

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

**Igor M. Kostić**

**DEJSTVO ETARSKIH ULJA ANISA, MORAČA I MIROĐIJE  
I NJIHOVIH DOMINANTNIH KOMPONENTI NA LARVE  
GUBARA (*Lymantria dispar* L.)**

**Doktorska disertacija**

**Beograd, 2016**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE**

**Igor M. Kostić**

**THE EFFECT OF ESSENTIAL OILS OF ANISE, FENNEL  
AND DILL AND THEIR DOMINANT COMPONENTS  
ON GYPSY MOTH LARVAE (*Lymantria dispar* L.)**

**Doctoral Dissertation**

**Belgrade, 2016**

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET  
BEOGRAD – ZEMUN

MENTORI:

Dr Olivera Petrović-Obradović, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu

---

Dr Slobodan Milanović, docentu Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

---

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Radoslava Spasić, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu

---

Dr Jelica Lazarević, naučni savetnik Instituta za biološka istraživanja „Dr Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu

---

Dr Slobodan Krnjajić, naučni saradniku Institut za multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu

---

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

Za pomoć u toku izrade doktorske disertacije zahvaljujem se:

- Dr Oliveri Petrović-Obradović, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na razumevanju i slobodi koju mi je dala prilikom izbora teme za izradu doktorske disertacije, kao i na podršci i korisnim sugestijama koje mi je davala tokom rada na realizaciji eksperimenata i tokom pisanja ove disertacije,
- Dr Slobodanu Milanoviću, docentu Šumarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na nesebičnoj pomoći na realizaciji eksperimenata, prilikom statističke obrade podataka i tokom pisanja ove disertacije, kao i na materijalnoj podršci neophodnoj prilikom sprovođenja oglada,
- Dr Jelici Lazarević, naučnom savetniku Instituta za biološka istraživanja „Dr Siniša Stanković“ Univerziteta u Beogradu, na nesebičnoj pomoći prilikom realizaciji eksperimenata, prilikom statističke obrade podataka, kao i pomoći tokom pisanja ove disertacije,
- Dr Slobodanu Krnjajiću, naučnom saradniku Institut za multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu na moralnoj i materijalnoj podršci i korisnim sugestijama prilikom finalne obrade teksta ove disertacije,
- Dr Radoslavi Spasić, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu na moralnoj podršci i korisnim sugestijama prilikom finalne obrade teksta ove disertacije,
- Dr Miroslavu Kostiću, naučnom savetniku Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“ na moralnoj podršci, na pomoći prilikom realizacije eksperimenata i korisnim sugestijama prilikom finalne obrade teksta ove disertacije,
- Dr Tatijani Marković, naučnom savetniku Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“ na materijalnoj podršci i pomoći pri određivanju kvalitativnog i kvantitativnog sastava uzoraka etarskih ulja anisa, mirođije i morača.

*Igor Kostić*

## Rezime

U radu je ispitivano delovanje alkoholnih rastvora etarskih ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona na gusenice gubara (*Lymantria dispar* L.). Antifidna aktivnost etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata primenjenih u koncentracijama 0.1, 0.5 i 1.0 % ispitivana je u dva odvojena ogleda, ogledu bez izbora i ogledu sa izborom. Ispitivanje je vršeno na gusenicama drugog stupnja, a rezultati ogleda su očitavani nakon 48 časova od početka ogleda. Rezidualna kontaktna i digestivna toksičnost etarskih ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 %, ispitivana je na gusenicama gubara drugog stupnja. Pored mortaliteta gusenica, praćen je i uticaj navedenih toksičnosti na presvlačenje gusenica iz drugog u treći larveni stupanj. Ogledi u kojima je ispitivan uticaj toksičnosti ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata na mortalitet i zaustavljanje presvlačenja gusenica trajali su 120 časova, a rezultati su očitavani na svaka 24 časa. Delovanje ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata, primenjenih u koncentracijama 0.1, 0.25 i 0.5 %, na indekse rasta i ishrane gusenica gubara četvrtog stupnja sagledavano je u ogledima za ispitivanja njihovog uticaja na relativnu brzinu rasta gusenica (RGR), relativnu brzinu konzumacije hrane gusenica (RCR), efikasnost asimilacije hrane kod gusenica (AD) i efikasnosti konverzije unete i svarene hrane kod gusenica (ECI i ECD). Rezultati ogleda su očitavani nakon 48 časova od početka ogleda. Za poređenje rezultata je korišćeno biološko sredstvo NeemAzal (standard). Statistička obrada podataka izvršena je uz pomoć softverskog paketa Statistica 7.0. (StatSoft, Inc).

Analizom dobijenih rezultata utvrđeno je da dobru antifidnu aktivnost poseduju etarsko ulje anisa i njegova dominantna komponenta trans-anetol primenjeni u koncentraciji 1.0 %. Rezidualna kontaktna toksičnost ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenta nije konstatovana, a njihov uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica nije zadovoljavajuć. Visoku digestivnu toksičnost koja dovodi do mortaliteta 100 % gusenica ili 100 % zaustavljanja presvlačenja gusenica, ukoliko nisu sve gusenice uginule, poseduju ispitivana etarska ulja primenjena u koncentraciji 1.0 %, trans-anetol primenjen u koncentracijama 0.5 i 1.0 % i karvon primenjen u koncentracijama 0.25, 0.5 i 1.0 %. Indeksi rasta i ishrane gusenica gubara su primenom ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata značajno sniženi. Primenjena sredstva imaju značajan uticaj na snižavanje relativne brzinu rasta gusenica (RGR), relativne brzinu konzumacije hrane gusenica (RCR),

koeficijent asimilacije hrane kod gusenica (AD) i efikasnosti konverzije unete i svarene hrane u biomasu gusenica (ECI i ECD). Najveću efikasnost ostvaruju primenom u koncentraciji 0.5 %, a karvon u proseku ostvaruje značajno veći uticaj u odnosu na ostala primenjena sredstva. Spektar bioloških efekata koje poseduju etarsko ulje anisa, njegova dominantna komponenta trans-anetol kao i dominantna komponenta karvon, pruža mogućnost njihove upotrebe u formulaciji bioloških preparata, koji bi se mogli koristiti u sklopu integralnih mera odbrane od gubara, a naročito u fazi progradacije kada intenzitet šteta još uvek nije dostigao svoj maksimum.

**Ključne reči:** gubar, etarska ulja, anis, mirođija, morač, dominantne komponente etarskih ulja, antifidna aktivnost, rezidualna kontaktna toksičnost, digestivna toksičnost, indeksi rasta i ishrane

Naučna oblast: **Biotehničke nauke**

Uža naučna oblast: **Entomologija**

UDK: [635.75+665.52]: 595.78(043.3)

## Abstrakt

In this work the influence of ethanol solutions of essential oils of anise, fennel and dill and their dominant components trans-anethole and carvone on gypsy moth larvae (*Lymantria dispar* L.) was tested. Antifeedant activity of essential oils and their dominant components applied in concentrations 0.1, 0.5 i 1.0 % was tested in two separate tests, no choice and choice feeding ones. The testing was done on the second instar and the results of the experiments were recorded 48 h after the beginning of the experiment. Residual contact and digestive toxicity of essential oils of anise, fennel and dill and their dominant components applied in concentrations 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 % were tested on the second instar gypsy moth larvae. The influence of mentioned toxicity on moulting from the second to the third instar was followed, too. The influence of toxicity of essential oils and their dominant components on mortality and disturbing moulting was evaluated after 24, 48, 72, 96 and 120 h after the beginning of the experiment. The influence of tested essential oils and their dominant components applied in concentrations 0.1, 0.25, 0.5 % on growth and feeding indices of the fourth instars was tested in the assays about their influence on relative growth rate (RGR), relative consumption rate (RCR), approximate digestibility (AD) and efficiency of conversation of ingested food (ECI), as well as efficiency of conversation of digested food (ECD). The results were recorded 48 h after the beginning of the experiment. Botanical standard NeemAzal was used for comparing results. Statistical data processing was done by softer Statistica 7.0.

