Magdalena Zorica[1], Mirjana Brmež[2], Šimun Kolega[1], Marko Zorica[1], Šime Marcelić[1], Tomislav Kos[1]

Stručni rad

Biološki insekticidi: mehanizmi djelovanja i prednosti primjene

Sažetak

Biološki insekticidi predstavljaju ključan segment održive zaštite bilja jer se temelje na primjeni organizama prirodnog podrijetla i njihovih bioaktivnih spojeva. U preglednom radu razmatrane su glavne skupine bioloških insekticida koje djeluju na štetnike životinjskog podrijetla, uključujući bakterije poput Bacillus thuringiensis Berliner, 1915, viruse iz skupine nukleopoliedrovirusa, entomopatogene gljive poput Beauveria bassiana (Bals.-Criv.) Vuill., 1912 i Metarhizium anisopliae (Metschn.) Sorokin, 1883, te mikrosporidije poput Nosema locustae Canning, 1953. Raspravljena je specifičnost mehanizama djelovanja ovih agensa, njihova selektivnost, niska toksičnost za neciljane organizme te prednosti u pogledu biorazgradivosti i kompatibilnosti s principima integrirane zaštite bilja. Poseban naglasak stavljen je na analizu dostupnosti i regulatornog statusa bioloških insekticida u Republici Hrvatskoj, gdje je broj registriranih pripravaka i dalje ograničen. U tom kontekstu analizirane su prepreke povezane s registracijskim postupcima, tržišnom dostupnošću i razinom informiranosti korisnika. učno, biološki insekticidi nude značajne mogućnosti za smanjenje primjene konvencionalnih kemijskih sredstava, ali njihova uspješna integracija u praksu zahtijeva snažniju institucionalnu i zakonodavnu podršku, edukaciju korisnika te daljnja istraživanja učinkovitosti u agroekološkim uvjetima Republike Hrvatske.

Ključne riječi: *biorazgradivost, entomopatogene bakterije, entomopatogene gljive, etomopatogeni virusi, okolišu prihvatljiva zaštita bilja*

Uvod

Biopesticidi su sredstva za zaštitu bilja koja sadrže žive organizme (npr. bakterije, viruse, gljive, nematode) ili njihove izlučevine poput toksina i metabolita, a za razliku od sintetskih pesticida, prirodnog su podrijetla (Copping i Menn, 2000). Prema podjeli koja se koristi u znanstvenoj literaturi, biopesticidi se dijele na makrobiološke (korisni kukci i nematode), mikrobiološke (mikroorganizmi poput virusa, bakterija, protozoa i gljiva), botaničke (biljni

1 ***Magdalena Zorica****, mag. ing. agr., dr. sc.* ***Šimun Kolega****,* ***Marko Zorica****, mag. ing. agr., doc. dr. sc.* ***Šime Marcelić****, izv. prof. dr. sc.* ***Tomislav Kos****, Sveučilište u Zadru, Odjel za ekologiju, agronomiju i akvakulturu, Trg Kneza Višeslava 9, 23000 Zadar, Hrvatska (Dopisni autori; mbaricevic@unizd.hr., tkos@unizd.hr)*
2 prof. dr. sc. ***Mirjana Brmež****, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Fakultet agrobiotehničkih znanosti, Vladimira Preloga 1, 31 000 Osijek, Hrvatska*
Autor za korespondenciju: *mbaricevic@unizd.hr, tkos@unizd.hr*

ekstrakti) i biokemijske proizvode mikroorganizama (Glare i sur., 2012; van Lenteren, 2012). Makrobiološki biopesticidi koriste veće biološke agense poput parazitoida, predatora i entomopatogenih nematoda za biološko suzbijanje štetnika (van Lenteren, 2012). Mikroorganizmi poput virusa, bakterija, protozoa i gljiva koriste se u mikrobiološkim biopesticidima za suzbijanje patogena i štetnika (Glare i sur., 2012). Botanički biopesticidi sastoje se od ekstrakata ili aktivnih tvari iz biljaka s insekticidnim ili repelentnim svojstvima. Proizvodi mikroorganizama uključuju metabolite i toksine koje proizvode, a koji djeluju protiv štetnih organizama (Copping i Menn, 2000). Sve ove skupine zajedno pružaju održive i ekološki prihvatljive alternative sintetskim pesticidima.

Pojam biopesticid u znanstvenoj i regulatornoj literaturi šire je prihvaćen tijekom 1980-ih, ponajprije zahvaljujući klasifikaciji američke Agencije za zaštitu okoliša (EPA), koja ih dijeli na mikrobne, biokemijske i genetski modificirane biopesticide (EPA, 2023). Iako se izraz "biopesticid" pojavio relativno kasno, koncept njihove upotrebe je znatno stariji – poznato je da su u drevnoj Kini i Indiji već prije više od 2 000 godina korišteni biljni ekstrakti, poput neema (*Azadirachta indica* A. Juss., 1830), za zaštitu usjeva (Copping i Menn, 2000). Prva moderna primjena zabilježena je 1901. godine u Japanu, kada je otkrivena bakterija *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (*B.t.*), a njezina se komercijalna upotreba proširila u Europi i SAD-u tijekom 1950-ih (Glare i O'Callaghan, 2000). Biopesticidi su uvedeni kao alternativa sintetskim insekticidima zbog zabrinutosti za okoliš, pojave rezistentnosti na sintetske pesticide kod štetnika, te zdravstvenih rizika povezanih s ostacima kemikalija u hrani. Dodatni poticaj dala je i sve snažnija orijentacija zakonodavstva prema održivoj i okolišu prihvatljivoj poljoprivredi, osobito u sklopu strategije Europske unije "Od polja do stola" (From Farm to Fork) (Chandler i sur., 2011; European Commission, 2020).

Potencijalne koristi za poljoprivredu korištenjem biopesticida su značajne. Interes za njima temelji se na prednostima povezanim s takvim proizvodima, a to su:

- manje štetni za okoliš,
- sintetizirani/proizvedeni/formulirani da utječu samo na jednog specifičnog štetnika ili u nekim slučajevima, na nekoliko ciljanih organizama,
- često učinkoviti u vrlo malim količinama, karakteristični po brzoj razgradnji, visoke biorazgradivost, što rezultira nižom izloženošću i izbjegavanjem onečišćenja,
- kada se koriste kao sastavni dio programa integrirane zaštite bilja (IPM), biološki insekticidi joj značajno doprinose (Gupta i Dikshit, 2010.).

Iako biopesticidi imaju ekološke prednosti njihova učinkovitost često je niža od sintetskih pesticida. Istraživanje provedeno u Africi pokazalo je kako primjena biopesticida smanjuje broj štetnika za prosječno 63 %, štetu na usjevima za više od 50 %, a povećavaju prinos za preko 60 %, pri čemu se održava 43 % veća populacija prirodnih neprijatelja u odnosu na kemijsku zaštitu (Ratto i sur., 2022). U studijama fokusiranim na predatore, smanjenje brojnosti štetnika u prosjeku iznosi 73 %, uz 25 % porasta prinosa, bez obzira na broj vrsta predatora u sustavu (Boldorini i sur., 2024). Povećanu smrtnost i smanjenje razmnožavanja prirodnih neprijatelja mogu povećati sintetski herbicidi, stoga njihova zamjena biopesticidima može značajno pomoći u očuvanju ekosustava (Schmidt-Jeffris, 2023). Biopesticidi, iako ekološki prihvatljivi, često zahtijevaju optimizirane formulacije za stabilnost i učinkovitost, a njihova djelotvornost može u polju biti niža nego u kontroliranim uvjetima (Samada i Tambunan, 2020).

