

GLASILO BILJNE ZAŠTITE

GODINA XX

STUDENI - PROSINAC

BROJ 6

*Helena VIRIĆ GAŠPARIĆ, Darija LEMIĆ**Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju
hviric@agr.hr*

BUDUĆNOST UPORABE OZONA U POLJOPRIVREDI

SAŽETAK

Uporaba sredstava za zaštitu bilja osigurava učinkovitu zaštitu poljoprivrednih usjeva uz kvalitetan i visok prinost. Negativni utjecaji sredstava za zaštitu bilja ponajprije se ogledaju u pojavi rezistentnosti štetnih organizama, ostacima pesticida u okolišu te gubitku biološke raznolikosti. Potreba za uvođenjem alternativnih metoda suzbijanja štetnika, koje su istovremeno učinkovite i sigurne za proizvođače, potrošače i okoliš, sve je više naglašena. Moguće alternativno sredstvo u zaštiti bilja je i primjena ozona (O₃). Ozon je plin koji se prirodno nalazi u stratosferi Zemlje, a vrlo se jednostavno umjetno proizvodi električnim pražnjenjem. Odavno su poznata njegova dezinfekcijska svojstva i primjena u zdravstvu i prehrambenoj industriji. U zadnjih 20-ak godina istražuje se i mogućnost njegove primjene u poljoprivredi, posebno u zaštiti od štetnih organizama. U radu je prikazan pregled dosadašnjih spoznaja o učinkovitosti ozona na štetne kukce te pojedinsti pokusa provedenih u Hrvatskoj i svijetu. Osim visoke učinkovitosti na sve vrste štetnih organizama (kukci, grinje, bolesti) u zatvorenim prostorima (skladišta, silosi), tretmani ozonom nameću se kao potencijalno rješenje za učinkovito suzbijanje štetnika i na otvorenim prostorima (voćnjaci, vinogradi, i sl.). Ozon u količinama većima od 2 ppm učinkovito suzbija bakterije, viruse, gljive i brojne kukce. Ne pokazuje toksičnost za okoliš jer se u normalnim uvjetima raspada na kisik u roku od samo 30 minuta, ne ostavlja rezidue i nisu zabilježeni štetni utjecaji za zdravlje čovjeka. Primjena ozona alternativa je tradicionalnim insekticidima i fungicidima kao biofumigant protiv niza štetnika, mikroorganizama i mikotoksina, i svakako je metoda koja ima budućnost u zaštiti bilja.

Ključne riječi: ozonirana voda, plin, silos, staklenik, vinograd, voćnjak.

UVOD

Uporaba sredstava za zaštitu bilja dugo je bila uobičajen način zaštite poljoprivrednih usjeva, pri čemu se postizala visoka učinkovitost uz kvalitetan i visok prinost (Popp i sur., 2013.). Bez primjene pesticida štetnici bi uzrokovali

gubitak više od 70 % prinosa (Oerke, 2005.). Međutim, sredstva za zaštitu bilja mogu i negativno utjecati na okoliš te pridonijeti gubitku biološke raznolikosti (Geiger i sur., 2010.). Od početka 1990-ih EU promovira inicijativu za smanjenje negativnih utjecaja intenzivne poljoprivrede, kao i smanjenje uporabe pesticida (Council Directive 91/414/EEC). Podizanjem razine znanja i razvojem novih tehnologija sve se više odmičemo od korištenja pesticida zbog zaštite zdravlja ljudi, životinja i okoliša (Popp i sur., 2013.). Također, smanjenje raspoloživih pesticida za suzbijanje štetnika iz godine je u godinu velik problem u poljoprivrednoj proizvodnji. Značajan problem u zaštiti bilja svakako je razvoj rezistentnosti štetnika na insekticide u primjeni. Pojava rezistentnosti jedan je od glavnih negativnih učinaka primjene klasičnih kemijskih insekticida u suzbijanju štetnika (Bažok i Lemić, 2017.). Prema istraživanju Silva i sur. (2019.) prisutnost višestrukih ostataka pesticida u tlu okoliša predstavlja pravilo, a ne iznimku. Od 317 ispitivanih površina u Europskoj uniji, 83 % sadržavalo je jedan ili više ostataka pesticida, od čega je u 58 % površina utvrđeno 166 različitih smjesa ostataka pesticida. Sve to dovodi do potrebe uvođenja alternativnih metoda suzbijanja štetnika koje su i učinkovite i sigurne za proizvođače, potrošače i okoliš. Primjena ozona svakako je jedna od takvih metoda, koja ima svoju budućnost u zaštiti bilja. Radom se želi prikazati moguće načine primjene ozona u poljoprivrednoj proizvodnji te njegovu učinkovitost u suzbijanju različitih štetnih organizama.

KARAKTERISTIKE I PRIMJENA OZONA

Ozon (O_3) je plin koji nastaje u gornjim slojevima atmosfere kroz ultraljubičasto zračenje ili prilikom električnog pražnjenja munja. Jakog je mirisa, plave boje i njegova koncentracija u atmosferi ne prelazi 0,001 % (Lenntech, 2019.). U Zemljinoj je atmosferi smješten u stratosferi (ionosferi) na visini od 20 do 50 km iznad površine Zemlje. Odgovoran je za upijanje UVC i UVB valnih duljina ultraljubičastog zračenja koje dolaze od Sunca, a upravo zbog tog zračenja i nastaje od molekula kisika. Bez stratosferskog ozona život na Zemlji ne bi bio moguć (EPA, 2020.).