The analyzing of the results confirmed that essential oil of anise and its dominant component trans-anethole applied in concentration 1.0 % possess good antifeedant activity. Residual contact toxicity of tested essential oils and their dominant components as well as their influence on disturbing moulting was not satisfied. Tested essential oils applied in concentration 1.0 % possess high digestive toxicity which causes 100 % larvae mortality or 100 % inhibits moulting. Trans-anethole possesses the same effect in concentrations 0.5 and 1.0 % as well as carvone in concentrations 0.25, 0.5 and 1.0 %. Applied compounds have significant influence on relative growth rate (RGR), relative consumption rate (RCR), approximate digestibility (AD) and efficiency of conversation of ingested food (ECI), as well as efficiency of conversation of digested food (ECD). They are most effective in concentration 0.5 % and carvone, in average, has significantly bigger influence in comparison with other applied compounds. Spectrum of biological effects which essential oils

of anise, it is dominant component trans-anethole and dominant component carvone possess, offers the possibility of their using in formulation biological prepartes, which can be used in the scope of integral methods of protection from gypsy moths especially in progradation phase when the intensity of damage has not achieved it is maximum.

**Key words:** *Lymantria dispar* L., essential oils, anise, fennel, dill, dominant components of essential oils, antifeedant activity, residual contact toxicity, digestive toxicity, growth and feeding indices

Scientific field: **Biotechnical sciences**

Scientific subfield: **Entomology**

UDC: [635.75+665.52]: 595.78(043.3)



# S a d r ž a j

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	4
2.1. Značaj odbrambenih mehanizama biljaka u odnosima između insekata i biljaka.....	4
2.1.1. Konstitutivna odbrana.....	5
2.1.2. Indukovana odbrana.....	6
2.1.3. Uloga sekundarnih metabolita u odnosima insekata i biljaka.....	8
2.1.4. Etarska ulja – produkti sekundarnog metabolizma.....	10
2.1.4.1. Prisustvo etarskih ulja u biljkama– uticaj faktora životne sredine .....	11
2.1.4.2. Hemijski sastav etarskih ulja .....	12
2.1.4.3. Biološka funkcija etarskih ulja.....	13
2.1.4.4. Etarska ulja biljaka iz familije Apiaceae .....	15
2.2. Gubar ( <i>Lymantria dispar</i> L.).....	17
2.2.1. Sistematsko mesto gubara.....	17
2.2.2. Areal rasprostranjenja gubara .....	17
2.2.3. Suzbijanje gubara.....	18
Naučni cilj istraživanja.....	21
Osnovne hipoteze.....	22
3. MATERIJAL I METODE RADA .....	23
3.1. Biljni materijal, dominantne komponente, standard.....	23
3.1.1. Hemijska kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja .....	24
3.1.2. Eksperimentalne grupe u ogledima.....	25
3.2. Gajanje gubara u laboratorijskim uslovima .....	25
3.3. Laboratorijska oprema .....	26

3.4. Ispitivanje dejstva etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara .....	27
3.4.1. Ispitivanje antifidne aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja .....	27
3.4.2. Ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja .....	30
3.4.3. Ispitivanje digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja .....	31
3.4.4. Ispitivanje uticaja etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara četvrtog stupnja .....	32
3.5. Statističke metode .....	34
3.5.1. Analiza varijanse za procenu antifidne aktivnosti ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a, kao i njihove rezidualne kontaktne i digestivne toksičnosti .....	34
3.5.2. Probit analiza digestivne toksičnosti ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a .....	35
3.5.3. Analiza kovarijanse za procenu uticaja ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara .....	35
4. REZULTATI.....	37
4.1. Rezultati kvalitativnog i kvantitativnog hemijskog sastava korišćenih etarskih ulja anisa, mirođije i morača.....	37
4.2. Antifidna aktivnost etarskih ulja anisa, mirođije, morača i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja.....	40
4.3. Antifidna aktivnost dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja.....	43
4.4. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzala na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja.....	47

4.5. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzala na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja .....	50
4.6. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzala na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj .....	52
4.7. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti dominantnih komponenata trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj .....	58
4.8. Uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja .....	62
4.9. Uticaj digestivne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja .....	68
4.10. Letalna koncentracija za digestivnu toksičnost trans-anetola i karvona na gusenice gubara .....	75
4.11. Uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj .....	76
4.12. Uticaj digestivne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj .....	80
4.13. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara četvrtog stupnja .....	84
4.13.1. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica gubara .....	84
4.13.2. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica gubara .....	86
4.13.3. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara .....	88
4.13.4. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a, na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara .....	90
4.13.5. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) kod gusenica gubara .....	92

4.13.6. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) kod gusenica gubara .....	94
4.13.7. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane u biomasu (ECI) kod gusenica gubara .....	96
4.13.8. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja trans-anetola i karvana, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane u biomasu (ECI) kod gusenica gubara .....	98
4.13.9. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane u biomasu (ECD) kod gusenica gubara.....	100
4.13.10. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane u biomasu (ECD) kod gusenica gubara .....	102
5. DISKUSIJA .....	105
6. ZAKLJUČAK.....	116
7. LITERATURA .....	119
BIOGRAFIJA .....	139
IZJAVE.....	140

## 1. Uvod

Gubar (*Lymantria dispar* L.) je izrazito polifagna vrsta koja se hrani lišćem velikog broja vrsta lišćara, šumskog žbunja, šiblja i korova, lišćem svih voćaka, izuzev kruške, nekim četinarima, kao i zelenom masom mnogih poljoprivrednih ratarskih i povrtarskih kultura (Lance, 1983; Mihajlović, 2008). Kao biljke domaćini gubara navodi se 500 različitih vrsta iz 73 familije (Lance, 1983; Liebhold *et al.*, 1995). Gubar se najbolje razvija na vrstama iz roda *Quercus* (Janković, 1958; Liebhold *et al.*, 1995), ali i između vrsta ovog roda postoje variranja kako u ticaju na preferencu tako i u uticaju na performansu (indekse rasta i ishrane) gubara. Na primer, Milanović i saradnici (2014) navode da je cer (*Quercus cerris* L.) optimalniji domaćin u odnosu na kitnjak (*Quercus petraea* (Matt.)) I sladun (*Quercus* (Ten.)). U Srbiji, kao i na čitavoj severnoj hemisferi gubar predstavlja jednu od najznačajnijih štetočina lišćarskih šuma (Elkinton and Liebhold, 1990). Specifičnost populacione dinamike se ogleda u periodičnim prenamnoženjima – gradacijama (u proseku traju tri do šest godina) tokom kojih se menja vitalnost gubara uključujući i otpornost prema virusima (Mihajlović, 2008; Elder *et al.*, 2013). Na pojavu prenamnoženja gubara utiču i ekološki faktori kao što su: temperatura, vlažnost, prisustvo prirodnih neprijatelja i biljaka pogodnih za ishranu (Berryman, 1996; Dale, *et al.*, 2001). U godinama kada se javi u gradaciji gubar pravi velike štete našem šumarstvu jer izaziva gubitke u prirastu, izostajanje plodonošenja i intezivira procese sušenja šuma. Spada u tipične fiziološke štetočine. Biljka mora u istoj vegetacionoj sezoni da formira novo lišće, njene odbrambene sposobnosti opadaju i ona postaje podložna napadu drugih štetnih organizama (Mihajlović, 2008). U periodu gradacija pod golobrstom se nalaze i milioni stabala voćaka. Gubar tada može biti veoma štetan i u urbanoj sredini i prčinjavati velike štete u parkovima i drvoredima. Takodje, dlake kojima su pokrivene gusenice gubara, mogu izazvati alergijske reakcije kod ljudi, a naročito dece, u vidu osipa po koži i iritacije disajnih organa.

U cilju smanjenja značajnih šteta koje izaziva gubar, često su korišćeni konvencionalni pesticidi, a ponekad i na neodgovarajući način, što je dovelo do ozbiljnih poremećaja u životnoj sredini: kontaminacija, štetni efekti na neciljnu korisnu entomofaunu, evolucija rezistentnosti (Zabel *et al.*, 2002). Zbog negativnih efekata

mnogi konvencionalni pesticidi su uklonjeni sa tržišta, a intezivno se radi na pronalaženju pesticida biološkog porekla, koji bi efikasno zamenili konvencijalne (Copping and Menn, 2001; Isman and Miresmailli, 2011). Shodno tome, postepeno su razvijane mere biološke kontrole (Sisojević, 1975; Farrar *et al.*, 1995; Wu, 2014), koje se stalno unapređuju i kombinuju, s obzirom da istovremeno korišćenje više različitih bioloških mera, povećava njihovu efikasnost (Guo-cai *et al.*, 2005).