Unutar široke skupine biopesticida posebno se izdvajaju biološki insekticidi, koji se odnose na biopesticide specifično namijenjene suzbijanju štetnih kukaca. Iako je izraz prihvaćen u stručnoj i regulatornoj terminologiji, u duhu hrvatskoga jezika on nosi određene manj-

kavosti zbog spajanja prefiksa „bio“ s imenicom „insekticid“, koja implicira ubijanje. Stoga bi u nekim kontekstima primjereniji izraz bio okolišu prihvatljivo sredstvo za zaštitu bilja (SZB) za suzbijanje štetnih kukaca. On kao duži, bolje odražava funkcionalnu i etičku svrhu ovih pripravaka, a to je smanjenje šteta od štetnih kukaca uz očuvanje prirodne ravnoteže i minimalan negativan utjecaj na okoliš. Ovaj pojam opisuje sredstva koja imaju visoku selektivnost, brzo se razgrađuju, nisko su toksični za ne ciljane organizme i ne ostavljaju štetne ostatke u hrani i tlu (Gupta i Dikshit, 2010).

Okolišu prihvatljivo sredstvo za zaštitu bilja je pripravak koji učinkovito suzbija štetne organizme, ali pritom nema negativnog učinka na okoliš, ljudsko zdravlje ni korisne organizme. Temelji se na prirodnim tvarima ili živim organizmima, brzo se razgrađuje i ne ostavlja štetne ostatke. Takva sredstva pridonose održivoj poljoprivredi jer omogućuju zaštitu usjeva uz očuvanje ekološke ravnoteže.

Prema dostupnim podacima, broj registriranih biopesticida u svijetu kontinuirano raste, što odražava sve veći interes za ekološki prihvatljive metode zaštite bilja. U Europskoj uniji do 2021. godine bilo je registrirano ukupno 68 aktivnih tvari koje se klasificiraju kao biopesticidi, uključujući mikrobiološke, botaničke i prirodne tvari. U Sjedinjenim Američkim Državama taj broj je znatno veći, s približno 400 registriranih aktivnih biopesticidnih tvari (Covance, 2021). U Republici Hrvatskoj zasebni podaci o ukupnom broju registriranih biopesticida zasad nisu javno dostupni, no prema izvješćima Ministarstva poljoprivrede i podacima Fitoinformacijskog sustava vidljiv je trend porasta korištenja biopesticida, osobito u segmentu ekološke proizvodnje (Europska komisija, 2025). Premda udio biopesticida u ukupnoj potrošnji pesticida još uvijek nije dominantan, njihova uporaba raste u skladu s politikama smanjenja uporabe kemijskih pesticida i poticanja održive poljoprivrede (Europska komisija, 2020).

U SAD-u registraciju i nadzor nad biopesticidima provodi Environmental Protection Agency (EPA), koja koristi ubrzani sustav odobravanja temeljen na procjeni toksičnosti, izloženosti i utjecaja na okoliš (USEPA, 2001). Nasuprot tomu, Europska unija provodi konzervativniji pristup, u kojem se temeljem načela predostrožnosti zahtijevaju opsežna znanstvena ispitivanja prije komercijalizacije (EU Directive 2001/18/EC; Saeglitz i Bartsch, 2003).

Mikrobiološki insekticidi

Mikrobiološki pesticidi su sredstva za zaštitu bilja koja koriste žive mikroorganizme ili njihove metabolite u svrhu suzbijanja štetnih organizama, uključujući kukce, patogene i korove. Unutar te skupine, mikrobiološki insekticidi predstavljaju specifičnu podkategoriju, a koriste se za suzbijanje štetnih kukaca putem entomopatogenih mikroorganizama (virusa, bakterija, protozoa i gljiva), djelujući selektivno i uz nisku toksičnost za okoliš u usporedbi s konvencionalnim kemijskim insekticidima (Lacey i sur., 2015). Prednosti mikrobioloških insekticida u odnosu na kemijske uključuju odsutnost toksičnih ostataka, selektivnost djelovanja, te ekološku prihvatljivost, čime se smanjuje utjecaj na ne ciljane organizme i okoliš (Cook i Baker, 1983). Mikrobiološki insekticidi ne doprinose emisiji stakleničkih plinova, a njihova proizvodnja in vitro je jednostavna i stabilna (Borges i sur., 2021; Kumar i sur., 2021; Llamas i sur., 2021; Adeleke i sur., 2022). Unatoč tome, istraživanja ukazuju na to da se navedene prednosti ne ostvaruju uvijek u praksi, posebice u nepovoljnim okolišnim uvjetima (Bonaterra i sur., 2012).

Ipak, unatoč njihovim prednostima, mikrobiološki insekticidi i dalje zauzimaju manje od 1 % svjetskog tržišta pesticida (Helgason i sur., 2000). Treba istaknuti da se njihova primjena povećava u kontekstu IPM-a i strategija smanjenja rezistentnosti.

Glavni nedostaci mikrobioloških insekticida proizlaze iz njihove vrlo uske specifičnosti, što često zahtijeva istodobnu primjenu više pripravaka. Dodatni izazovi uključuju nestabilnost i ograničen vijek trajanja, promjenjivu učinkovitost zbog biotskih i abiotskih čimbenika, te stroge regulatorne zahtjeve u mnogim zemljama, koji usporavaju njihovu registraciju i dostupnost na tržištu (Borges i sur., 2021; Adeleke i sur., 2022).

Prema vrsti mikroorganizama, mikrobiološki insekticidi dijele se na četiri osnovne skupine: bakterijski (npr. *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915), virusni (npr. baculovirusi), gljivični (npr. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1912; *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin, 1883) i na one na bazi protozoa, čiji je najpoznatiji predstavnik mikrosporidije iz roda *Nosema* (Copping i Menn, 2000).

Od navedenih skupina, bakterijski insekticidi – osobito oni temeljeni na različitim sojevima *B. thuringiensis* (*B.t.*) – čine većinu globalne prodaje mikrobioloških insekticida. Razlozi njihove dominacije uključuju široku insekticidnu učinkovitost, visok stupanj specifičnosti, mogućnost masovne proizvodnje i relativno jednostavnu primjenu (Glare i sur., 2012).

Poznavanje mehanizama biološke kontrole ključno je za učinkovitu primjenu mikrobioloških pesticida. Neki sojevi djeluju putem jednog dominantnog mehanizma, dok drugi koriste kombinirane puteve djelovanja. Kod bakterija i gljiva, antibioza je čest mehanizam, osobito kod onih koje štite biljke od patogena (Ongena i sur., 2005). Kada je riječ o kukcima, najpoznatiji mehanizam uključuje sintezu toksina, poput Cry-toksina koje proizvodi *B. thuringiensis*. Ti toksini specifično djeluju na probavni sustav osjetljivih ličinki, uzrokujući poremećaje u crijevnom epitelu koji rezultiraju smrću kukaca (Glare i O'Callaghan, 2000).

Insekticidi na osnovi entomopatogenih bakterija

Bakterijski biopesticidi predstavljaju značajnu alternativu konvencionalnim kemijskim pesticidima zahvaljujući svojoj ekološkoj prihvatljivosti, visokoj specifičnosti prema ciljnim štetnim organizmima te niskoj toksičnosti za ljude i životinje. Ovi pripravci temelje se na upotrebi živih bakterija ili njihovih metaboličkih produkata, najčešće endotoksina, koji djeluju insekticidno ili antifungalno. Najpoznatiji i najčešće korišten predstavnik bakterijskih insekticida je *B. thuringiensis* (*B.t.*), gram-pozitivna sporogena bakterija koja tijekom sporulacije proizvodi kristalne (Cry) proteine s toksičnim djelovanjem na kukce (Dobrinčić, 1994; Betz i sur., 2000; Khetan, 2001).