Umjetno, ozon se najlakše generira električnim pražnjenjem u zraku (koralno pražnjenje). To je najčešći način stvaranja ozona u industriji i u domaćinstvima. Koristi se zrak, relativno je jeftinija metoda i može se dobiti 3 do 6 % ozona (Law i Kiss, 1991.). U doticaju sa zrakom raspada se u dvoatomski kisik (O_2), i to kroz 20 do 50 minuta (vrijeme poluraspada) (Msayleb, 2015.). Raspadanjem O_3 u O_2 ($2O_3 \rightarrow 3O_2$) oslobađa se jedan atom kisika koji reagira sa staničnom membranom brojnih organizama, čime narušava normalnu staničnu aktivnost (EPA, 2018.).

Dobro je poznata primjena ozona u industriji, posebice u proizvodnji lijekova, proizvodnji sintetičkih motornih ulja te kod brojnih metoda dobivanja

.....

organskih spojeva, gdje je potrebno raskinuti vezu C – C. Poznato je da se ozon koristi u procesu bijeljenja tkanina i za uništavanje mikroorganizama u vodi. Neki gradski vodovodi koriste ozon za pročišćavanje vode umjesto klora. Za ozon je karakteristično da ne ostaje u vodi nakon tretmana vode i ne stvara organske spojeve s klorom. Osim toga, ne daje miris ili okus vodi. Industrijski ozon koristi se u svrhu dezinfekcije u bolnicama, bazenima, kupalištima, za pročišćavanje zraka nakon požara, i sl. (Kim i sur., 1999.). Mnoge bolnice koriste generatore ozona za dezinficiranje operacijskih sala između operacija. Koristi se i za izbjeljivanje visokokvalitetnog bijelog papira. Ozon predstavlja najsnažniji prirodni oksidans koji organske tvari pretvara u njihove osnovne spojeve (Ebihara i sur., 2013.). Kod proizvodnje i prerade hrane poznato je da uništava plijesni na svježem voću i povrću, te smanjuje mikotoksine (White i sur., 2010.). Već od 1906. ozon se koristio za pročišćavanje vode u Francuskoj, 1910. u pakirnicama mesa u Njemačkoj, a između 1936. i 1977. ozonom su se tretirale školjke, sir i jaja u Francuskoj, Americi i Rusiji. Konačno je 1982. ozon kategoriziran kao generalno siguran za uporabu – GRAS (Generally Recognized as Safe) od strane US-a Environmental Protection Agency (EPA), a od 2001. US Food and Drug Administration (FDA) ga priznaje kao sekundarni direktni aditiv u hrani te se počinje primjenjivati u industriji mesa (Sopher i sur., 2002.). U koncentracijama većima od 2 mg/kg ozon u stanju plina ili otopljen u vodi (ozonirana voda) dokazano uništava i bakterije, viruse, gljive i manje kukce (Greishop i sur., 2020.).

Što se tiče direktne uporabe u poljoprivrednoj proizvodnji, primjena ozona djelomično je bila zanemarena zbog nedostatka znanja o specifičnostima kemije ozona i njegovu potencijalu za suzbijanje štetnika. Danas je poznato da je djelomično topiv u vodi, no dovoljno topiv i stabilan da se njegova oksidacijska i/ili dezinfekcijska svojstva mogu iskoristiti u potpunosti. Uspješno se koristi kao alternativa metil bromidu u fumigaciji uskladištenih proizvoda, žitarica, hrane i tla (Sopher i sur., 2002.). Ne pokazuje toksičnost za okoliš jer se u normalnim uvjetima raspada na kisik za samo 30 minuta, ne ostavlja rezidue i nisu zabilježeni štetni utjecaji na zdravlje čovjeka (Takigawa i sur., 2013.). U praksi već postoje različiti uređaji za primjenu ozona, ovisno o zahtjevima proizvodne površine. Za uporabu na manjim površinama (ekološka proizvodnja) ili teško dostupnim terenima ozon se može primijeniti pomoću leđne prskalice. U prskalicu s vodom ubrizgava se ozon visoke gustoće, pri čemu nastaje kemijska reakcija između ozona i vode. Nastaju slobodni radikali ozona, hidroksil radikal (OH) i anion superoksid radikal (O⁻²) koji imaju visok redukcijski potencijal (Ebihara i sur., 2016.). S druge strane, u proizvodnji voćaka i vinove loze koriste se atomizeri i/ili prskalice velikih zapremnina s ugrađenim generatorom ozona, injektorom i recirkulacijskom pumpom, pomoću kojih se ozonira voda za tretiranje nasada (Greishop i sur., 2020.).