Termin biološka kontrola počeo je da se koristi od 1919. Godine i uveden je od strane profesora Smith-a sa univerziteta u Kaliforniji, koji je definisao „biološku kontrolu“ kao suzbijanje populacija štetnih insekata uvođenjem njihovih prirodnih neprijatelja (Smith, 1919). Vremenom je prihvaćeno da se ovaj tip biološke kontrole zasniva na: uvođenju, povećanju brojnosti i očuvanju prirodnih neprijatelja (DeBach, 1964). Danas je pod pojmom biološke kontrole uključena i primena bioloških preparata koji se primenjuju u zaštiti bilja, a po poreklu mogu biti: sekundarni metaboliti biljaka i mikroorganizama, korisna entomofauna, mikroorganizmi, entomopatogene nematode, dijatomejska zemlja i dr. (Stathers *et al.*, 2004; Copping, 2009).

Rezultati istraživanja odnosa između biljaka i insekata imaju važnu ulogu u razvoju biopesticida, čijom primenom bi se smanjilo prekomerno korišćenje konvencionalnih pesticida. Herbivorni insekti svoju biljku hraniteljku, ili više biljnih vrsta, prepoznaju na osnovu isparljivih materija, sekundarnih metabolita sa jedinstvenim spektrom jedinjenja po biljnoj vrsti (Visser, 1988., Chinta, 1994; Bruce *et al.*, 2005a; Kay and Stopfer, 2006). Mirisi isparljivih jedinjenja su različitog porekla i sadrže važne informacije koje izazivaju posebne i precizne reakcije u ponašanju insekata (Hansson and Hallberg, 1999). Sa druge strane, miris isparljivih komponenata sekundarnih biljnih metabolita, kao i njihov ukus i biohemijski sastav na insekte mogu delovati odbojno, sprečavati njihovu ishranu i/ili ometati proces varenja i apsorpcije hranjivih materija, mogu da remete respiraciju i da deluju toksično i prooksidantno (Tripathi *et al.*, 2001; Zabel *et al.*, 2002; Isman, 2006; Isman and Miresmailli, 2011). Različita delovanja, koja na insekte iskazuju sekundarni metaboliti, a među njima i etarska ulja, predstavljaju osnov za njihovu primenu u vidu biopesticida. Prednosti primene ovih preparata u odnosu na konvencionalne pesticide su izostanak negativnog uticaja na životnu sredinu, visok stepen biorazgradivosti, netoksičnost, ili niska toksičnost za sisare i korisnu entomofaunu, veća selektivnost, kao i teža evolucija

rezistentnosti insekta na koje deluju (Van Netten *et al.*, 2000; Keita *et al.* 2001; Tapondjou *et al.* 2002; Priestley *et al.* 2003; Isman and Machial, 2006; Isman *et al.*, 2011; Ntalli and Menkissoglu–Spiroudi, 2011).

U ovoj disertaciji izneti su rezultati uticaja rastvora etarskih ulja dobijenih iz semena biljaka anisa (*Pimpinella anisum* L.), morača (*Foeniculum vulgare* Mill.) i mirođije (*Anethum graveolens* L.) i njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona, na gusenice gubara. U tu svrhu ispitivana su sledeća delovanja: zaustavljanje ishrane (antifidno delovanje), rezidualna kontaktna toksičnost, digestivna toksičnost, uticaj navedenih toksičnih delovanja na presvlačenje gubara, kao i uticaj na performansu (indekse rasta i ishrane) gusenica gubara. Sva navedena istraživanja su istovremeno urađena i sa komercijalnim biološkim preparatom NeemAzal, čija je aktivna materija azadiraktin, dominantna komponenta ekstrakta semena indijskog drveta, *Azadirachta indica* Jus (fam. Meliaceae), radi upoređivanja rezultata. U ranijim istraživanjima je utvrđeno da azadiraktin poseduje antifidno delovanje, digestivnu toksičnost, slabu kontaktnu toksičnost, inhibitorni uticaj na presvlačenje gusenica, kao i delovanje na indekse rasta i ishrane gusenica gubara (Zabel *et al.*, 2002; Kostić *et al.*, 2008; Khosravi and Sendi, 2013; Popović *et al.*, 2013; Kostić *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2015).

## 2. Pregled literature

### 2.1. Značaj odbrambenih mehanizama biljaka u odnosima između insekata i biljaka

Biljke su u svojim prirodnim staništima izložene uticaju različitihi biotičkih činioca (ogromnom broju potencijalnih neprijatelja u koje spadaju i herbivorni insekti), kao i mnogim abiotičkim činiocima (raznim vrstama stresora životne sredine). Kako bi opstale, biljke su morale razviti različite mehanizme odbrane (Ballhorn, *et al.*, 2009). Polovina do sada otkrivenih vrsta insekata spada u herbivore koje izazivaju 5-10 % defolijacije na godišnjem nivou (Schoonhoven *et al.* 1998).

Odnos biljka-insekt veoma je složen i značajno utiče na evolutivne procese ove dve grupe organizama. Tokom evolucije biljke su razvijale svoje odgovore na napade insekata, koji se mogu ispoljiti u vidu jednog od tri osnovna scenarija odbrane: direktna odbrana, indirektna odbrana i tolerancija (Berryman, 1988; Karban and Baldwin, 1997; Baldwin and Preston, 1999). Mehanizam odbrane koji će se aktivirati kod napadnute biljke zavisi od vrste insekata koji biljku napada (Agrawal, 2000; Viswanathan *et al.*, 2005), ekoloških uslova sredine (Mattson *et al.*, 1988), kao i od vrste abiotičkih stresora kojima je biljka izložena (Grace, 1997). Zbog toga se insekti i biljke moraju posmatrati kao dva koevolutivna, međusobno zavisna biohemijska sistema, a relativno mala genetička i fiziološko-biohemijska promena jednog od njih može imati velike ekološke posledice po njihove odnose (Southwood, 1973).

Direktna odbrana biljaka od insekata herbivora podrazumeva mehanizme koji uključuju morfološke i fiziološke odgovore biljaka na napad štetnih insekata, odnosno njihove kombinacije. Lišće nekih vrsta biljaka ima dlačice koje neposredno (direktno) vrše negativan uticaj na herbivore, a dodatno su opremljene i žlezdama koje luče sekundarne metabolite (Duffey, 1986; Bedoy and Farfan, 2010), koji mogu imati niz negativnih uticaja na herbivore (Tamayo, *et al.*, 2000; Kessler and Baldwin, 2001; De Moraes *et al.*, 2001; Arimura, 2009; Regnault-Roger, 2012). Indirektna odbrana podrazumeva sve mehanizme kojima biljka povećava privlačenje prirodnih neprijatelja štetnih insekata (Karbon and Baldwin, 1997; Arimura, 2009). Pod tolerancijom se



podrazumeva sposobnost biljke da gubitak tkiva izazvan delovanjem herbivora podnese i pritom nastavi dalje razviće (Stowe *et al.*, 2000).

Mehanizmi odbrane se takođe mogu podeliti na konstitutivne i inducibilne.

### **2.1.1. Konstitutivna odbrana**

Konstitutivna odbrana predstavlja prvu liniju odbrane biljaka i odnosi se na postojanje različitih fizičkih i/ili hemijskih barijera koje su stalno prisutne nezavisno od napada insekta.

Pod fizičkim barijerama konstitutivne odbrane se pre svega misli na zadebljale sekundarne ćelijske zidove, ali i na prisustvo čvrstih supstanci kao što su kutin, suberin i vosak, koji dodatno impregniraju ćelijske zidove povećavajući im čvrstinu (Freeman and Beattie, 2008). Na površini epidermisa često se mogu javiti i različite morfološke tvorevine, kao što je trnje ali i sitne epidermalne strukture, trihome, čije su funkcije povećavanje refleksije svetlosti, smanjivanje gubitka vode, ali i otežano kretanje insekta (Wagner *et al.*, 2004).