Cry-toksini aktiviraju se u alkalnom okolišu crijeva mlađih razvojnih stadija kukaca, gdje se vežu na specifične receptore epitelnih stanica, uzrokujući osmolitički kolaps i disfunkciju crijevnog trakta, što dovodi do prestanka hranjenja i smrti kukca (Pigott i Ellar, 2007; Palma i sur., 2014). Zbog njihove specifičnosti, ovi toksini ne djeluju na ljude i sisavce, čiji probavni sustav ima kiseli pH i ne sadrži ciljne receptore (USEPA, 2001). Toksikološke studije potvrdile su visoku razinu sigurnosti; primjerice, oralna primjena doze od 5,000 mg/kg nije uzrokovala štetne učinke kod testiranih životinja (Sudakin, 2003).

Iako je sigurnosni profil *B.t.*-a vrlo povoljan, zabilježeni su rijetki slučajevi infekcija kao što su konjunktivitis i kontaminacija rana, osobito kod imunokompromitiranih osoba (Damgaard i sur., 1997). Studije izloženosti kod radnika pokazuju mogućnost detekcije bakterije u stolici te razvoj imunoloških odgovora IgE i IgG, iako bez klinički značajnih simptoma (Bernstein i sur., 1999; Jensen i sur., 2002). Posebnu pozornost zahtijevaju sojevi *B.t.*-a koji proizvode **β**-eksotoksin, toksičnu tvar koja inhibira RNA polimerazu i pokazuje toksičnost za sisavce, zbog čega regulatorne agencije zahtijevaju eliminaciju takvih sojeva iz komercijalne upotrebe (**Š**ebesta i Horska, 1970).

Unutar vrste *B.t.* najčešće korištene podvrste su: *B. t. kurstaki* i *B. t. aizawai* (u suzbijanju gusjenica leptira), *B. t. israelensis* (protiv ličinki komaraca, domaćih muha i mušica štetnih u uzgoju šampinjona), *B. t. tenebrionis* (protiv krumpirove zlatice) te *B. t. japonensis* soj *Buibui* (protiv kor-

njaša u tlu) (Carlton, 1993; Copping i Menn, 2000; Goldberg i Margalit, 1977; Bravo i sur., 2007).

Ovisno o tipu toksina kojeg stvara razlikujemo 34 subspeciesa bakterije vrste *B.t.,* koji su različito patogeni za pojedine štetne kukce i ne mogu se jednako primjenjivati u zaštiti bilja (Dobrinčič, 1994).

Osim *B.t.*-a, koriste se i druge bakterije s bioprotektivnim svojstvima, kao što su *Agrobacterium radiobacter (Beijerinck i van Delden) Conn, 1942*; *Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn, 1872*; *Pseudomonas chlororaphis (Guignard) Bergey, 1925*; *Pseudomonas syringae van Hall, 1902* i *Streptomyces griseoviridis Kummer, 1959*. Njihov mehanizam djelovanja uključuje kompetitivnu inhibiciju fitopatogena, proizvodnju antimikrobnih metabolita i prevenciju pojave mraza na biljkama (Sudakin, 2003).

Toksini slični Cry proteinima *B.t.*-a otkriveni su i u drugim rodovima, poput *Paenibacillus* i *Brevibacillus*. Vrsta *Brevibacillus laterosporus (Laubach, 1916)* proizvodi toksine i sekundarne metabolite širokog spektra djelovanja te pokazuje insekticidnu aktivnost prema raznim skupinama štetnika (Ruiu, 2013; Marche i sur., 2017, 2018). Ova bakterija ima karakterističan laterosporni oblik (sporu stvara uz rub stanice, što joj daje prepoznatljiv izgled) i koristi se u integriranim programima suzbijanja štetnika (Ruiu i sur., 2011, 2014).

Tablica 1. prikazuje pregled komercijalnih pripravaka registriranih u Hrvatskoj koji sadržavaju sojeve *B. thuringiensis* var. *kurstaki.* (*B.t.k.*) Prikazani su podaci o aktivnoj tvari, formulaciji, mehanizmu djelovanja, ciljanim organizmima i sigurnosnom profilu svakog pripravka. Ovi proizvodi primjenjuju se u voćarskoj, povrtlarskoj i šumskoj proizvodnji te imaju značajnu ulogu u smanjenju uporabe konvencionalnih insekticida.

Tablica 1. Pregled insekticida registriranih u RH na osnovi *B. thurigensis* var. *kurstaki.*/**Table 1.** Overview of insecticides registered in the Republic of Croatia based on *B. thurigensis var. kurstaki*

Naziv pripravka	Aktivna tvar	Formulacija	Mehanizam djelovanja	Ciljani organizmi	Sigurnosni profil
BIOBIT	*B. thuringiensis var. kurstaki*	WP	Nakon gutanja, Cry protein uzrokuje poremećaj crijevne funkcije i smrt jedinki unutar 3 do 7 dana.	Mladi stadiji gusjenica (maslinov moljac, dudovac, kupusni bijelac)	Niska toksičnost za ljude i pčele
FORAY 48B	*B. thuringiensis subsp. kurstaki – ABTS351*	SC	Gutanje endotoksina izaziva prekid hranjenja, smrt za 1 do 5 dana.	Gusjenice u šumama i rasadnicima	Umjerena iritacija
DIPEL DF	*B. thuringiensis subsp. kurstaki – ABTS351*	DF	Cry proteini formiraju pore u crijevnom epitelu, smrt u 1 do 3 dana.	Gusjenice na usjevima i ukrasnom bilju	Vrlo niska toksičnost, moguća blaga iritacija
LEPINOX Plus	*B. thuringiensis var. kurstaki (stam MBK 1520)*	WP	Nakon gutanja, endotoksini (Cry proteini) djeluju na crijevni epitel jedinki, uzrokujući paralizu i smrt u 2 do 5 dana.	Gusjenice leptira (npr. kupusni bijelac, sovice, moljci)	Niska toksičnost za pčele i korisne kukce, sigurno za ljude

Izvor/Source: FIS (2025).

Odabrani pripravci, poput BIOBIT® i FORAY®-48B, među najčešće su korištenim biološkim insekticidima u Hrvatskoj. Njihova aktivna tvar, bakterija *B.t.k*, proizvodi Cry-toksine koji specifično djeluju na probavni sustav ličinki leptira iz reda Lepidoptera, uzrokujući poremećaj u funkciji crijeva i smrt štetnika u roku od nekoliko dana (Glare i O'Callaghan, 2000). Zbog visoke selektivnosti, *B.t.k* pripravci imaju minimalan negativan utjecaj na neciljane organizme, uključujući korisne člankonošce, pčele i ljude (Lacey i sur., 2015).

Njihova široka dostupnost na tržištu, dugogodišnja primjena i povoljna sigurnosna svojstva doprinose njihovoj sve većoj uporabi u programima IPM (EFSA, 2016; Kumar i sur., 2021). Posebno su korisni u ekološkoj proizvodnji te kod suzbijanja štetnika kod kojih je zabilježena rezistentnost na kemijske insekticide (Adeleke i sur., 2022). Njihova učinkovitost i niska toksičnost omogućuju sigurno korištenje čak i tijekom vegetacije, bez štetnih posljedica za okoliš i zdravlje ljudi.

Bakterijski insekticidi, zahvaljujući svojoj selektivnosti, učinkovitosti i sigurnosti, imaju ključnu ulogu u strategijama IPM-a te pridonose smanjenju ovisnosti o konvencionalnim pesticidima.

Insekticidi na osnovi entomopatogenih gljiva

Biopesticidi na osnovi gljiva, osobito oni temeljeni na entomopatogenim gljivama, čine važnu skupinu mikrobioloških sredstava za biološku kontrolu štetnih organizama životinjskog porijekla.