Vrlo se malo zna o učinkovitosti ozona i/ili ozonirane vode u suzbijanju

patogenih gljiva, bakterija i virusa kod primjene na otvorenom, primjerice u zaštiti voćaka i vinove loze. Nedostaje informacija o načinu aplikacije, primijenjenim dozama i vremenu primjene, odnosno o broju tretmana (Bharda, 2015.). Prema Modesti i sur. (2019.) primjena ozonirane vode na biljke vinove loze rezultirala je djelomičnim suzbijanjem populacije mikroorganizama, posebno patogenih gljiva. Nadalje, tretmani su uzrokovali kašnjenje u tehnološkoj zrelosti grožđa, no značajno su povećali antioksidativni kapacitet i nakupljanje monoterpena, što je uzrokovalo promjene aromatskog profila grožđa u berbi. Tretman ozonom mogao bi omogućiti učinkovito suzbijanje pepelnice jer se gljiva nalazi na površini biljke gdje ozon može djelovati, no upitna je njegova učinkovitost na gljivične bolesti poput plamenjače, crne truleži i gorke truleži ili antraknoze koje uzrokuju infekcije unutar biljke (Bharda, 2015.). Prema Wood (2003.) ozon djeluje pet tisuća puta brže od klora i nema rezidua. Primijenjen u koncentraciji od 10 mg/l u 10 minuta uništava 99 % bakterija i virusa. Otopljen u vodi (ozonirana voda) ima poluvrijeme raspada od oko 25 minuta, a potrebno je mnogo manje vremena da suzbije bolesti ili štetnike prisutne na vinovoj lozi. Prema Allen i sur. (2003.) doza ozona od 0,16 mg/g dovoljna je za postizanje 96 % učinkovitosti u inaktivaciji spora gljiva na ječmu za samo pet minuta. Ozon potpuno razgrađuje uobičajene mikotoksine ili uzrokuje kemijske promjene koje dovode do smanjenja njihove biološke aktivnosti (McKenzie i sur., 1998.). Greishop i sur. (2020.) utvrdili su da ozon u koncentraciji od 0,8 ppm ne djeluje na bolesti i štetnike u voćnjacima, no smatraju da bi koncentracije između 2 i 5 ppm na mlaznicama mogle pružiti određenu razinu zaštite. Istraživanja učinkovitosti ozona u suzbijanju štetnika životinjskog podrijetla su brojnija, a najvažnija istraživanja koja su pokazala obećavajuće rezultate sažeto su prikazana u tablici 1.

DJELOVANJE OZONA NA KUKCE

Ozon djeluje na respiratorni sustav kukaca uzrokujući oksidativni stres. Ulaskom u stanicu dolazi do oksidacije enzima, proteina, DNA i RNA te posljedično oštećenja i raspada staničnih stijenka (Hollingsworth i Armstrong, 2005.; Tiwari i sur., 2010.; EPA, 2018.; Lenntech, 2019.). Utvrđeno je da se osjetljivost kukaca, odnosno učinkovitost ozona, povećava s dužim vremenom izloženosti (Lemic i sur., 2019b.) te je u ovisnosti s razvojnim stadijem štetnika. Subramanyam i sur. (2017.) utvrdili su veću osjetljivost odraslih *Rhyzopertha dominica* (F.) u odnosu na ličinački stadij. U tablici 1 prikazan je pregled dosadašnjih spoznaja o učinkovitosti ozona na štetne kukce te podrobnosti provedenih pokusa. Kako bi se lakše stekao dojam o utvrđenim učinkovitostima u provedenim istraživanjima, tablicom su prikazane najveće primijenjene koncentracije (ili doze) ozona, najduže trajanje tretmana u pokusu te najviša utvrđena učinkovitost.

Tablica 1. Pregled dosadašnjih istraživanja korištenja ozona u suzbijanju štetnika

Vrsta štetnika	Stadij štetnika	Mjesto istraživanja	Oblik ozona	Primijenjena koncentracija ili doza (maks.)	Trajanje tretmana (maks.)	Utvrđena učinkovitost (maks.)	Autor(i)
<i>Sitophilus granarius</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	0.002 ppm	120 min	95 %	Lemic i sur. (2019a.)
<i>Sitophilus granarius</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	0.002 ppm	120 min	100 %	
<i>Blatta lateralis</i> Walker	odrasli	laboratorij	plin	0,006ppm	360 min	100 %	Lemic i sur. (2019b.)
<i>Blaetia dubia</i> Serville	odrasli	laboratorij	plin	0,006ppm	360 min	10 %	
<i>Tenebrio molitor</i> L.	ličinke	laboratorij	plin	0,006 ppm	360 min	95 %	
<i>Zophobas morio</i> Fabricius	ličinke	laboratorij	plin	0,006ppm	360 min	23 %	
<i>Pachnoda sinuata flaviventris</i> Gory & Percheron	ličinke	laboratorij	plin	0,006ppm	360 min	0 %	
<i>Gryllus campestris</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	0,006ppm	360 min	100 %	
<i>Sitophilus granarius</i>	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	100 ppm	5 dana	99 %	Hansen i sur. (2012.)
<i>Sitophilus oryzae</i> L.	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	100 ppm	5 dana	99 %	
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	100 ppm	5 dana	99 %	
<i>Rhyzopertha dominica</i> Fabricius	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	135 ppm	8 dana	100 %	
<i>Stegobium paniceum</i> L.	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	135 ppm	6 dana	85 %	
<i>Sitotroga cerealella</i> Olivier	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	135 ppm	8 dana	100 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	35 ppm	6 dana	100 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	35 ppm	6 dana	100 %	
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	35 ppm	6 dana	100 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	odrasli i ličinke	laboratorij	plin	35 ppm	6 dana	98 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	37,9 h	95 %	Sousa i sur. (2008.)
<i>Rhyzopertha dominica</i> Fabricius	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	35,17 h	95 %	
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	18,72	95 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	151,8 h	95 %	Pereira i sur. (2008.)
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli, ličinke, kukuljice i jaja	laboratorij	plin	1800 ppm	180 min	100 %	McDonough i sur. (2011.)