Pod hemijskim barijerama konstitutive odbrane pre svega se misli na produkciju različitih sekundarnih metabolita u različitim biljnim organima. Sekundarni metaboliti štite biljke od većine neadaptiranih insekata, delujući nepovoljno na njihovo preživljavanje, razviće i reprodukciju (Swain, 1977; Wink, 1988; Howe and Jander, 2008). Sva biljna jedinjenja koja imaju negativne efekte na rast, razviće ili opstanak drugog organizma spadaju u toksine (Wittstock and Gershenzon, 2002). Biljke koje se oslanjaju na konstitutivnu hemijsku odbranu moraju biti u mogućnosti da sintetišu i čuvaju ove supstance i da žive sa svojim toksinima bez negativnih posledica po njih same (Wittstock and Gershenzon, 2002). Jedna od strategija je čuvanje toksina u vidu neaktivnog prekursora, odvojeno od enzima koji će ga aktivirati (Jones and Vogt, 2001). Ipak, treba imati na umu da se konstitutivna jedinjenja često koriste za prepoznavanje biljke od strane insekata kao domaćina pri ishrani ili ovipoziciji (Byers, 1995; Roininen *et al.*, 1999), a da su ti insekti uspeali da razviju različite mehanizme za neutralisanje dejstva biljnih toksina (Wittstock and Gershenzon, 2002). Tako, za adaptirane insekte, odnosno za vrste koje su razvile biohemijske mehanizme koji im dozvoljavaju da se hrane toksičnim biljkama, sekundarni metaboliti uglavnom nemaju značajnu ulogu u odbrani.

Naprotiv, sekundarni metaboliti su od suštinskog značaja za „navođenje“ tih insekta ka odgovarajućim biljkama (Schoonhoven, *et al.*, 2005). Konstitutivni sekundarni metaboliti štite biljke od većine neadaptiranih insekata (Bernays and Chapman, 1976), a visoke koncentracije sekundarnih jedinjenja u biljkama mogu negativno da utiču čak i na specijalizovane insekte (Larsson *et al.*, 1986; Zangerl and Berenbaum, 1993). Tako na primer, taninska kiselina na koju su gusenice gubara inače adaptirane (Berenbaum, 1980), prisutna u većoj količini menja antioksidativni status epitela srednjeg cvreva gubara, što za posledicu ima njegovu povećanu osetljivost prema virusu nuklearne poliedroze (Martemyanov *et al.*, 2006).

Elementi konstitutivne (pasivne) odbrane mogu biti akumulirani u periodu povoljnijih uslova za razvoj biljke, a kasnije, kada se biljka nađe pod stresom i resursi vitalni za razviće biljke postanu limitirani, mogu biti iskorišćeni. Ovaj vid odbrane je češći kod višegodišnjih biljaka, koje tokom svog života bivaju više puta izložene ozbiljnim oštećenjima i efikasan je u borbi protiv generalista kao što je gubar (McKey, 1979).

### **2.1.2. Indukovana odbrana**

Indukovana odbrana je kao vid odbrambenog mehanizma biljaka prvi put opisana početkom sedamdesetih (Green and Ryan, 1972; Haukioja and Hakala, 1975). U odnosu na konstitutivni vid odbrane, indukovana odbrana predstavlja sofisticiraniji i u metaboličkom smislu ekonomičniji vid odbrane (Chen, 2008).

Indukovana odbrana biljaka podrazumeva aktiviranje većeg broja mehanizama, koji predstavljaju odgovor na delovanje herbivora, ili nekog drugog činioca stresa, a za cilj imaju smanjenje negativnih posledica stresa (Uesugi *et al.*, 2013). Ravnoteža između mnogih primarnih i sekundarnih metabolita utiče na tip odgovora biljke (Karban, 1989). Indukovana odbrana uključuje proizvodnju hemikalija (terpeni, fenoli, tanini, alkaloidi, glukozinolati, itd.), kao i raznih enzima i drugih proteina, koja mogu delovati na metaboličke procese insekata i uticati negativno na njihov rast i razviće (Schoonhoven, *et al.*, 2005). Pažnja se sve više posvećuje ispitivanju povećanja koncentracije sekundarnih metabolita do koje je došlo usled napada insekata. Tako, usled ishrane *Epirrita autumnata* lišćem breze dolazi do povećanja sadržaja fenolnih jedinjenja

(Kaitaniemi *et al.*, 1998), a usled ishrane gubara raste sadržaj tanina u lišću hrasta (Rossiter *et al.*, 1988), dok posle napada potkornjaka raste koncentracija terpena i fenola u tkivu floema napadnutih stabala (Raffa, 1991). U biljkama su identifikovani i odbrambeni proteini koji deluju na digestivne enzime insekata. Pri istraživanju odbrambenih proteina podestnih za kontrolu insekata posebno mesto zauzimaju inhibitori proteaza koji pored zaštitne uloge koju imaju u odbrani od insekata i mikroorganizama, učestvuju u regulaciji i kontroli aktivnosti endogenih proteaza, ili služe kao rezervni proteini (Ninković *et al.*, 2001; Lawrence and Koundal, 2002). Biljke krompira čiji su listovi oštećeni ishranom larvi krompirove zlatice, proizvode veće količine inhibitora proteaza, koji zatim kod larvi krompirove zlatice ometaju proces varenja (Green and Ryan, 1972). Zahvaljujući napretku genetičkog inženjeringa stvorena je mogućnost unosa raznih gena za inhibitore proteaza, odnosno gena koji su poreklom od biljnih vrsta na koje ciljna štetočina nije adaptirana u ekonomski važne biljne kulture što povećava njihove odbrambene sposobnosti (Ryan, 1990; Dunse, 2010).

Nakon napada štetnih insekata, neke biljke, u okolnu sredinu mogu emitovati isparljiva jedinjenja koja su atraktantna za predatore i parazitoide tih insekata i na taj način se indirektno braniti od njih (McCormick *et al.*, 2014). Limba pasulj napadnut od strane običnog paučinara *Tetranychus urticae* Koch, emituje smešu nekoliko terpenoida i metil salicilata koja privlači predatorsku grinju *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot koja se hrani svim razvojnim stadijumima običnog paučinara (Van den Boom *et al.*, 2004).

S druge strane, većina biljaka neposredno nakon napada insekta aktivira mehanizme koji podstiču brzo odumiranje napadnutih delova (Garza *et al.*, 2001), kao i mehanizme kojima izoluje oštećene ćelije formiranjem fizičkih struktura (lignifikacija ćelija) oko napadnutog biljnog tkiva (Goggin, 2007).

Napadnute biljke, mogu smanjiti produkciju materija, koje su esencijalne za normalno razviće i reprodukciju herbivora, što predstavlja još jedan od mehanizama indukovane odbrane (Berryman, 1988).

Populacija herbivora počinje rast kada otpornost biljke domaćina padne na niži nivo. S druge strane, smanjenje populacije herbivora je povezano sa povećanjem otpornosti biljke. Minimalna dužina faze latence zavisi od brzine slabljenja otpornosti

biljke, odnosno od vremena koje je biljci potrebno da se oporavi od defolijacije (Tuomi *et al.*, 1988).