Entomopatogene gljive su prirodni mikroorganizmi koji parazitiraju kukce, uzrokujući njihovu smrt, a njihova se primjena u zaštiti bilja temelji upravo na toj sposobnosti. Među najpoznatijim vrstama ističe se *M. anisopliae*, koja se koristi za suzbijanje skakavaca, termita i drugih štetnih kukaca, a u SAD-u je registriran specifični soj ESC1 za kontrolu termita (Sudakin, 2003).

Istraživanja pokazuju da *M. anisopliae* ne može rasti na temperaturama tijela sisavaca, čime se znatno smanjuje rizik od infekcija kod ljudi. Toksikološka ispitivanja na životinjskim modelima ukazala su na mogućnost senzibilizacije i pojave imunoloških reakcija kod intraperitonealne (trbušne šupljine) i respiratorne izloženosti. Nisu zabilježene alergijske reakcije pri primjeni u poljoprivredi (Ward i sur. , 1998; Ward i sur., 2000; Sudakin, 2003).

Entomopatogene gljive imaju širok raspon domaćina i pogodne su za masovnu proizvodnju (Pathak i Kumar, 2016). Njihova biološka uloga varira – od obligatnih parazita, koji ne mogu preživjeti bez domaćina, do fakultativnih koji preživljavaju saprofitski u okolišu (Vega i sur., 2009).

Mehanizam djelovanja entomopatogenih gljiva započinje infekcijom. Ona kod domaćina započinje kontaktom spora s kutikulom kukca, gdje one kliju i prodiru kroz integument kombiniranim mehaničkim i enzimskim djelovanjem (Pekrul i Grula, 1979). Micelij se potom razvija unutar tijela kukca, uz proizvodnju toksina koji uzrokuju smrt. Optimalni okolišni uvjeti za infekciju uključuju temperature između 20 do 30 °C i relativnu vlažnost zraka iznad 90 % (Fargues i sur., 1997; Inglis i sur., 2001). Autori navode da UV zračenje i nepovoljni pH kutikule mogu smanjiti virulentnost (Fernandes i sur., 2007; Butt i sur., 2001).

Prednosti insekticida na osnovi entomopatogenih gljiva uključuju selektivnost prema ciljanim vrstama, prirodnu prisutnost u ekosustavu te manji rizik od razvoja rezistentnosti u odnosu na kemijske insekticide. Primjenjuju se u IPM-u i ekološkoj poljoprivredi (Goettel i sur., 2005). Međutim, njihova učinkovitost ovisi o okolišnim uvjetima, što može ograničiti njihovu primjenu u određenim agroekološkim uvjetima. Entomopatogene gljive zbog visoke specifičnosti i niskog rizika za neciljne organizme smatraju se sigurnima za okoliš i korisne organizme, uključujući ljude i životinje. Ipak, dugoročni učinci na ekosustav i interakcije u tlu još nisu u potpunosti istraženi (Zimmermann, 2007).

U Republici Hrvatskoj trenutno nije registrirano nijedno sredstvo za zaštitu bilja na bazi entomopatogenih gljiva, što potvrđuju podaci Fitosanitarnog informacijskog sustava (FIS,

2025). Unatoč izostanku službene primjene, brojna istraživanja ukazuju na prirodnu prisutnost i biološki potencijal entomopatogenih gljiva kao što su *B. bassiana* i *M. anisopliae* u hrvatskim agro-ekosustavima (Pernek i sur., 2007; Glavaš i sur., 2021). Ti mikroorganizmi pokazali su učinkovitost i protiv značajnih poljoprivrednih štetnika poput *Spodoptera litura* Fabricius, 1775*, Cydia pomonella* Linnaeus, 1758 i potkornjaka (fam. Scolytridae), pri čemu ostvaruju patogeni učinak putem spora koje inficiraju kukce kroz hitinsku kutikulu (Zimmermann, 2007).

Njihove prednosti uključuju visoku selektivnost, sigurnost za ne ciljane organizme i okoliš, kao i potencijal za smanjenje ostataka pesticida u hrani. Ipak, učinkovitost entomopatogenih gljiva može varirati ovisno o okolišnim uvjetima poput temperature, vlažnosti i UV zračenja (Francisco i sur., 2008; Vega i sur., 2012).

S obzirom na dosadašnje spoznaje, preporučuje se nastavak i proširenje znanstvenih istraživanja usmjerenih na izolaciju, identifikaciju i testiranje učinkovitosti domaćih sojeva entomopatogenih gljiva u laboratorijskim i terenskim uvjetima. Rezultati takvih istraživanja mogli bi poslužiti kao temelj za razvoj i komercijalizaciju bioloških pripravaka koji bi se integrirali u postojeće sustave IPM-a.

Važno je potaknuti regulatorne procese u suradnji s nadležnim institucijama i proizvođačima, čime bi se otvorio put za registraciju pripravaka na bazi ovih mikroorganizama. Također, preporučuje se razvoj pilot-projekata koji bi omogućili procjenu učinkovitosti i sigurnosti ovakvih pripravaka u praksi. Time bi se ostvario značajan korak prema održivoj poljoprivredi s manjim osloncem na kemijske insekticide, što je u skladu s ciljevima Zelenog plana Europske unije i strategije "Od polja do stola".

Insekticidi na osnovi entomopatogenih virusa

Biopesticidi na osnovi virusa, posebice entomopatogeni virusi, sve se više koriste kao učinkovita i ekološki prihvatljiva sredstva za suzbijanje štetnih kukaca u poljoprivredi. Njihova najveća prednost proizlazi iz izuzetne specifičnosti prema ciljanim domaćinima, pri čemu ne štete korisnim organizmima poput oprašivača ili parazitoida, što ih čini idealnim za održivu poljoprivredu (Jukes i van der Merwe, 2020).

Mehanizam djelovanja entomopatogenih virusa, posebno članova porodice Baculoviridae, uključuje oralni unos virusnih čestica tijekom hranjenja mlađih razvojnih stadija kukaca. Nakon ulaska u probavni trakt, virusna DNA se oslobađa i započinje replikacija unutar stanica, osobito epitela crijeva. Infekcija se širi sistemično, uzrokujući letargiju, blijedu boju tijela i karakteristična ponašanja poput penjanja mlađih razvojnih oblika kukaca prema višim dijelovima biljke – što olakšava širenje virusa. Na kraju infekcijskog ciklusa, stanice domaćina se raspadaju, oslobađajući milijune novih virusnih čestica koje kontaminiraju okolinu i omogućuju infekciju sljedećih domaćina (Jukes i van der Merwe, 2020).

Primjeri virusa koji su razvijeni u komercijalne biopesticide uključuju *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus-SA (CrleGV-SA), koji se koristi za suzbijanje lažne jabučne pipe (*Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick, 1913)) na agrumima u Južnoj Africi. Nakon izolacije i karakterizacije virusa, razvijena je formulacija u obliku tekućeg spreja koji se lako primjenjuje u polju pomoću standardne opreme. U praksi, CrleGV-SA se koristi već gotovo dva desetljeća s velikim uspjehom, iako izazovi poput sporog djelovanja, osjetljivosti na UV zračenje te razvoja otpornosti kod domaćina i dalje predstavljaju ograničenja (Jukes i van der Merwe, 2020).

Slični nedostaci uočeni su i od Sudakina (2003), koji napominje da insekticidi na osnovi entomopatogenih virusa mogu imati ograničenja u smislu brzine djelovanja i stabilnosti u okolišu. Njihova specifičnost i sigurnosni profil za ljude i okoliš predstavljaju ključne prednosti.