<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	odrasli, ličinke, kukuljice i jaja	laboratorij	plin	1800 ppm	180 min	100 %	
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli	laboratorij	plin	1800 ppm	60 - 120 min	100 %	
<i>Sitophilus oryzae</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	1800 ppm	60 - 120 min	100 %	
<i>Rhyzopertha dominica</i> Fabricius	odrasli	laboratorij	plin	0.84 g/m ³	36 h	99 %	Subramanyami i sur. (2017.)
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	laboratorij	plin	0.42 g/m ³	12 h	100 %	Xinyi i sur. (2017.)
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	0.42 g/m ³	13 h	100 %	
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli	laboratorij	plin	0.42 g/m ³	14 h	100 %	
<i>Sitophilus oryzae</i> L.	odrasli	laboratorij	plin	0.42 g/m ³	15 h	100 %	
<i>Blatta germanica</i> L.	odrasli, kukuljice i jaja	laboratorij	plin	480 ppm	24 h	100 %	Tian (2015.)
<i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande	odrasle ženke	laboratorij	plin	200 ppm	30 min	98 %	Hollingsworth i Armstrong (2005.)
<i>Pseudococcus longispinus</i> Targioni Tozzetti	odrasli	laboratorij	plin	200 ppm	30 min	47,9 %	
<i>Tribolium spp.</i>	ličinke i kukuljice	laboratorij	plin	45 ppm	6,5 h	100 %	Erdman (1980.)
<i>Tribolium confusum</i> Jacquelin du Val i <i>T. castaneum</i> Herbst	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	3 dana	100 %	Mason i sur. (1999.)
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli	laboratorij	plin	50 ppm	3 dana	100 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	ličinke i kukuljice	laboratorij	plin	50 ppm	6 dana	100 %	
<i>Liposcelis bostrychophila</i> Badonnel i <i>Liposcelis paeta</i> Pearman	odrasle ženke	laboratorij	plin	70 ppm	24 h	100 %	Bonjour i sur. (2011.)
<i>Liposcelis bostrychophila</i> Badonnel i <i>Liposcelis paeta</i> Pearman	jaja	laboratorij	plin	70 ppm	24 h	0 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	ličinke	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	60 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	kukuljice	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	90 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	jaja	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	33 %	
<i>Sitophilus oryzae</i> L.	odrasli	silos (bačve)	plin	25 - 70 ppm	2-4 dana	100 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	100 %	

<i>Cryptolestes ferrugineus</i> Stephens	odrasli	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	14 %	
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.	odrasli	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	14 %	
<i>Rhyzopertha dominica</i> Fabricius	odrasli	silos (bačve)	plin	70 ppm	4 dana	3 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	silos (bačve)	plin	50 ppm	3 dana	92,2 %	Kells i sur. (2001.)
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli	silos (bačve)	plin	50 ppm	3 dana	100 %	
<i>Plodia interpunctella</i> Hübner	ličinke	silos (bačve)	plin	50 ppm	3 dana	94,5 %	
<i>Tribolium castaneum</i> Herbst	odrasli	silos	plin	47,000 ppm	5 min	100 %	McDonough i sur. (2010.)
<i>Sitophilus zeamais</i> Motsch.	odrasli	silos	plin	47,000 ppm	6 min	100 %	
Aphididae	odrasli	polje	ozonirana voda	5 ppm	10 sek	90 %	Ebihara i sur. (2016.)
Aphididae	odrasli	polje	plin	70g/m ³	10 sek	90 %	
<i>Cydia pomonella</i> L.	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	5 %	Grieshop i sur. (2019.)
<i>Conotrachelus nenuphar</i> Herbst	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	7 %	
Cicadellidae	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	65 %	
Aphididae	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	65 %	
Heteroptera	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	11 %	
Tortricidae	odrasli	voćnjak	ozonirana voda	0,8 ppm	1,5 h	11 %	
Aphididae	odrasli	staklenik	ozonirana voda	70g/m ³	n/a	100 %	Ebihara i sur. (2017.)
<i>Meloidogyne javanica</i> Treub	drugi juvenilni stadij i	tlo	plin	250 kg of ozona/ha	30 min	68 %	Qju i sur. (2009.)
<i>Meloidogyne javanica</i> Treub	slobodno-živuće nematode	tlo	plin	250 kg of ozona/ha	30 min	52 %	