### **2.1.3. Uloga sekundarnih metabolita u odnosima insekata i biljaka**

Zbir svih hemijskih reakcija koji se odvijaju u organizmu naziva se metabolizam, a biljke proizvode metabolite koji se mogu podeliti u dve kategorije: primarne i sekundarne (Schoonhoven, *et al.*, 2005). Primarni metaboliti su supstance proizvedene od strane svih biljnih ćelija koje su direktno uključene u rast, razvoj i reprodukciju i obuhvataju šećere, proteine, amino kiseline i nukleinske kiseline (Buchanan *et al.*, 2000). Sekundarni metabolizam predstavlja direktan nastavak primarnih metaboličkih procesa u kojima molekuli šećera, aminokiseline i masnih kiseline podležu nizu uzastopnih enzimskih transformacija (Hartmann, 1996). Primarni i sekundarni metabolizam se snažno prepliću i za normalan život biljke moraju funkcionisati usklađeno (Berenbaum and Seigler, 1992). Procesi sekundarnog metabolizma se samo donekle odvijaju istim mehanizmima u različitim biljkama i različitim biljnim tkivima. U zavisnosti od enzima prisutnih u biljnom tkivu, zavisi i koji će metaboliti biti produkovani. Sinteza određenih enzima je pod direktnom kontrolom odgovarajućih gena, a ispoljenost gena je uslovljena genetičkim ili fiziološkim faktorima (Kovačević, 2004). Sekundarni metaboliti nisu direktno uključeni u razviće i reprodukciju, šta više, njihova produkcija smanjuje rast biljaka i njenu reprodukciju (Stotz *et al.*, 1999; Siemens *et al.*, 2002, ). Međutim, ova jedinjenja obavljaju veoma važnu funkciju u odbrani biljaka i prevazilaženju štetnih efekata stresa (Pourcel *et al.*, 2007; Bharti *et al.*, 2013).

Produkti sekundarnog metabolizma ranije su smatrani otpadnim proizvodima, jer se mislilo da nemaju bitnu funkciju u opstanku biljaka (Seigler and Price, 1976). Međutim, sve je više dokaza o raznovrsnoj ekološkoj, fiziološkoj i biohemijskoj ulozi ovih jedinjenja (Seigler and Price, 1976; Bennett and Wallsgrove, 1994; Wink, 2003; Zagrobelny *et al.*, 2004). Po hemijskoj strukturi to su različiti terpenoidi, steroidi, flavonoidi, fenoli, glukozinolati, saponini, cijanogenični glikozidi, kao i neke neproteinske aminokiseline (Gatehouse and Gatehouse, 1998). Neka od ovih jedinjenja čine komponente konstitutivne odbrane, dok druga ulaze u sastav mehanizama

indukovane odbrane i akumuliraju se u biljnim tkivima tek nakon napada herbivora (Karban and Baldwin, 1997; Viswanathan *et al.*, 2005). Nivo konstitutivnih i indukovanih alelohemikalija kod velikog broja biljnih vrsta je uslovljen dostupnošću hranljivih materija u zemljištu (Dudt and Shure, 1994; Koricheva *et al.*, 1998; Darrow and Bowers, 1999; Coviella *et al.*, 2002; Wall *et al.*, 2005). Tako, prihrana azotom može uticati na povećanje stepena indukovane otpornosti topole nakon kontinuirane ishrane gusenica gubara za samo 72 časa (Glynn *et al.*, 2003). Sekundarni metaboliti imaju ključnu ulogu u adaptaciji biljaka na okruženje i u prevazilaženju stresa biljaka, izazvanog kako biotičkim, tako i abiotičkim činiocima (Ferrat *et al.*, 2003; Pourcel *et al.*, 2007; Bharti *et al.*, 2013). Utvrđeno je da veliki broj klasa sekundarnih metabolita može učestvovati u odbrani od insekata delujući kao repelenti, antifidanti, atraktanti, inhibitori digestivnih enzima ili toksini (Coats *et al.*, 1991; Francios *et al.*, 1997; Shaalan *et al.*, 2005; Katerinopoulos *et al.*, 2005; Isman, 2006, Kostić *et al.*, 2008; Russo *et al.*, 2009; Bissinger and Roe, 2010; Rattan, 2010; Regnault-Roger, 2012; Kostić *et al.*, 2013). Kod biljaka koje su izložene suši, ili rastu na zaslanjenom zemljištu, sekundarni metaboliti mogu imati pozitivan uticaj na osmoregulaciju tokom stresa, kao i u oporavku biljke kada nastupe povoljni uslovi sredine (Mosaddek *et al.*, 2015).

Sekundarni metaboliti imaju veoma ograničenu distribuciju i za razliku od primarnih metabolita često se nalaze samo u jednoj biljnoj vrsti ili rodu. S druge strane, u odnosu na primarne metabolite, kod sekundarnih metabolita se javlja ogromno interspecijsko variranje kako u sastavu tako i u koncentraciji (Harborne, 1993). Pored toga, postoji značajno variranje i između genotipova u okviru iste vrste (Orians *et al.*, 1996; Osier *et al.*, 2000), između različitih uzrasta biljke (Fritz *et al.*, 2001), između različitih biljnih organa (Zangerl and Bazzaz, 1992), između različitih grana jednog stabla (Carisey and Bauce, 1997) i između različitog lišća na jednoj grani (Ikeda *et al.*, 1977; Wait *et al.*, 1998). Variranje u količini sekundarnih metabolita postoji čak i u okviru jednog istog lista. Kod topole se koncentracija sekundarnih metabolita povećava od baza ka vrhu lista (Zucker *et al.*, 1982). Koncentracija sekundarnih metabolita je najčešće najveća u semenu biljaka, jer bi oštećenje semena imalo daleko veće posledice po biljku, od oštećenja bilo kog drugog biljnog organa (Zangerl and Bazzaz, 1992). Čest je slučaj da se sekundarni metaboliti produkuju u jednom biljnom organu, a skladište u

drugom. Na primer, alkaloid nikotin se u biljkama duvana produkuje u korenu, a zatim putem ksilema transportuje i skladišti u listu (Baldwin, 1994).

U cilju iskorišćenja biljnih tkiva koja sadrže sekundarne metabolite insekti su razvili različite mehanizme za njihovo izbegavanja (Dussourd, 1993) i detoksikaciju (Brattsten, 1992). Strategija, kojom insekti prevazilaze problem prisustva sekundarnih metabolita, može biti veoma različita i između insekatskih vrsta koje se hrane na istoj biljci (Berenbaum and Zangerl, 2008). Insekti adaptirani na svoje biljke domaćine poseduju enzime koji degradiraju molekule biljnih toksina i na taj način omogućavaju adaptaciju insekata na svoje domaćine (Gould, 1984; Cohen *et al.*, 1992). Još jedan od načina kojim se insekti brane od dejstva biljnih toksina je njihovo brzo izlučivanje. Sekundarni metaboliti biljaka su najčešće glomazni molekuli, često polarni, koji kod nekih vrsta insekata, ne mogu da savladaju barijeru zida srednjeg creva i bivaju izlučeni iz organizma pre nego što stignu do mesta svog delovanja (Schoonhoven *et al.*, 2005). U nekim slučajevima, mehanizam adaptacije kod insekata je specifična strukturalna receptora vezivanja biljnog toksina (Berenbaum, 1986). Kada insekti postanu rezistentni na produkte sekundarnog metabolizma biljaka, one postaju njihove hraniteljke. Utvrđeno je da su neke od tih materija postale znak prepoznavanja biljaka domaćina, čineći to same, ili u sinergiji sa hranljivim materijama. Na primer, u lišću hrasta tanini se vezuju za proteine i formiraju komplekse koji su teško svarljivi. Fenny (1970) zaključuje da tanini, kao deo širokog spektara odbrambenih mehanizama, imaju repelentno, antibiotsko i svojstvo inhibiranja rasta, preko njihovog uticaj na dostupnost proteina. Međutim kod gubara, taninska kiselina je atraktant, a alkalna pH vrednost creva sprečava stvaranje taninsko proteinskih kompleksa (Berenbaum, 1980).