Jedan od najučinkovitijih bioloških insekticida virusnog podrijetla je *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV; porodica Baculoviridae, rod Betabaculovirus), koji se koristi za ciljno suzbijanje jabučne savijače (*C. pomonella*), jednog od najvažnijih štetnika u nasadima jabuka, krušaka i oraha (Lacey i sur., 2008). Virus se primjenjuje u obliku komercijalnih pripravaka folijarno, a infekcija započinje kada ličinke usvoje virusne čestice s površine biljnog materijala. Virus se oslobađa u crijevima, replicira u epitelnim stanicama i sustavno se širi kroz tijelo, uzrokujući smrt unutar nekoliko dana (Moscardi, 1999).

Virus specifično cilja mlađe razvojne stadije štetnika, bez štetnog djelovanja na korisne organizme kao što su oprašivači, parazitoidi i predatori, zbog čega se CpGV uspješno koristi u integriranoj i ekološkoj zaštiti bilja (Lacey i Shapiro-Ilan, 2008). Dodatna prednost je niska toksičnost za ljude i okoliš, mogućnost višekratne primjene tijekom vegetacije i postojanje sojeva virusa prilagođenih rezistentnim populacijama štetnika (Berling i sur., 2009; Zimmermann i sur., 2015). Registrirani pripravci u RH koji sadrže CpGV prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Pregled insekticida registriranih u RH na osnovi *Cydia pomonella granulovirus.*/ **Table 2.** Overview of insecticides registered in the Republic of Croatia based on *Cydia pomonella granulovirus.*

Naziv pripravka	Aktivna tvar	Formulacija	Mehanizam djelovanja	Ciljani organizmi	Sigurnosni profil
MADEX / CARPOVIRUSINE EVO 2	*Cydia pomonella granulovirus*	SC	Virus ulazi u mlađe razvojne stadije, replicira se i uzrokuje smrt u 2 do 4 dana; zaražene jedinke šire virus.	Jabučni savijač i drugi moljci	Visoka selektivnost, netoksično za ljude

Izvor/Source: FIS (2025).

Tablica 2. prikazuje insekticide registrirane u RH na osnovi *Cydia pomonella granulovirusa* (CpGV), s naglaskom na njihovu formulaciju, mehanizam djelovanja, ciljne organizme te sigurnosni profil. Prikazani pripravci, poput MADEX-a i CARPOVIRUSINE EVO 2, djeluju specifično na razvojne stadije štetnika, ponajprije *C. pommonela*, uz minimalan rizik za ljude i neciljane organizme. Visoka selektivnost i netoksičnost čine ove biološke pripravke izuzetno pogodnima za primjenu u IPM-u, posebno u voćarskoj proizvodnji (FIS, 2025). Ova tablica dodatno potvrđuje važnost insekticida na osnovi entomopatogenih virusa kao održive alternative kemijskim sredstvima.

Osim CpGV-a, slični virusni pripravci razvijeni su i za suzbijanje drugih štetnika, poput *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick, 1913) u agrumima (CrleGV-SA), no izazovi u stabilnosti virusa u okolišu i pojava otpornosti u populacijama ostaju važni čimbenici u planiranju njihove primjene (Jukes i van der Merwe, 2020; Sudakin, 2003).

Učinkovitost ineskticida na osnovi entomopatogenih virusa može dodatno poboljšati kroz sinergiju s drugim biološkim agensima/pripravcima. Na primjer, pokazalo se da kombinacija virusa s određenim kvascima privlači ciljane kukce na tretirano voće, povećavajući unos virusa i posljedičnu smrtnost ličinki (Jukes i van der Merwe, 2020). Ovakva integracija može otvoriti put prema naprednim formulacijama biopesticida s višestrukim mehanizmima djelovanja, koji ne samo da povećavaju učinkovitost, već i pridonose prevenciji rezistentnosti.

Nedavna otkrića novih virusnih sojeva, poput Cryptophlebia peltastica nucleopolyhedrovirus (CrpeNPV), otvaraju mogućnosti razvoja **širokospektralnih**, ali i dalje selektivnih virusnih insekticida. Ovaj soj, osim mlađih stadija moljca, pokazuje virulentnost i prema drugim štetnicima, poput jabučne pipe (*Anthonomus pomorum* (Linnaeus, 1758)) i lažne jabučne pipe (*Anthonomus rectirostris* (Linnaeus, 1758)). Posebno je važno njihovo potencijalno korištenje u strategijama upravljanja rezistentnošću. U Europi, je ovo osobito važno jer su populacije nekih štetnika razvile otpornost na već korištene viruse poput CpGV (Jukes i van der Merwe, 2020).

Izazovi poput stabilnosti, brzine djelovanja i regulatornih prepreka ostaju, insekticidi na osnovi entomopatogenih virusa predstavljaju izuzetno perspektivnu komponentu integriranog upravljanja štetnicima u poljoprivredi budućnosti.

Insekticidi na osnovi entomopatogenih protozoa

Biopesticidi na osnovi protozoa, osobito mikrosporidijske protozoe (*Nosema*), iako rjeđe korišteni u komercijalnoj primjeni, pokazuju značajan potencijal u biološkom suzbijanju štetnih kukaca (Solter i Becnel, 2012; Sabbahi i sur., 2022).

Jedan od najpoznatijih predstavnika mikrobioloških sredstava za suzbijanje štetnika je *Nosema locustae* Canning, 1953, mikrosporidijska protozoa koja parazitira skakavce i druge pravokrilce, smanjujući njihovu brojnost na prirodan način (Sudakin, 2003; Solter i Becnel, 2012). Nakon što kukac unese spore hranom, one kliju u njegovim crijevima i ubrizgavaju infektivni materijal u stanice stijenke crijeva. Tamo se dalje razmnožavaju i šire po cijelom tijelu, što kod zaraženih jedinki uzrokuje slabost, smanjen apetit i plodnost (Sabbahi i sur., 2022; Solter i Becnel, 2012). Zaraženi kukci postaju letargični i slabije se hrane, što s vremenom dovodi do postupnog smanjenja njihove populacije (Lockwood i Debrey, 1990).

Komercijalna primjena *N. locustae* započela je 1970-ih godina u SAD, gdje je pripravak registriran za suzbijanje pravokrilaca u travnatim agroekosustavima. Njegova uporaba temelji se na dugotrajnoj učinkovitosti, sposobnosti vertikalnog i horizontalnog prijenosa unutar populacije domaćina te niskom riziku za kralježnjake. (Henry, 1978; Sudakin, 2003; Solter i Becnel, 2012). Od 1980-ih, ovaj je biološki insekticid komercijalno dostupan, iako je njegova učinkovitost spora i uvjetovana okolišnim čimbenicima poput temperature i vlage (Solter i Becnel, 2012; Sabbahi i sur., 2022).

Prednosti uključuju stabilnost u okolišu, prijenos kroz populaciju domaćina i selektivnost, ali izazovi leže u proizvodnji, formuliranju i usklađivanju s regulatornim standardima.

Prema Solteru i Becnelu (2012), mikrosporidije poput *N. locustae* imaju velik potencijal za biološko suzbijanje kukaca jer mogu dugo ostati prisutne u populaciji domaćina i postupno smanjivati brojnost štetnika, osobito utječući na njihovu plodnost. Sabbahi i sur. (2022) također naglašavaju da ove infekcije djeluju sporo, ali dugotrajno, te smanjuju populaciju štetnika kroz vrijeme, pritom imajući vrlo mali utjecaj na neciljane organizme.

Iako insekticidi na osnovi entomopatogenih protozoa, nisu široko komercijalno zastupljeni zbog složenosti njihova razvoja i relativno sporog djelovanja, mogu imati posebnu primjenu u IPM-u i ekološkoj poljoprivredi.

Zahvaljujući sposobnosti trajnog prijenosa unutar populacije štetnika i niskom toksikološkom profilu, mikrosporidije predstavljaju vrijednu dopunu postojećim pesticidnim strategijama u okviru okolišno prihvatljive primjene sredstava za zaštitu bilja u agroekosustavima (Sudakin, 2003; Solter i Becnel, 2012).