RASPRAVA

Kako je i prikazano u tablici, ozon je istraživan u brojnim studijama u zadnjih 20 godina. Utvrđivala se njegova učinkovitost uglavnom u laboratorijskim uvjetima, potom u silosima, a novija istraživanja (od 2016. do 2019.) provedena su u i na otvorenom (polje, voćnjak). Praćena je učinkovitost ozona uglavnom na najvažnije skladišne štetnike iz redova kornjaša i leptira (*Sitophilus* sp., *Tenebrio molitor*, *Rhyzopertha dominica*, *Stegobium paniceum*, *Sitotroga cerealella*, *Tribolium* sp., *Oryzaephilus surinamensis*, *Plodia interpunctella*, *Ephestia kuehniella*) te na ostale štetnike zatvorenih sustava poput kontejnera (žohari). U svim istraživanjima utvrđena je vrlo dobra učinkovitost na skladišne štetnike i u laboratoriju i u silosima, i to od 95 do 100 %, međutim postoje

.....

razlike u koncentraciji ozona i vremenu izloženosti. Količine primijenjena ozona kretale su se od vrlo niskih 0.002 ppm (Lemic i sur., 2019a.) do vrlo visokih 1800 ppm (McDonough i sur., 2011.), kao i vrijeme izloženosti koje je u pojedinim istraživanjima bilo vrlo kratko (5 min: McDonough i sur., 2010.) do izlaganja ozonu koja su trajala i osam dana (Hansen i sur., 2012.). U istraživanju sa žoharima utvrđene su 100-postotne učinkovitosti na vrste *Blatta germanica* (Thian, 2015.) i *Blatta lateralis* (Lemic i sur., 2019b.). Radi se o žoharima manjih dimenzija, a na vrsti *Blaptica dubia* (žohar veličine i do 45 mm) učinkovitost je bila samo 10 % (Lemic i sur., 2019b.). Dok se ne utvrde konkretni razlozi velikih razlika u tretmanima i njihovoj učinkovitosti, Hansen i sur., (2012.) sugeriraju korištenje doze od 35 ppm ozona tijekom šest dana za uspješno suzbijanje štetnika pri direktnoj ekspoziciji. Učinkovitost na jaja štetnika vrlo se malo istraživala, a dostupni podatci govore da ozon nije učinkovit na kukce u tom stadiju (Bonjour i sur., 2011.) ili su potrebne iznimno visoke koncentracije za zadovoljavajuću učinkovitost (1800 ppm: McDonough i sur., 2011., 480 ppm: Tian, 2015.). Tako je zbog toga što ozon ne prodire u proizvode određene vlažnosti, poput voća i povrća, dijelom i zato što brzo reagira sa slobodnom vlagom. Slobodna vlaga, bilo na površini ili unutar vode, sprječava prodor ozona (Hollingsworth i Armstrong, 2005.). Zasižno zato primjena ozona u obliku plina ne djeluje na jaja, pogotovo ako se ona nalaze unutar nekog ploda (npr. žižak u grašku: Hollingsworth i Armstrong, 2005.).

Na istraživanjima provedenima na otvorenom (polje, voćnjak) uspješno su suzbijane lisne uši i cvrčci (65 do 90 %) (Ebihara i sur., 2016. i Grieshop i sur., 2019.). Valja naglasiti da je na otvorenom ozon primijenjen u obliku ozonirane vode, te da je vrijeme izloženosti bilo 10 sekunda do 1,5 sati. Na ostale štetnike koji su tretirani ozonom u voćnjacima nije utvrđen zadovoljavajući učinak, učinkovitost je bila svega 5 % za jabukova savijača, 11 % za ostale savijače i stjenice (Grieshop i sur., 2019.). Važno je istaknuti da su tretirani isključivo odrasli stadiji spomenutih štetnika, te bi, očekivano, učinkovitost bila puno veća kada bi se tretirali ličinački stadiji najvažnijih štetnika u voćarstvu. U istraživanju Ebihara i sur. (2017.) utvrđen je 100 % mortalitet lisnih ušiju u stakleniku. Od iznimne je važnosti spomenuti i istraživanje Qiu i sur. (2009.) koji su ozonom u formi plina tretirali tlo (u trajanju od 30 min.), što je polučilo 68-postotni mortalitet parazitskih i slobodno živućih nematoda.

Osim na štetnike prisutne u skladištima i silosima te u voćarskoj proizvodnji, uporaba ozona istraživana je na šetnicima cvijeća i povrća prilikom izvoza (u karanteni): kalifornijskog tripsa, *Frankliniella occidentalis* i vunaste uši, *Pseudococcus longispinus* (Hollingsworth i Armstrong, 2005.). U suzbijanju tih štetnika učinkovitost ozoniranja povećavala se s povećanjem koncentracije primijenjena ozona i povećanjem temperature te vremena trajanja izloženosti. Vunaste uši (48 %) otpornije su na primjenu ozona u usporedbi s kalifornijskim tripsom (98 %) (Hollingsworth i Armstrong, 2005.). Važno je istaknuti da je

osjetljivije ukrasno bilje (maćuhice, rezano cvijeće, kućno cvijeće iz porodice mlječika, i sl.), tretirano u karanteni, u određenoj mjeri oštećeno tretmanom ozonom. Međutim, biljke s čvrstim listovima, kao što su orhideje, nisu imale značajnija oštećenja, kao ni cvjetovi s voštanom prevlakom. Rezultati autora Hollingsworth i Armstrong (2005.) sugeriraju da ozon ima potencijal u tretiranju biljnog materijala i ostale robe kod uvoza/izvoza, posebno kada se radi o prevenciji unosa karantenskih štetnika, ali svakako treba voditi računa o biljnom materijalu koji se tretira. Nekoliko studija pokazalo je da ozoniranje može imati negativan ili pozitivan učinak na klijavost sjemena, ovisno o uvjetima, koncentraciji ozona i vremenu izloženosti ozoniranju (Mason i sur., 1997.; Allen i sur., 2003.; Wu i sur., 2006.; Violleau i sur., 2007.).