#### **2.1.4. Eterska ulja - produkti sekundarnog metabolizma**

Eterska ulja su produkti sekundarnog metabolizma aromatičnih biljaka. To su više ili manje složene smeše mirišljavih i lako isparljivih, lipofilnih jedinjenja među kojima preovladavaju različiti mono-terpeni, seskviterpeni i fenilpropanska jedinjenja (Kovačević, 2004). Aromatične biljke su u prirodi veoma brojne, neke se gaje, a neke skupljaju iz prirodnih populacija, u cilju proizvodnje sirovina (aromatične droge), začina i etarskih ulja (Jančić i sar., 1995). Količina etarskih ulja u aromatičnim biljkama

varira u širokim granicama. Od značaja za farmaciju su one biljke, koje destilacijom vodenom parom daju preko 0.01 % etarskog ulja. Etarska ulja se iz aromatičnih biljaka dobijaju na različite načine. Najčešće korišćen način dobijanja etarskih ulja je destilacija pomoću vodene pare. Ovaj način se koristi i za industrijsko dobijanje etarskih ulja. Etarska ulja su bistre, lako pokretljive i isparljive, bezbojne, ili žućkaste tečnosti. Imaju specifičan miris, dok je ukus većina etarskih ulja ljut. Hlađenjem, neka etarska ulja očvrstnu, ili se iz njih izlučuju čvrsti sastojci (stearopteni ili kamfori). Etarska ulja se praktično ne rastvaraju u vodi. Međutim, lako se rastvaraju u nepolarnim organskim rastvaračima, etanolu, masnim uljima i mnogim organskim rastvaračima kao što su etar i hloroform. Dužim stajanjem se često usmole, zgusnu, potamne i reaguju kiselo. Etarska ulja se sintetišu i skladište u specijalizovanim sekretornim strukturama, koje se mogu nalaziti u različitim biljnim organima: u plodu, semenu, korenu ili rizomu, listu, stablu ili kori, lukovicama (Bakkali *et al.*, 2008). Etarska ulja lokalizovana u različitim delovima iste biljke, mogu biti sličnog sastava, ali se mogu i značajno razlikovati. Na primer, etarsko ulje lista i korena peršuna se razlikuje po dominantnim komponentama (Kovačević, 2004; Johnson, *et al.*, 2004).

Prednosti upotrebe etarskih ulja kao biopesticida su brojne. S obzirom da u sastav etarskih ulja ulazi veći broj komponentata, ona mogu istovremeno imati više mehanizama delovanja (Regnault-Roger, 1997), pa tretirani insekti teže razvijaju rezistentnost na njih (Enan, 2001, 2005a, b; Kostyukovsky *et al.* 2002; Priestley *et al.* 2003; Ntalli and Menkissoglu–Spiroudi, 2011). Veoma mali broj etarskih ulja i njihovih dominantnih komponentata su toksični za sisare. Zahvaljujući svojoj velikoj isparljivosti, ona su neperzistentna, sa vremenom poluraspada manjim od 24 časa. Ove osobine, etarska ulja čine bezbednim za životnu sredinu (Isman *et al.*, 2011).

#### **2.1.4.1. Prisustvo etarskih ulja u biljkama– uticaj faktora životne sredine**

Etarska ulja su zastupljena u celom biljnom carstvu, a posebno se ističu familije: *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Lauraceae*, *Zingiberaceae*, *Myrthaceae*, *Rutaceae*, *Apiaceae* i *Pinaceae* (Gorunović i Lukić, 2001). Treba istaći da kod iste biljne vrste količina i sastav etarskog ulja varira u zavisnosti od uslova sredine. Količina dostupne vode ima veliki uticaj na sadržaj i sastav aktivnih materija u aromatičnim biljakama. Nedostatak,

kao i višak vode u zemljištu, može značajno smanjiti sadržaj etarskog ulja, dok optimalna obezbeđenost zemljišta vodom može povećati sadržaj etarskog ulja za 0.3-0.5 %. Temperaturni uslovi i svetlost su takođe veoma značajani faktori koji utiču na sastav i količinu etarskog ulja u biljkama. Kod biljaka gajenih u oblastima sa više svetlosti, fotosintetska aktivnost je izraženija, pa one daju više etarskog ulja. Takođe, u toku fotosinteze, fotolizom se u procesu esterifikacije odstranjuje molekul vode što pozitivno utiče na stabilnost estara koji etarskim uljima daju jači miris. Zemljište na kome biljka raste ima značajan uticaj na kvalitativna i kvantitativna svojstva biljke preko svog mehaničkog sastava, pH vrednosti, sadržaja i dostupnosti hranljivih elemenata (Jevđović i sar., 2011).

#### **2.1.4.2. Hemijiski sastav etarskih ulja**

Etarska ulja predstavljaju složene smeše prirodnih komponenata među kojima preovladavaju dve grupe jedinjenja različitog biosintetskog porekla: (1) terpeni i terpenoidi i (2) aromatične i alifatične komponente (Pichersky *et al.*, 2006; Bakkali *et al.*, 2008). U sastavu etarskog ulja jedna od komponenata je obično zastupljena u većem procentu i to je dominantna komponenta, dok su ostale komponente prisutne u znatno nižem procentu. Terpeni su derivati izoprena (2-metil-1, 3-butadiena). Terpeni koji najčešće ulaze u sastav etarskih ulja su monoterpeni ( $C_{10}$ ) i seskviterpeni ( $C_{15}$ ), ali se javljaju i hemiterpeni ( $C_5$ ), diterpeni ( $C_{20}$ ), triterpeni ( $C_{30}$ ) i tetraterpeni ( $C_{40}$ ) (Aharoni *et al.*, 2005; Tripathi *et al.*, 2009). Biohemijska modifikacija terpena, odnosno njihova oksidacija, dovodi do nastajanja njima srodnih jedinjenja, terpenoida (Ramak *et al.*, 2014). U etarskim uljima monoterpeni su najzastupljenije komponente, javljaju se u 90 % etarskih ulja, dok se aromatične komponente zastupljene u nešto nižem procentu (Bakkali *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009). Glavne funkcionalne klase terpena su: aciklični, monociklični i biciklični ugljovodonici (mircen,  $\delta$ -3-karen, para-cimen,  $\gamma$ -terpinen,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -pinen, sabinen i dr.); aciklični, monociklični i biciklični alkoholi (geraniol, linalol, citronelol, mentol, a-terpineol, karveol, borneol, fenhol i dr.); aciklični aldehidi (geranial, neral, citronelal i dr.); aciklični, monociklični i biciklični ketoni (tegeton, karvon, pulegon, kamfor, fenhon, tujon i dr.); aciklični, monociklični i biciklični estri (linalil acetate ili propionat, citronelil acetat, a-terpinil acetate, isobornil



acetate); etri (1,8-cineol, mentofuran); fenoli (timol, karvakrol); peroksidi (askaridol) i epoksidi (kariofilen oksid). Glavne funkcionalne klase aromatičnih komponenata etarskih ulja su: alkoholi (cinamil alkohol); aldehidi (cinamaldehyd); fenoli (kavikol, eugenol); metoksi derivati fenilpropana (anetol, elemicin, estragol, metileugenol) i metilen dioksi jedinjenja (apiol, miristicin, safrol) (Bakkali *et al.*, 2008; Tripathi *et al.*, 2009; Ntalli and Menkissoglu–Spirodi, 2011). Kada su molekuli optički aktivni, mogu formirati dva enantiomera koja su često prisutna u različitim biljkama (Bakkali *et al.*, 2008). Na primer, R-(-)-karvone je dominantna komponenta etarskog ulja spiriminta, dok je S-(+)-karvon, dominantna komponenta mirođije i kima (Theodore *et al.*, 1971). Pored ovih komponenata u sastav etarskog ulja ulaze i aciklična jedinjenja, niže monokarbonske organske kiseline (mravlja, sirćetna, valerijanska), kao i kumarini, bergapten i umbeliferon (Gorunović i Lukić, 2001).

Hemijski sastav etarskih ulja različitih vrsta porodice *Apiaceae* je dosta raznovrstan. U najvećoj meri ima monoterpena, zatim seskviterpena, fenilpropanoide, ftalida, oktanola i oktil estara, trimetilbenzaldehyda i alifatičnih aldehida, dok diterpena ima malo. Hemijski sastav etarskih ulja može pokazivati varijabilnost i na tu varijabilnost mogu uticati različiti faktori: genotip biljke, fenofaza ontogenetskog razvoja biljke, što je veoma značajno za definisanje optimalnog vremena prikupljanja biljnog materijala, ekološki faktori (temperatura, vlažnost i aeracija zemljišta, mineralne soli u podlozi, nadmorska visina, dužina izloženosti svetlu i kvalitet svetlosti, vlažnost vazduha i vazдушna strujanja), način obrade biljne sirovine, kao i način izolacije etarskog ulja (Kovačević, 2004).