U RH trenutno nema registriranih pripravaka (insekticida) na bazi entomopatogenih protozoa, iako oni predstavljaju značajan potencijal u biološkoj kontroli štetnika. Entomopato-

gene protozoe, poput vrsta iz rodova *Nosema, Malameba i Mattesia,* poznate su po svojoj sposobnosti da inficiraju i smanjuju populacije različitih kukaca štetnika (Lacey i sur., 2015). Međutim, njihova upotreba u komercijalnim pripravcima je globalno ograničena zbog izazova u masovnoj proizvodnji, stabilnosti pripravaka i sporog djelovanja (Tanada i Kaya, 1993).

Registracija bioloških insekticida

Registracija bioloških insekticida suočava se s nizom zakonodavnih, tehničkih i ekonomskih izazova koji ograničavaju njihov izlazak na tržište, unatoč rastućoj globalnoj potražnji za održivim rješenjima u zaštiti bilja.

Biopesticidi trenutačno čine mali, ali rastući udio u globalnom tržištu pesticida. Očekuje se da će njihova vrijednost porasti s 6,54 milijarde USD u 2022. na 14,39 milijardi USD do 2030. godine, no i dalje zauzimaju tek oko 2,5 % ukupnog tržišta, primarno zbog regulatornih prepreka, visokih troškova i kompleksne procjene rizika (Fusar Poli, 2024).

U Europskoj uniji, regulatorni okvir temeljen na Uredbi (EZ) br. 1107/2009 uspostavlja iste zahtjeve za registraciju bioloških i kemijskih sredstava, što značajno usporava proces evaluacije. Prosječno trajanje odobravanja u EU kreće se između šest i deset godina, dok u drugim zemljama, poput SAD-a, Brazila i Japana postupak traje svega dvije do tri godine (Euractiv, 2025).

Kao odgovor na ove izazove, Europska komisija donijela je 2022. nove propise koji pojednostavljuju evaluaciju dokumentacije u registraciji biopesticida, uzimajući u obzir njihova biološka svojstva i predviđajući bržu registraciju niskorizičnih tvari (European Commission, 2022). Međutim, implementacija tih promjena je spora, a politički otpori, poput izostanka dogovora o Uredbi o održivoj uporabi pesticida (Sustainable Use Regulation - SUR), dodatno usporavaju napredak (Euronews, 2025).

Strategija "Od polja do stola" (Farm to Fork – F2F), dio Europskog zelenog plana, izričito zagovara smanjenje uporabe i rizik od primjene sintetskih pesticida za 50 % do 2030. godine te promiče biološke alternative u sklopu IPM-a (CropLife Europe, 2024). Strategija F2F također predviđa ubrzanje autorizacije bioloških pripravaka i jačanje znanstvene evaluacije uz financijsku podršku kroz programe Horizon Europe i EFSA-ine inicijative (EFSA, 2025). Ipak, podaci pokazuju da su inovativne tvrtke još uvijek sklonije registrirati biopesticide izvan EU-a, zbog brže procedure i boljeg povrata ulaganja, prosječno 30 % većeg nego unutar EU-a (CropLife Europe, 2024).

U RH, registracija bioloških insekticida regulirana je prema EU zakonodavstvu, a nadležna tijela poput Ministarstva poljoprivrede i ribarstva i Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH) i Instituta za medicinska istraživanja (IMI) provode postupke registracije. Ipak, tržište ovih pripravaka smatra se još uvijek nerazvijeno: broj registriranih bioloških pripravaka je ograničen, domaća proizvodnja slaba, a edukacija korisnika nedovoljna (Vlada RH, 2023). Dodatno, znanstvene i stručne institucije u Hrvatskoj imaju potencijal, ali im nedostaje sistemska potpora i financiranje za aktivno uključivanje u razvoj i registraciju ovakvih pripravaka.

Unatoč postojećim preprekama, perspektive za razvoj bioloških insekticida u EU i Hrvatskoj su značajne. Poticanje IPM-a, financijska sredstva iz EU fondova, nova regulativa koja favorizira mikroorganizme kao aktivne tvari, te rast potražnje za ekološkim proizvodima predstavljaju snažne osnove za budući razvoj (Fusar Poli, 2024; EFSA, 2025). Ubrzanje procedura registracije, izgradnja lokalne infrastrukture i jačanje edukacije proizvođača i korisnika bit će ključni za ostvarenje ciljeva F2F strategije i stvarno smanjenje ovisnosti o kemijskim pesticidima.

Zaključak

Biološki insekticidi predstavljaju važnu komponentu IPM-a, zahvaljujući selektivnosti, biorazgradivosti i niskoj toksičnosti za neciljane organizme. Unatoč ekološkim prednostima, njihova primjena ostaje ograničena zbog regulatornih barijera, osjetljivosti u proizvodnji i nakon primjene na okolišne uvjete te niske educiranosti i znanje korisnika.

Za širu upotrebu potrebno je ubrzati registracijske postupke, poticati razvoj lokalne proizvodnje i osnažiti primijenjena istraživanja u stvarnim agroekološkim uvjetima.

U kontekstu EU strategije „Od polja do stola", biološki insekticidi imaju potencijal postati ključni alat u održivoj poljoprivredi, pod uvjetom bolje institucionalne podrške i transfera znanja u praksu.

Literatura

Adeleke, B. S., Ayilara, M. S., Akinola, S. A., Babalola, O. O. (2022) *Biocontrol mechanisms of endophytic fungi. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 32(46). https://doi.org/10.1186/s41938-022-00547-1*

Berling, M., Blachère-López, C., Soubabère, O., Léry, X., Bonhomme, A., Sauphanor, B., López-Ferber, M. (2009) *Cydia pomonella granulovirus genotypes overcome virus resistance in the codling moth and improve virus efficiency by selection against resistant hosts. Applied and Environmental Microbiology, 75, 925–930. https://doi.org/10.1128/AEM.01998-08*

Bernstein, I. L., Bernstein, J. A., Miller, M., Tierzieva, S., Bernstein, D. I., Lummus, Z., Seligy, V. L. (1999) *Immune responses in farm workers after exposure to Bacillus thuringiensis pesticides. Environmental Health Perspectives, 107(7), 575-582. https://doi.org/10.1289/ehp.99107575*

Betz, F. S., Hammond, B. G., Fuchs, R. L. (2000) *Safety and advantages of Bacillus thuringiensis-protected plants to control insect pests. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 32(2), 156–173. https://doi.org/10.1006/rtph.2000.1426*

Boldorini, G. X., Mccary, M. A., Romero, G. Q., Mills, K. L., Sanders, N. J., Reich, P. B., Gonçalves-Souza, T. (2024) *Predators control pests and increase yield across crop types and climates: a meta-analysis. Proceedings of the Royal Society B, 291: 20232522. https://doi.org/10.1098/rspb.2023.2522*

Bonaterra, A., Badosa, E., Cabrefiga, J., Francés, J., Montesinos, E. (2012) *Prospects and limitations of microbial pesticides for control of bacterial and fungal pomefruit tree diseases. Trees, 26, 215-226. https://doi.org/10.1007/s00468-011-0626-y*

Borges, S., Alkassab, A. T., Collison, E., Hinarejos, S., Jones, B., McVey, E., Wassenberg, J. (2021) *Overview of the testing and assessment of effects of microbial pesticides on bees: strengths, challenges and perspectives. Apidologie 52, 1-22. https://doi.org/10.1007/s13592-021-00900-7*

Bravo, A., Gill, S. S., Soberón, M. (2007) *Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon, 49(4), 423-435. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022*