Premda primjena ozona očigledno ima svoju budućnost u zaštiti bilja, većina se autora slaže da je prije primjene u suzbijanju štetnih organizama nužno utvrditi sljedeće parametre: (I) osjetljivost biljaka koje se tretiraju, (II) količine ozona i oblik u kojemu je najoptimalnije djelovanje (visoka učinkovitost, niski troškovi), (III) vrijeme trajanja ozoniranja u zatvorenim prostorima i na otvorenom, (IV) osjetljivost/otpornost pojedinih štetnih organizama i njihovih razvojnih stadija.

ZAKLJUČAK

Ulaganje u inovativna istraživanja u području suzbijanja štetnih organizama od presudne je važnosti za uspješnu i ekološki prihvatljivu zaštitu bilja. Primjena ozona moguća je alternativa tradicionalnim insekticidima i fungicidima kao biofumigant protiv niza štetnika, mikroorganizama i mikotoksina. Kako bi primjena ozonom postala dio prakse u zaštiti bilja, nužno je provesti dodatna istraživanja o učinkovitosti ozona na štetne organizme, ali i o sigurnosti za biljke koje štitimo. Unatoč dobro poznate učinkovitosti ozona na bakterije i gljive, nužna su istraživanja o mogućnostima primjene na vrste i sojeve važne u poljoprivredi, uz maksimalnu brigu o kulturama koje se štite.

Osim visoke učinkovitosti u zatvorenim prostorima (skladišta, silosi) na sve vrste štetnih organizama (kukci, grinje, bolesti), tretmani ozonom nameću se kao potencijalno rješenje za učinkovito suzbijanje štetnika i na otvorenim prostorima (voćnjaci, vinogradi i sl.). Međutim, nesukladnosti o učinkovitosti i sigurnosti primjene ozona zahtijevaju daljnja istraživanja, da bi se razjasnili različiti, često kontradiktorni zaključci. Te razlike vjerojatno su uzrokovane velikom varijabilnosti u uvjetima primjene, metodama koje su se koristile i kod proizvodnje ozona i kod tretiranja štetnih organizama, intervala izloženosti, i sl. Također, važni čimbenici koje treba uzeti u obzir kada se govori o nesukladnosti rezultata svakako su okolišni uvjeti (temperatura zraka, relativna vlažnost, površinske karakteristike tretirana materijala, vrste tretirane robe i značajke štetnog organizma). Standardizacija uvjeta primjene i tehnika ozoniranja, kao i količine ozona, nužni su za definiranje načina djelovanja i učinkovitosti ozona

ne samo u zatvorenim sustavima nego i na otvorenom.

FUTURE OF OZONE APPLICATION IN AGRICULTURE

SUMMARY

The use of plant protection products ensures effective protection of agricultural crops with quality and high yields. The negative effects of plant protection products are primarily reflected in the occurrence of resistance, pesticide residues in the environment and loss of biodiversity. The need to introduce alternative pest control methods that are both effective and safe for producers, consumers and the environment is increasingly emphasized. A possible alternative in plant protection is the use of ozone (O₃). Ozone is a gas that is naturally found in the Earth's stratosphere, and is very simply artificially produced by electrical discharge. Its disinfectant properties and applications in the healthcare and food industries have long been known. In the last 20 years, the possibility of its application in agriculture, primarily in protection against harmful organisms, has been investigated. The paper presents an overview of current knowledge on the effectiveness of ozone on harmful insects and details of experiments conducted in Croatia and abroad. In addition to high efficiency indoors (warehouses, silos) on all types of harmful organisms (insects, mites, diseases), ozone treatments are imposed as a potential solution for effective pest control in open spaces (orchards, vineyards, etc.). Ozone in amounts greater than 2 ppm effectively suppresses bacteria, viruses, fungi and numerous insects. It does not show environmental toxicity, it decomposes under normal conditions into oxygen within only 30 minutes, leaves no residues and no adverse effects on human health. The application of ozone is an alternative to traditional insecticides and fungicides as a biofumigant against a number of pests, microorganisms and mycotoxins and is certainly a method that has a future in plant protection.

Keywords: ozonized water, gas, silo, greenhouse, vineyard, orchard.

LITERATURA

Allen, B., Wu, J. N., Doan, H. (2003.). Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. *Journal of Environmental Science and Health, Part B - Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 38 (5), 617–630.

Bažok, R., Lemić, D. (2017.). Rezistentnost štetnika na insekticide. *Glasilo biljne zaštite*, 17 (5), 429-438. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/189218>

Bharda, R. (2015.). Using Ozone for Integrated Pest Management in Viticulture. *Engineering and Technology for Sustainable World*, 22 (4), 15 – 17.