### **2.1.4.3. Biološka funkcija etarskih ulja**

Biološka funkcija etarskih ulja se ogleda u činjenici da ona predstavljaju jedan od značajnih agenasa preko kojih biljka ostvaruje interakciju sa životnom sredinom. Miris biljaka, koji potiče od isparljivih komponenata etarskih ulja, privlači oprašivače i prirodne neprijatelje herbivora (Hilker, 2005; Bakkali *et al.*, 2008), dok sa druge strane, svojim mirisom, ukusom i aktivnošću svojih biohemijjskih komponenata, odbijaju herbivore (Schoonhoven *et al.*, 2005). Etarska ulja poseduju širok spektar delovanja na insekte: repelentno delovanje, atraktantno, antifidno, insekticidno, mogu uticati na

indekse rasta i ishrane insekata, a mogu smanjiti i njihovu reprodukciju svojim ovicidnim i larvicidnim efektom (Regnault-Roger, 1997). You i saradnici (2015), su utvrdili da etarska ulja biljaka *Murraya tetramera* Huang i *Murraya kwangsiensis* Huang iskazuju repelentno delovanje na *Tribolium castaneum* Herbst. Beli bor, *Pinus sylvestris* L., nakon što obična borova osa, *Diprion pini* L., u njegove iglice položi jaja, luči volatilne materije koje privlače *Chrysonotomyia ruforum* Krausse, vrstu koja parazitira jaja obične borove ose (Hilker, 2005). Etarsko ulje biljke *Myristica fragrans* L., poseduje repelentna i antifidna svojstva, deluje kontaktno i inhalaciono i značajno utiču na redukciju potomstva kod vrsta *Sitophilus zeamais* Motsch. i *T. castaneum* (Huang *et al.*, 1997). Ozols i Bicevskis (1979) su utvrdili da etarska ulja bora i jele deluju atraktantno na velikog osmozubog smrčinog potkornjaka, *Ips typographus* L. Etarska ulja timjana (*Thymus vulgaris* L.) i origana (*Origanum vulgare* L.) iskazuju insekticidnost prema larvama *Glyphodes pyloalis* Walker, a takođe dovode i do redukcije rasta i ishrane ovih gusenica (Yazdani *et al.*, 2014), dok etarsko ulje *Origanum onites* L., kao i njegove dve dominantne komponente, karvakrol i timol pokazuju kontaktnu toksičnost prema larvama četvrtog i petog stupnja *Thaumatopoea wilkinsoni* Tams, (Cetin *et al.*, 2006., Cetin *et al.*, 2007). Etarsko ulje peršuna (*Petroselinum crispum* L.) deluje ovicidno na jaja bakrenastog moljca, *Plodia interpunctella* Hübner (Rafiei-Karahroodi *et al.*, 2011). Takođe, utvrđeno je da jedno etarsko ulje, može imati različito dejstvo na različite vrste insekata. Etarsko ulje *Tanacetum vulgare* L. na *Rhyzopertha dominica* F. deluje atraktantno, na *Sitophilus granarius* L. toksično, a na *Tribolium confusum* DuVal repelentno (Kurowska *et al.*, 1993).

Etarska ulja poseduju i antimikrobna i antimikotična svojstva. Studija Rocha Vilela i saradnika (2009) je pokazala da etarsko ulje dobijeno iz lista biljke *Eucalyptus globulus* Labill ostvaruje potpunu inhibiciju rasta skladištnih gljiva *Aspergillus flavus* Link i *Aspergillus parasiticus* Speare. Etarsko ulje dobijeno iz listova i stabljika biljke *Orthosiphon stamineus* Benth. ima inhibitorno dejstvo na rast micelija fitotoksičnih gljiva kao sto su: *Botrytis cinerea* Pers ex Fr, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium solani*, *Colletotrichum capsici* Syd. i *Phytophthora capsici* Leonian (Hossain *et al.*, 2008). Mimica-Dukić (1993) utvrdila je da etarska ulja *Mentha longifolia* L. i *M.*

*arvensis* L. (*Lamiaceae*) inhibitorno deluju na rast bakterija, dok je efekat na rast gljiva znatno slabiji.

Činjenica da etarska ulja nekih biljaka mogu iskazivati alelopatsko delovanje na druge biljke je u velikoj meri povećala interesovanje za etarska ulja kao potencijalne herbicide (Dayan *et al.*, 2009). Etarsko ulje limunske trave, *Cymbopogon citratus* Stapf., značajno smanjuje klijavost semena i rast sejanaca velikog muhara *Echinochloa crus-galli* L. (Poonpaiboonpipat *et al.*, 2013), dok etarsko ulje biljke *Artemisia scoparia* ometa rast i deluje fitotoksično na pet korovskih vrsta *Achyranthes aspera* Linn., *Cassia occidentalis* L., *Parthenium hysterophorus* L., *E. crus-galli* i *Ageratum conyzoides* L. (Kaur *et al.*, 2010).

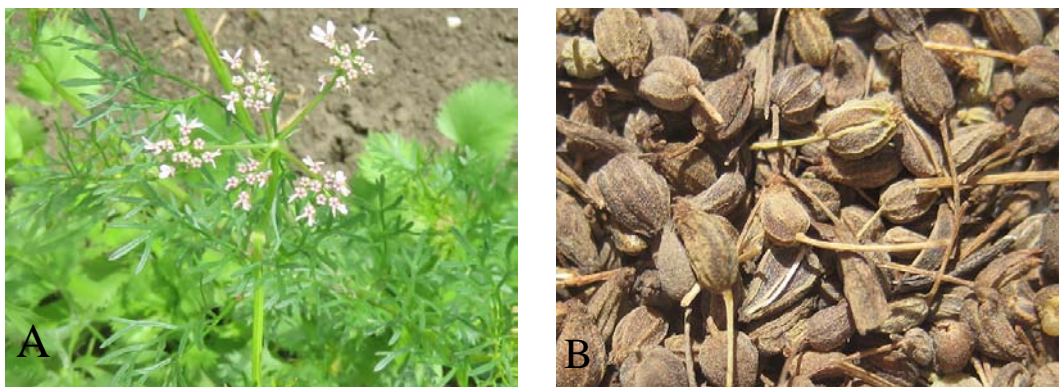
Mnoga etarska ulja imaju blagotvorno dejstvo na ljudsko zdravlje, kao i na zadovoljenje drugih čovekovih potreba. Etarska ulja primenjena u aromaterapiji poboljšavaju rad disajnih organa, deluju relaksirajuće pri nervnoj napetosti, stimulišu rada srca i krvotoka, opuštaju glatku muskulaturu. Takođe, mnoga etarska ulja imaju antibakterijsko, antifungalno, antivirusno i diuretičko dejstvo i široku primenu u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehrambenoj industriji (Bakkali, *et al.*, 2008).

#### **2.1.4.4. Etarska ulja biljaka iz familije Apiaceae**

Familija Apiaceae pripada redu *Araliales*. Familija obuhvata oko 300 rodova sa oko 3000 vrsta rasprostranjenih po čitavoj Zemlji, uglavnom u umerenoj zoni. U Srbiji familija Apiaceae je zastupljena sa 53 roda i 138 vrsta (Nikolić, 1973). Vrste koje pripadaju familiji Apiaceae su jednogodišnje, dvogodišnje i višegodišnje zeljaste biljke i retko polužbunovi.

Anis (*Pimpinella anisum* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka čije je etarsko ulje prijatnog mirisa i slatkog aromatičnog ukusa (slika 1). Dobija se destilacijom pomoću vodene pare iz zrelih svežih plodova. Sadrži oko 80 – 90 % anetola. Mirođija (*Anethum graveolens* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka (slika 2). Etarsko ulje se dobija destilacijom iz ploda i iz nadzemnog dela biljke, a dominantni sastojak je karvon koji je u etarskom ulju zastupljen sa 40-50 % (Jevđović i sar., 2011). Morač (*Foeniculum vulgare* Mill.) je dvogodišnja zeljasta biljka, a etarsko ulje ove biljke dobija se

destilacijom ploda morača (slika 3). Prijatnog je mirisa i slatkog ukusa koji je zasnovan na njegovom glavnom sastojku, anetolu, koga u etarskom ulju ima 50-70 %.