Butt, T. M., Jackson, C., Magan, N. (2001) *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CABI Publishing. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.07351.x*

Carlton, B. C., (1993) *Genetics of Bt insecticidal crystal proteins and strategies for the construction of improved strains. Duke, S.O., Menn, J.J. and Plimmer, J.R: Pest control with enhanced environmental safety. ACS symposium series 524, 326-337. Washington: American Chemical Society,*

Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., Grant, W. P. (2011) *The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 366(1573), 1987–1998. https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390*

Cook, R. J., Baker, K. F. (1983) *The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul: American Phytopathological Society.*

Copping, L. G., Menn, J. J. (2000) *Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. Pest Management Science, 56(8), 651-676. https://doi.org/10.1002/1526-4998(200008)56:8%3C651::AID-PS201%3E3.0.CO;2-U*

Covance (2021) *Covance releases report on regulatory revolution in biopesticides. Agropages. https://news.agropages.com/News/NewsDetail---37599.htm (21.06.2025.)*

CropLife Europe (2024) *Let's unlock the potential of biopesticides. https://croplifeeurope.eu/lets-unlock-the-potential-of-biopesticides (21.06.2025.)*

Damgaard, P. H., Granum, P. E., Bresciani, J., Torregrossa, M. V., Eilenberg, J., Valentino, L. (1997) *Characterization of Bacillus thuringiensis isolated from infections in burn wounds. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 18(1), 47–53. https://doi.org/10.1016/S0928-8244(97)00021-7*

Dobrinčić, R., (1994) *Razvoj i primjena mikrobioloških insekticida. Fragmenta phytomedica et herbologica, 22(1-2), 29-53.*

EFSA (European Food Safety Authority)(2016) *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki strain ABTS-351. EFSA Journal, 14(6).. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6879*

EFSA (European Food Safety Authority)(2025) *Sustainable, bio-based alternatives for crop protection. https://www.efsa.europa.eu/en/funding-calls/sustainable-bio-based-alternatives-crop-protection (01.07.2025.)*

EPA (Environmental Protection Agency)(2023) *Biopesticide active ingredients. U.S. Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/biopesticide-active-ingredients (01.07.2025.)*

Euronews, (2025) *EU moves to fast-track biopesticide access, cutting approval times. https://www.euronews.com/my-europe/2025/02/21/eu-moves-to-fast-track-biopesticide-access-cutting-approval-times (05.07.2025.)*

European Commission (2020) *A Farm to Fork Strategy for a fair, healthy and environmentally-friendly food system. https://food.ec.europa.eu/system/files/2020-05/f2f_action-plan_2020_strategy-info_en.pdf (05.07.2025.)*

European Commission (2022) *EU Commission adopts new rules to facilitate the approval of biological pesticides. https://food.ec.europa.eu/food-safety-news-0/eu-commission-adopts-new-rules-facilitate-approval-biological-pesticides-2022-08-31_en (10.07.2025.)*

European Parliament & Council of the European Union (2009) *Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. Official Journal of the European Union, L 309, 1–50. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1107 (10.07.2025.)*

Europska komisija (2020) *A Farm to Fork Strategy for a fair, healthy and environmentally-friendly food system. Bruxelles: Europska komisija.https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A52020DC0381 (13.07.2025.)*

Europska komisija (2025) *Pesticide use in agriculture: Fitoinformacijski sustav. Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske. https://poljoprivreda.gov.hr/pesticidi-39/fitoinformacijski-sustav/3559 (05.07.2025.)*

Fargues, J., Goettel, M.S., Smits, N., Ouedraogo, A., Rougier, M. (1997) *Effect of temperature on vegetative growth of Beauveria bassiana isolates from different origins. Mycologia, 89(3), 383–392. https://doi.org/10.2307/3761081*

Fernandes, E. K. K., Rangel, D. E. N., Moraes, A. M. L., Bittencourt, V. R. E. P., Roberts, D. W. (2007) *Variability in tolerance to UV-B radiation among Beauveria spp. isolates. Journal of Invertebrate Pathology, 96(3), 237–243. https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.05.007*

Fitosanitarni informacijski sustav (FIS) (2025) *Baza registriranih sredstava za zaštitu bilja. Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske. https://fis.mps.hr/trazilicaszb/. (25.07.2025.)*

Francisco, E. A., Neves, P. M., Alves, L. F. (2008) *UV tolerance of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae isolates from Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 39(3), 399–406. https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000300016*

Fusar Poli, E., (2024) *Trends in the implementation of biopesticides in the Euro Mediterranean region: a narrative literary review. Sustainable Earth Reviews, 7(14). https://doi.org/10.1186/s42055-024-00085-8*

Goettel, M. S., Eilenberg, J., Glare, T. R. (2005) *Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations. Comprehensive Molecular Insect Science 6. 361-406. https://doi.org/10.1016/B0-44-451924-6/00088-0*

Glare, T. R., O'Callaghan, M. (2000) *Bacillus thuringiensis: Biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley & Sons*

Glare, T. R., Caradus, J. R., Gelernter, W. D., Jackson, T. A., Keyhani, N. O., Köhl, J., Stewart, A. (2012) *Have biopesticides come of age? Trends in Biotechnology, 30(5), 250–258. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003*

Glavaš, M., Kovač, M., Franjević, D. (2021) *First report of entomopathogenic fungi in Croatian forest soils. Forests, 12(12), p.1690. https://doi.org/10.3390/f12121690*

Goldberg, L. J., Margalit, J. (1977) *A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univitattus, Aedes aegypti and Culex pipiens. Mosquito News, 37(3), 355-358.*

Gupta, S., Dikshit, A.K. (2010) *Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. Journal of Biopesticides, 3(1), 186-188.*

Helgason, E., Økstad, O. A., Caugant, D. A., Johansen, H. A., Fouet, A., Mock, M., Kolstø, A. B. (2000) *Bacillus anthracis, Bacillus cereus, and Bacillus thuringiensis—one species on the basis of genetic evidence. Applied and Environmental Microbiology, 66(6), 2627–2630. https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2627-2630.2000*

Henry, J. E. (1978) *Microbial control of grasshoppers with Nosema locustae. U: L.A. Lobl i J.E. Henry Selected topics on the genus Nosema (Microsporida). Washington: Department of Agriculture*

Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M., Strasser, H. (2001) *Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: T.M. Butt, C. Jackson & N. Magan, eds. Fungi as Biocontrol Agents. CABI Publishing, 23–69. https://doi.org/10.1079/9780851993560.0023*

Jensen, G. B., Larsen, P., Jacobsen, B. L., Olsen, P. S. (2002) *Bacillus thuringiensis in fecal samples from greenhouse workers after exposure to B. thuringiensis-based pesticides. Applied and Environmental Microbiology, 68(10), 4900–4905. https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4900-4905.2002*

Jukes, M., van der Merwe, M. (2020). Viruses as biopesticides. Quest: Science for South Africa, 16(1), 14–15. https://hdl.handle.net/10520/EJC-1e25f4dc20

Khetan, S. K. (2001) *Microbial Pest Control. New York: CRC Press.*

Kumar, J., Ramlal, A., Mallick, D., Mishra, V. (2021) *An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. Plants, 10(6), 1185. https://doi.org/10.3390/plants10061185*

*L**acey, L. A., Shapiro-Ilan, D. I. (2008)*** *Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: potential for incorporation into IPM. Annual Review of Entomology, 53, 121–144. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091026*

Lacey, L. A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frutos, R., Brownbridge, M., Goettel, M. S. (2015) *Insect pathogens as biological control agents: back to the future. Journal of Invertebrate Pathology, 132, 1–41. https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009*

Llamas, B., Suárez-Rodríguez, M.C., González-López, C.V., Mora, P., Acién, F.G. (2021) *Techno-economic analysis of microalgae related processes for CO2 bio-fixation. Algal Research, 57, 102339. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102339*

