezultati predstavljaju nove podatke za suzbijanje štetnika ozonom u RH (i Europi) te će pridonijeti ukupnom znanju o primjeni ovoga plina u poljoprivredi. Ozonizacija ima potencijal da postane realan izbor za suzbijanje štetnih organizama u skladišnim sustavima sirovina za ljudsku i životinjsku prehranu ili gotovih proizvoda, sama ili kao nadopuna drugim mjerama.

ZAKLJUČCI

1. Ozon štetno djeluje na kukce te postoji mogućnost njegove primjene prvenstveno za suzbijanja štetnika skladišnih sustava.
2. Najveća učinkovitost ozoniranja utvrđena je kod kukaca gdje su ozonirane odrasle jedinke (zrikavci i turski žohar). Vrlo mala i nikakva

učinkovitost utvrđena je na ličinkama vrste *Zophobas morio* i ličinkama vrste voćnog kornjaša *Pachnoda sinuata flaviventris*. Dakle ličinački stadij otporniji je na djelovanje ozona od odraslih stadija razvoja kukaca.

3. Za vrste na kojima nije utvrđen učinak ozona (žohar dubija i ličinke kornjaša) potrebno je provesti dodatna istraživanja s većim količinama ozona te dužim razdobljem ozoniranja.
4. Kako je u ovom istraživanju količina primijenjenog ozona vezana za vrijeme ozoniranja, možemo zaključiti da se učinkovitost (mortalitet) povećava s povećanjem trajanja ozoniranja.

LITERATURA

- ABBOTT, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- APPEL, A. G. (2003). Laboratory and field performance of an indoxacarb bait against German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, 96: 863-870.
- BENHALIMA, H., CHAUDHRY, M. Q., MILLS, K. A., PRICE, N. R. (2004). Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *Journal of Stored Products Research*, 40: 241-249.
- BONJOUR, E. L., OPIT, G. P., HARDIN, J., JONES, C. L., PAYTON, M. E., BEEBY, R. L. (2011). Efficacy of ozone fumigation against the major grain pests in stored wheat. *Journal of Economic Entomology*, 104: 308-316.
- BUCZKOWSKI, G., KOPANIC JR, R. J., SCHAL, C. (2001). Transfer of ingested insecticides among cockroaches: effects of active ingredient, bait formulation and assay procedures. *Journal of Economic Entomology*, 94: 1229-1236.
- BUCZKOWSKI, G., SCHERER, C. W., BENNETT, G. W. (2008). Horizontal transfer of bait in the German cockroach: indoxacarb causes secondary and tertiary mortality. *Journal of Economic Entomology*, 101: 894-901.
- COCHRAN, D. G. (1985). Mortality and reproductive effects of avermectin B1 fed to German cockroaches. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 37: 83-88.
- COSMED GROUP, INC. (2004). Pureox Gaseous Ozone Fumigation and Sterilization, <http://www.cosmedgroup.com/pureox.html> (pristupljeno: 20.3.2019.)
- DDD TRAJNA EDUKACIJA (2017). Cjelovito (integrirano) suzbijanje žohara, zrikavaca, mrava i termita. Zbornik predavanja, Zagreb.
- DOLLEAR, F. G., MANN, G. E., CODIFER, JR., L. P., GARDNER, JR., H. K., KOLTUN S. P., VIX, H. L. E. (1968). Elimination of aflatoxins from peanut meal. *American Oilseed Society*, 45: 862-865.
- E. X., SUBRAMANYAM B., LI, B. (2017). Efficacy of Ozone against Phosphine Susceptible and Resistant Strains of Four Stored-Product Insect Species, doi: 10.3390/insects8020042.
- EGGLESTON, P. A. (2003). Cockroach allergen abatement: the good, the bad and the ugly. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112: 265-267.
- EPA, UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1999). Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. Publication: 815 R 99014.