Bonjour, E. L., Opit, G. P., Hardin, J., Jones, C. L., Payton, M. E., Beeby, R. L. (2001.). Efficacy of ozone fumigation against the major grain pests in stored wheat. *J. Econ. Entomol.*, 104, 308–316.

.....
Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991. Concerning the placing of plant protection products on the market of the European Communities. Official Journal of the European Communities, 230, 1–32, dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A31991L0414> (pristupljeno: 4. 11. 2020.).

Ebihara, K., Mitsugi, F., Ikegami, T., Nakamura, N., Hashimoto, Y., Yamashita, Y., Sung, T. (2013.). Ozone-mist spray sterilization for pest control in agricultural management. *The European Physical Journal Applied Physics*, 61 (2), 24318. doi:10.1051/epjap/2012120420

Ebihara, K., Mitsugi, F., Ikegami, T., Yamashita, Y., Hashimoto, Y., Yamashita, T., Kanazawa, S., Stryczewska, H. D., Pawlat, J., Teii, S. (2016.). Sterilization characteristics of ozone-mist spray for chemical free agriculture. *International Journal of Plasma Environmental Science and Technology*, 10 (1), 11–15.

Ebihara, K., Yamashita, Y., Yamashita, T., Baba, S., Aouqi S.; Mitsugi, F., Ikegami, T., Stryczewska, H. D. (2017.). Ozone-mist sterilisation and web-based management for greenhouse agriculture. *International Conference on Electromagnetic Devices and Processes in Environment Protection with Seminar Applications of Superconductors (ELMECO & AoS)*, Lublin, 1 – 4. DOI: 10.1109/ELMECO.2017.8267740.

Erdman, H. E. (1980.). Ozone toxicity during ontogeny of two species of Flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum*. *Environ. Entomol.*, 9, 16-17.

EPA (2018.). Health Effects of Ozone Pollution, dostupno na: <https://www.epa.gov/ground-level-ozone-pollution/health-effects-ozone-pollution> (pristupljeno: 2. 11. 2020.)

EPA (2020.). United States Environmental Protection Agency, dostupno na: <https://www.epa.gov/ozone-layer-protection> (pristupljeno: 02. 11. 2020.)

Geiger, I., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W. W., Emmerson, M., Morales, M. B., Ceryngier, P., Liira, J., Tschardt, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Pärt, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L. V., Dennis, C., Palmer, C., Oñate, J. J., Guerrero, I., Hawro, V., Aavik, T., Thies, C., Flohre, A., Hänke, S., Fischer, C., Goedhart, P. W., Inchausti, P. (2011.). Erratum to “Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland” [*Basic Appl. Ecol.* 11 (2010) 97–105], *Basic Appl. Ecol.*, Volume 12 (4), 386 – 387.

Griehop, M., Koonter, K. D., Savage, B., Singh, S. (2019.). Field Scale Evaluation of an Ozone Airblast Sprayer for Management of Apple Insect and Disease Pests. *Fruit Quarterly*, 27 (2), 9 – 13.

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 Manag. Sci.*, 68, 1311–1316.

Health Eects of Ozone Pollution. Available online: <https://www.epa.gov/ground-level-ozone-pollution/health-eects-ozone-pollution> (accessed on 14 August 2019).

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. *J. Econ. Entomol.*, 98, 289–298.

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 (4), 371–382.

Kim, J. G., Yousef, A. E., Dave, S. (1999.). Application of ozone to control insects, molds, and mycotoxins. U: Donahaye, E. J., Navarro, S., Varnava, A. (ur.). *Proceeding of the International Conference on Control Atmosphere and Fumigation of Stored*

Products,. Proceeding of the International Conference on Control Atmosphere and Fumigation of Stored Products, Cipar.

Lanntech (2019.). Ozone from an ozone generator, dostupno na: <https://www.lanntech.com/ozone.htm> (pristupljeno: 5.11.2020.)

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.

Lemic, D., Jembrek, D., Bažok, R., Pajač Živkovic, I. (2019a.). Ozone Eectiveness on Wheat Weevil Suppression: Preliminary Research. *Insects*, 10, 357. DOI:10.3390/insects10100357

Lemić, D., Jembrek, D., Jantolek, L., Šimunović, K., Genda, M., Galešić, M. A. (2019b.). Učinkovitost ozona u suzbijanju kukaca. *Fragm. Phytom.*, Vol. 33 (4), 41 – 57.

McDonough, M. X., Mason, L. J., Woloshuk, C., Campabadal, C. (2010.). Ozone technology in the post-harvest storage environment- a comparison of efficacy of high doses of ozone to insects treated under laboratory conditions and field conditions. 10th International Working Conference on Stored Product Protection, Julius-Kühn-Archiv, 425, 2010. DOI: 10.5073/jka.2010.425.195

Mason, L. J., Woloshuk, C. P., Maier, D. E. (1997.). Efficacy of ozone to control insects, molds and mycotoxins. U: Donahaye, E. J., Navarro, S., Varnava, A. (ur.). Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Cyprus Printer Ltd., Nicosia, 665-670.