Lockwood, J. A., Debrey, L. D. (1990) *Direct and indirect effects of a large scale application of Nosema locustae (Microsporida: Nosematidae) on rangeland grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). Journal of Economic Entomology, 83(2), 377–383. https://doi.org/10.1093/jee/83.2.377*

Marche, M. G., Camiolo, S., Porceddu, A., Ruiu, L. (2018) *Survey of Brevibacillus laterosporus insecticidal protein genes and virulence factors. Journal of Invertebrate Pathology, 155, 38–43. https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.05.002*

Marche, M. G., Mura, M. E., Falchi, G., Ruiu, L. (2017) *Spore surface proteins of Brevibacillus laterosporus are involved in insect pathogenesis. Scientific Reports, 7(1), 43805. https://doi.org/10.1038/srep43805 Moscardi, F. (1999) Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. Annual Review of Entomology, 44, 257–289. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.257*

Ongena, M., Jacques, P., Touré, Y., Destain, J., Jabrane, A., Thonart, P. (2005) *Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of Bacillus subtilis. Applied Microbiology and Biotechnology, 69, 29–38. https://doi.org/10.1007/s00253-005-1940-3*

Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., Caballero, P. (2014) *Bacillus thuringiensis toxins: an overview of their biocidal activity. Toxins, 6(12), 3296–3325. https://doi.org/10.3390/toxins6123296*

Pathak, D. V., Kumar, M. (2016) *Microbial inoculants as biofertilizers and biopesticides. In: Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity: Vol. 1: Research Perspectives, 197–209. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_11*

Pekrul, S., Grula, E. A. (1979) *Mode of infection of the corn earworm (Heliothis zea) by Beauveria bassiana as revealed by scanning electron microscopy. Journal of Invertebrate Pathology, 34(3), 238–247. https://doi.org/10.1016/0022-2011(79)90069-7*

Pernek, M., Hrašovec, B., Diminić, D., Lukić, I. (2007) *Influence of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana on mortality of fir bark beetles (Pityokteines spp.). Radovi – Šumarski institut Jastrebarsko, 42(2), 143–153. https://hrcak.srce.hr/25998*

Pigott, C. R., Ellar, D. J. (2007) *Role of receptors in Bacillus thuringiensis crystal toxin activity. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 71(2), 255–281. https://doi.org/10.1128/mmbr.00034-06*

Ratto, F., Bruce, T. J. A., Chipabika, G., Mwamakamba, S., Mkandawire, R., Khan, Z., Sait, S. M. (2022) *Biological control interventions reduce pest abundance and crop damage while maintaining natural enemies in sub Saharan Africa: A meta analysis. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 289(1988). https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1695*

Ruiu, L., (2013) *Brevibacillus laterosporus, a pathogen of invertebrates and a broad-spectrum antimicrobial species. Insects, 4(3), 476–492. https://doi.org/10.3390/insects4030476*

Ruiu, L., Satta, A., Floris, I. (2011) *Comparative applications of azadirachtin- and Brevibacillus laterosporus-based formulations for house fly management experiments in dairy farms. Journal of Medical Entomology, 48(2), 345–350. https://doi.org/10.1603/ME09299*

Ruiu, L., Satta, A., Floris, I. (2014) *Administration of Brevibacillus laterosporus spores as a poultry feed additive to inhibit house fly development in feces: a new eco-sustainable concept. Poultry Science, 93(3), 519–526. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03418*

Sabbahi, R., Hock, V., Azzaoui, K., Hammouti, B. (2022) *A global perspective of entomopathogens as microbial biocontrol agents of insect pests. Journal of Agriculture and Food Research, 10, 100376. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100376*

Saeglitz, C., Bartsch, D. (2003) *Regulatory and associated political issues with respect to Bt transgenic maize in the European Union. Journal of Invertebrate Pathology, 83(2), 107–109. https://doi.org/10.1016/S0022-2011(03)00062-4*

Samada, T., Tambunan, U. (2020) *Biopesticides as promising alternatives to synthetic pesticides: A review. Open Journal of Bioscience 20(2), 66–76. https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76*

Schmidt Jeffris, R. A. (2023) *Non target pesticide impacts on pest natural enemies: Progress and gaps. Current Opinion in Insect Science, 58, 101056. https://doi.org/10.1016/j.cois.2023.101056*

Solter, L. F., Becnel, J. J., Oi, D. H. (2012) *Microsporidian entomopathogens. In: L.A. Lacey & H.K. Kaya, eds. Insect Pathology. 2nd ed. Elsevier, 221–264. https://doi.org/10.1016/B978-94-017-1547-8_9*

Sudakin, D. L. (2003) *Biopesticides: A toxicological risk assessment. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 41(4), 403–408. https://doi.org/10.1081/CLT-120022001*

Šebesta, K., Horska, K. (1970) *Mechanism of inhibition of DNA-dependent RNA polymerase by exotoxin of Bacillus thuringiensis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis, 209(2), 357–376. https://doi.org/10.1016/0005-2787(70)90734-3*

Tanada, Y., Kaya, H. K. (1993) *Insect Pathology: Protozoan infections: Apicomplexa, Microspora, San Diego, Academic Press*

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) (2001) *Biopesticides Registration Action Document: Bacillus thuringiensis Plant-Incorporated Protectants. https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/pip/bt_brad.htm*

Van Lenteren, J. C. (2012) *The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. BioControl, 57(1), 1–20. https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1*

Vega, F. E., Goettel, M. S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M. A., Keller, S., Wraight, S. P. (2009) *Fungal entomopathogens: New insights on their ecology. Fungal Ecology, 2(4), 149–159. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.05.001*

Vega, F. E., Goettel, M. S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M. A., Keller, S., Wraight, S. P. (2012) *Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. Fungal Ecology, 5(4), 437–442. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.10.005*

Vlada RH, (2023) *Uporaba pesticida u Republici Hrvatskoj. https://gov.hr/en/use-of-pesticides/1400*

Ward, M. D., Madison, S. L., Sailstad, D. M., Selgrade, M. K. (2000) *Allergen-triggered airway hyperresponsiveness and lung pathology in mice sensitized with the biopesticide Metarhizium anisopliae. Toxicology, 143(2), 141–154. https://doi.org/10.1016/s0300-483x(99)00166-3*

Ward, M. D., Sailstad, D. M., Selgrade, M. K. (1998) *Allergic responses to the biopesticide Metarhizium anisopliae in Balb/c mice. Toxicological Sciences, 45(2), 195–203. https://doi.org/10.1093/toxsci/45.2.195*

Zimmermann, G., (2007) *Review on safety of the entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae. Biocontrol Science and Technology, 17(9), 879–920. https://doi.org/10.1080/09583150701593963*

Zimmermann, O., Huger, A. M., Jehle, J. A. (2015) *Histopathological studies of CpGV-M-infected Cydia pomonella larvae and cell culture. Archives of Virology, 160(12), 2875–2885. https://doi.org/10.1007/s00705-015-2592-2*

Prispjelo/Received: 8.10.2025. ***Prihvaćeno/Accepted: 13.11.2025.***

Professional paper

Biological Insecticides: Mode of action and advantages of application

Abstract

Biological insecticides for plant protection are a sustainable alternative to conventional chemical pesticides. Their use contributes to environmental protection, the reduction of residues in food and the preservation of biodiversity. This article provides an overview of biological insecticides, their mechanisms of action, and the registered preparations on the market in the Republic of Croatia. The advantages and limitations of their use are discussed, as well as the prospects for further development and integration into modern agricultural practice.

Keywords: *biodegradability, entomopathogenic bacteria, entomopathogenic fungi, entomopathogenic viruses, environmentally friendly plant protection*