- EPPA (2018.) Health Effects of Ozone Pollution, <https://www.epa.gov/ground-level-ozone-pollution/health-effects-ozone-pollution> (pristupljeno: 2.4.2019.)
- ERDMAN, H. E. (1980). Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum*. *Environmental Entomology*, 9: 16-17.
- GONDHALEKAR, A. D., SONG, C., SCHAFER, M. E. (2011). Development of strategies for monitoring indoxacarb and gel bait susceptibility in the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Pest Management Science*, 67: 262-270.
- GOTLIN ČULJAK, T., JURAN, I. (2016). Poljoprivredna entomologija – sistematika kukaca. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. Zagreb.
- GYLLING DATA MANAGEMENT INC. (2015). ARM 9® GDM Software, Revision 9.2014.7 (B=20741). Brookings, South Dakota.
- HANSEN, L. S. (2008). Insects in Guidelines for Risk Assessment, Prevention and Management, Health Risks and Safety Hazards Related to Pest Organisms in Stored Products. Council of Europe Public Health Committee. Council of Europe Publishing. Strasbourg, France. 10–21.
- HANSEN, L. S., HANSEN, P., JENSEN, K. V. (2012). Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. *Pest Management Science*, 68: 1311–1316.
- HAREIN, P., MERONUCK, R. (1995). Stored grain losses due to insects and molds and the importance of proper grain management. U: *Stored Product Management* (V. Krischik, G. Cuperus, D. Galliard ur.). Oklahoma State University, pp. 29-31.
- HOLLINGSWORTH, R. G., ARMSTRONG, J. W. (2005). Potential of Temperature, Controlled Atmospheres, and Ozone Fumigation to Control Thrips and Mealybugs on Ornamental Plants for Export. *Journal of Economic Entomology*, 98(2): 289-298.
- INAN, F., PALA, M., DOYMAZ, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research*, 43: 425-429.
- İSIKBER, A. A., ÖZTEKİN, S. (2009). Comparison of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* du Val to gaseous ozone. *Journal of Stored Products Research*, 45: 159-164.
- JOHNSON, J. A., VAIL, P. V., SODERSTROM, E. L., CURTIS, C. E., BRANDL, D. G., TEBBETS, J. S., VALERO, K. A. (1998). Integration of nonchemical, postharvest treatments for control of navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae) and Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) in walnuts. *Journal of Economic Entomology*, 91: 1437-1444.
- JOSIPOVIĆ, A. (2019). Učinkovitost bilnjih ekstrakata u suzbijanju malog brašnara (*Tribolium confusum* L.). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- KELLS, S. A., MASON, L. J., MAIER, D. E., WOLOSHUK, C. P. (2001). Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *Journal of Stored Products Research*, 37: 371-382.
- KIM, J. G., YOUSEF, A. E., DAVE, S. (1999). Application of ozone to control insects, molds, and mycotoxins. U: Proceeding of the International Conference on Control Atmosphere and Fumigation of Stored Products, (E. J. Donahaye, S. Navarro, A. Varnava, A. ur.). Cipar.
- LAW, S. E., KISS, E. G. (1991). Instrumentation for ozone-based insect control in agriculture. Automated agriculture for the 21st century. Proceedings of the 1991 symposium. Chicago, IL.

- LEESCH, J. G. (2002). The mortality of store-product insects following exposure to gaseous ozone at high concentrations. U: Advances in stored product protection. Proceedings of the 8th international working conference on stored-product protection, (P. F. Credland, D. M. Armitage, C. H. Bell, P. M. Cogan, E. Highley, E. ur.). CAB International, Wallingford. pp. 827–831.
- LEESCH, J. G. (2003). The mortality of stored-product insects following exposure to gaseous ozone at high concentrations. U: Advances in stored product protection. Proceedings of the 8th international working conference on stored-product protection, (P. F. Credland, D. M. Armitage, C. H. Bell, P. M. Cogan, E. Highley, E. ur.). CAB International, Oxon, UK. 827-831.
- LEGERON, J. P. (1984). Ozone disinfection of drinking water. U: Handbook of Ozone Technology and Applications, (R. G. Rice, A. Netzer, A. ur.). Boston, Butterworth. 2: 99-121.
- LENNTech (2019.). Ozone, <https://www.lenntech.com/ozone.htm> (pristupljeno: 14.3.2019.)
- MACELJSKI, M., IGRC, J. (1991). Entomologija - štetne i korisne životinje u ratarskim usjevima. Sveučilišna naklada Liber. Zagreb.
- MAEBA, H., TAKAMOTO, Y., KAMIMURA, M., MIURA, T. (1988). Destruction and detoxification of aflatoxin with ozone. Journal of Food Science, 53: 667-668.
- MAHROOF, R. M., AMOAH, B. A., WRIGHTON, J. (2018). Efficacy of Ozone Against the Life Stages of *Oryzaephilus mercator* (Coleoptera: Silvanidae). Journal of Economic Entomology, 111(1): 470-481.
- MASON, L. J., WOLOSHUK, C. P., MAIER, D. E. (1997). Efficacy of ozone to control insects, molds and mycotoxin. U: Proceeding of the international conference on control atmosphere and fumigation of stored products, (E. J. Donahaye, S. Navarro, A. Varnava ur.). Nicosia, Cipar. pp. 665–670.
- MCDONOUGH, M. X., MASON, L. J., WOLOSHUK, C. P. (2011). Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals. Journal of Stored Products Research, 42: 306-310.
- MSAYLEB, N. (2015). Ozone as a safer and greener alternative to pesticides, <https://theglobalscientist.com/2015/01/07/ozone-as-a-safer-and-greener-alternative-to-pesticides/> (pristupljeno: 25.3.2019.)
- NASA (2016.). Ozone, <https://www.nasa.gov/ozone> (pristupljeno: 2.4.2019.)
- PIMENTEL, D. (1991). World resources and food losses to pests. U: Ecology and Management of Food Industry Pests. FDA Technical Bulletin 4, (J. R. Gorham ur.). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA. pp. 5–11.
- PRUDENTE, A. D., KING, J. M. (2002). Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. Journal of Food Science, 67: 2866-2872.
- REES, D. P. (1996). Coleoptera in Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc. New York, NY. pp. 1–39.
- RICH, S., TOMLINSON, H. (1968). Effects of ozone on conidiophores and conidia of *Alternaria solani*. Phytopathology, 58: 444-446.
- SHELTON, M. D., WALTER, V. R., BRANDL, D., MENDEZ, V. (1996). The effects of refrigerated, controlled atmosphere storage during marine shipment on insect morality and cut-flower vase life. Hort Technology, 6: 247-250.