Mason, L. J., Strait, C. A, Woloshuk, C. P., Maier, D. E. (1999.). Controlling stored grain insects with ozone fumigation. U: Zuxun, J., Quan, L., Yongsheng, L., Xianchang, T., Lianghua G. (ur.). Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-product Protection, Beijing, Peoples Republic of China, 536 – 547.

McDonough, M. X., Mason, L. J., Charles, P., Woloshuk, C. (2011.). Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals. *Journal of Stored Products Research*, 47 (4), 306-310. DOI: 10.1016/j.jspr.2011.04.003

McKenzie, K. S., Kubena, L. F., Denvir, A. J., Rogers, T. D., Hitchems, G. D., Bailey, R. H., Harvey, R. B., Buckley, S. A., Phillips, T. D. (1998.). Aflatoxicosis in turkey poults is prevented by treatment of naturally contaminated corn with ozone generated by electrolysis. *Poultry Science*, 77, 1094–1102.

Modesti, M., Baccelloni, S., Brizzolara, S., Aleandri, M. P., Bellincontro, A., Mencarelli, F., Tonutti, P. (2019.). Effects of treatments with ozonated water in the vineyard (cv Vermentino) on microbial population and fruit quality parameters. Published by EDP Sciences, BIO Web of Conferences 13, 04011.

Msayleb, N. (2015). Ozone as a safer and greener alternative to pesticides, dostupno na: <https://theglobalscientist.com/2015/01/07/ozone-as-a-safer-and-greener-alternative-to-pesticides> (pristupljeno: 02.11.2020.)

Oerke, E. C. (2005). Crop losses to pests. *J. Agr. Sci.*, 144, 31–43. DOI:10.1017/S0021859605005708

Pereira, A. D. M., Faroni, L. R. D. A., De Sousa, A. H., Urruchi, W. I., Paes, J. L. (2008.). Influence of the grain temperature on the ozone toxicity to *Tribolium castaneum*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 12 (5), 493–497.

Popp, J., Pető, K., Nagy, J. (2013.). Pesticide productivity and food security. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 33, 243–255. DOI 10.1007/s13593-012-0105-x

Qiu, J., Westerdahl, B., Pryor, A. (2009.). Reduction of root-knot nematode, *meloidogyne javanica*, and ozone mass transfer in soil treated with ozone. *Journal of Nematology*, 41, 241–246.

-
- Silva, V., Mol, H. G. J., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C. J., Geissen, V.** (2019.). Pesticide residues in European agricultural soils – A hidden reality unfolded, *Science of The Total Environment*, 653, 1532 – 1545. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.441>.
- 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. Proceedings of the International Ozone Association, Pan American Group.
- Sousa, A. H., Faroni, L. R. D. A., Guedes, R. N. C., To'tola, 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 (4), 379–385.
- Subramanyam, B., Xinyi, E., Savoldelli, S., Sehgal, B.** (2017.). Efficacy of ozone against *Rhyzopertha dominica* adults in wheat. *Journal of Stored Products Research*, 70, 53–59. DOI: 10.1016/j.jspr.2016.12.002
- Takigawa, K., Ueno, K., Nagatomo, T., Mitsugi, F., Ikegami, T., Ebihara, K., Nakamura, N., Hashimoto, Y., & Yamashita, Y.** (2013.). Experiment of pest control with portable ozone mist device, dostupno na: <https://www.semanticscholar.org/paper/Experiment-of-pest-control-with-portable-ozone-mist-Takigawa-Ueno/5e86e5ae04d87dc76096a331c7472f23ca64d4ae# citing-papers> (pristupljeno: 4.11.2020.)
- Tian, Y.** (2015.). Potential of ozone technology for German cockroach (*Blattella germanica* (L.)) management. Doktorska disertacija. Purdue University, dostupno na: https://docs.lib.purdue.edu/open_access_theses/621 (pristupljeno: 4.11.2020.)
- Tiwari, B. K., Brennan, C. S., Curran, T., Gallagher, E., Cullen, P. J., O'Donnell, C. P.** (2010.). Application of ozone in grain processing. *J. Cereal Sci.*, 51, 248–255.
- Violleau, F., Hadjeba, K., Albet, J., , Cazalis, R., Surel, O.** (2007.). Increase of corn seeds germination by oxygen and ozone treatment. IOA Conference and Exhibition Valencia, Spain, 3.4, 1 – 6, dostupno na: https://www.researchgate.net/profile/Joel_Albet/publication/242079982_Increase_of_corn_seeds_germination_by_oxygen_and_ozone_treatment/links/0a85e53bea43ad1562000000/Increase-of-corn-seeds-germination-by-oxygen-and-ozone-treatment.pdf
- 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.
- Wood, D.** (2013). Ozonated water: Vineyard pest control without chemicals, dostupno na: <http://midwestwinepress.com/2013/03/31/ozonated-water-vineyard-pest-control-without-chemicals> (pristupljeno: 5.11.2020.)
- Wu, J. N., Doan, H., Cuenca, M. A.** (2006.). Investigation of gaseous ozone as an antifungal fumigant for stored wheat. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81, 1288e1293.
- Xinyi, E., Subramanyam, B., Li, B.** (2017.). Efficacy of ozone against phosphine susceptible and resistant strains of four stored-product insect species. *Insects*, 8 (2). DOI: <https://doi.org/10.3390/insects8020042>.

Pregledni rad