- SOPHER, C. D., GRAHAM, D. M., RICE, R. G., STRASSER, J. H. (2002). Studies on the use of ozone in production agriculture and food processing. U: Proceedings of the International Ozone Association. Pan American Group. pp. 1-15.
- SOUSA, A. H., FARONI, L. R. D., GUEDES, R. N. C., T'OTOLA, M. R., URRUCHI, W. I. (2008). Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, 44: 379–385.
- STRAIT, C. A. (1998). Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain. M.Sc. Thesis. Purdue University. West Lafayette, IN.
- SUFFET, I. H., ANSELME, C., MALLEVIALLE, J. (1986). Removal of tastes and odors by ozonation. U: Proceedings of the American Water Works Association Annual Conference. Seminar on Ozonation. Denver, CO.
- TAKIGAWA, K., UENO, K., NAGATOMO, T., MITSUGI, F., IKEGAMI, T., EBIHARA, K., NAKAMURA, N., HASHIMOTO, Y., YAMASHITA, Y. (2011). Experiment of pest control with portable ozone mist device, <https://www.ispc-conference.org/ispcproc/ispc21/ID136.pdf> (pristupljeno: 31.3.2019.)
- TIAN, Y. (2015). Potential of ozone technology for German cockroach (*Blatella germanica* (L.)) managment. Doktorska disertacija. Purdue University.
- TIENS (2019). Tiens ozonatori, <http://www.tiens.hr/produkt/tiens-fruit-vegetable-cleaner/> (pristupljeno: 24.4. 2019.)
- TIWARI, B. K., BRENNAN, C. S., CURRAN, T., GALLAGHER, E., CULLEN, P. J., O'DONNELL, C. P. (2010). Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science*, 51: 248-255.
- VAN GORSEL, R. (1994). Postharvest technology of imported and trans-shipped tropical floricultural commodities. *HortScience*, 29: 979-981.
- WANG, C., SCHARF, M. E., BENNETT, G. W. (2004). Behavioral and physiological resistance of the German cockroach to gel baits (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, 97: 2067-2072.
- WHITE, S. D., MURPHY, P. T., BERN, C. J., VAN LEEUWEN, J. H. (2010). Controlling deterioration of high-moisture maize with ozone treatment. *Journal of Stored Products Research*, 46: 7-12.
- ZETTLER, J. L., CUPERUSI, G. W. (1990). Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1677-1681.
- ZETTLER, J. L., HALLIDAY, W. R., ARTHUR, F. H. (1989). Phosphine resistance in insects infesting stored peanuts in the southeastern United States. *Journal of Economic Entomology*, 82: 1508-1511.
- ZHANGGUI, Q., XIA, W., GANG, D., XIAOPING, Y., XUECHAO, H., DEKE, X., XINGWEN, L. (2003). Investigation of the use of ozone fumigation to control several species of stored grain insects. U: Advances in Stored Product Protection. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-product Protection (P. F. Credland, D. M. Armitage, C. H. Bell, P. M. Cogan, E. Highley ur.). CAB International. Oxon, UK. pp. 846-851.