Slika 1. Anis (*Pimpinella anisum* L.): A – Nadzemni deo biljke; B – seme (foto: I. Kostić)



Slika 2. Mirođija (*Anethum graveolens* L.): A – Nadzemni deo biljke; B – seme (foto: I. Kostić)

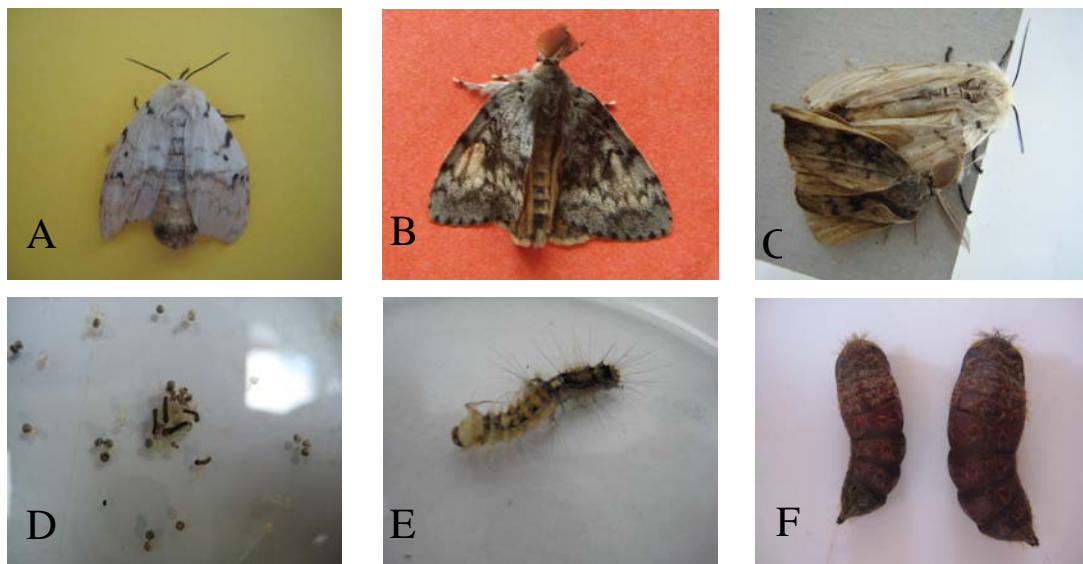


Slika 3. Morač (*Foeniculum vulgare* Mill.): A – Nadzemni deo biljke; B – seme (foto: I. Kostić)

## 2.2. Gubar (*Lymantria dispar* L.)

### 2.2.1. Sistematsko mesto gubara

Gubar pripada klasi Insecta, redu Lepidoptera, podredu Macrolepidoptera, porodici Erebidae, subporodici Lymantriinae, rodu *Lymantria*. Razvojni stadijumi gubara su prikazani na slici 4.



Slika 4. Razvojni stadijumi gubara: A – ženka; B – mužijak; C – kopulacija; D – piljenje gusenica; E – gusenica prilikom presvlačenja; F – lutke mužijaka i ženke (foto: I. Kostić)

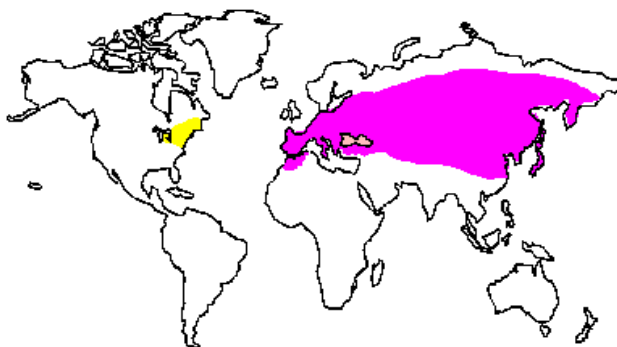
### 2.2.2. Areal rasprostranjenja gubara

Zahvaljujući svojoj ekološkoj plastičnosti i prilagodljivosti gubar zauzima veoma širok areal, sa tendencijom daljeg širenja (Slika 5). Prostire se na području od Severne Afrike, preko cele Evrope, Male Azije, Sibira, sve do Kine, Koreje i Japana, gde je izdvojena nova, azijska forma (Schaefer and Mallner, 1992; Pogue and Schaefer, 2007). U Evropi je gubar rasprostranjen od 60° geografske širine u srednjoj Skandinaviji, do 35° geografske širine na obalama Sredozemnog mora. Na Balkanskom poluostrvu je autohtona vrsta sa optimalnim uslovima za razviće, javlja se na područjima do 1600m nadmorske visine, ali se za predele iznad 1000 m ne smatra ekonomski značajnom štetočinom (Janković, 1954). Gubar je prenet u Severnu Ameriku iz Francuske 1869.



Godine (Forbush and Fernald, 1896) i od tada se širi kontinentom, tako da ga je sada moguće naći u 19 država severoistočnog dela Amerike, na površini od  $10^6$  km<sup>2</sup> (Liebhold *et al.*, 1992; Liebhold *et al.*, 1995).

Azijska forma se od evropske razlikuje morfološki, ženke su lakše i mogu da lete, što za posledicu ima aktivno širenje gubara u stadijumu imaga, a ne samo u stadijumu gusenice, što je slučaj sa evropskom formom. S obzirom na klimatske uslove i zastupljenosti vrsta drveća, naša zemlja kao i čitava Evropa spada u vrlo pogodna područja za naseljavanje azijske forme gubara (Matsuki *et al.*, 2001).



Slika 5. Rasprostranjenost gubara

Izvor: USDA Forest Service - Northeastern Research Station "Gypsy Moth in North America"

### 2.2.3. Suzbijanje gubara

U suzbijanju gubara koriste se preventivne i represivne mere (Mihajlović, 2008).

#### 1. Preventivne mere

Baziraju se na savetima prognozno izveštajne službe zaštite šuma. Vršiti se stalno praćenje stanja populacija gubara na celoj teritoriji naše zemlje različitim metodama (metod stalnih oglednih površina, metod privremenih oglednih površina i maršrutni metod), (Mihajlović, 2008). U Kanadi i SAD, za praćenje populacione gustine gubara koriste se feromonske klopke i na osnovu broja uhvaćenih leptira utvrđuje se brojnost populacije na terenu (Cameron, 1979).

#### 2. Represivne mere (mehaničko – fizičke, hemijske i biološke)

Mehaničko – fizičke mere sastoje se u sakupljanju i uništavanju raznih stadijuma gubara. Hemijske mere se mogu primeniti protiv stadijuma jajeta i gusenice gubara. Za suzbijanje gubara u stadijumu jajeta koristiti se metod natapanje jajnih legala nekim od preparata za zimsko prskanje, a suzbijanje gusenica vrši se aviotretiranjem metodom mikroniranja biotehničkim insekticidima (preparatima na bazi diflubenzurona ili teflubenzurona) kada su gusenice u mlađim stupnjevima. Primena bioloških mera zasniva se na bioinsekticidima na osnovi bakterije *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki kada je gubar u stadijumu mlađih guseničnih stupnjeva i leptira (Mihajlović, 2008). Takođe, utvrđeno je da Zvitermicin A (antibiotik) pospešuje toksični efekat Bt preparata (sinergističko delovanje), a pritom sam ne poseduje toksični efekat prema gusenicama gubara (Broderick *et al.*, 2000). Poseban vid biološkog metoda, koji je zasnovan na repelentnom dejstvu za gusenice gubara, koristi se u SAD i Kanadi. Naime, ranije je pomenuto da je lišće vrsta biljaka iz roda *Fraxinus* odbojno za gusenice gubara i da ga neće jesti po cenu uginuća od gladi. U SAD-u su izdvojili hemijsku materiju iz jasena i napravili komercijalni preparat kojim se tretiraju šume u kojima je gubar problem. Isprskano lišće ima miris jasenovog lišća i gusenice prestaju da se hrane i uginjavaju od gladi (Marković *et al.*, 1996).

U SAD se koristi i metod dezorijentacije gubarevih mužjaka. Naime, u periodu rojenja leptira, šuma se prska feromonom ženke, mužijaci su zbunjeni, ne uspevaju da nađu ženke, tako da one ostaju neoplođene. Trenutno su u upotrebi dva sintetičke formulacije feromona, Hercon Disrupt® II, u vidu plastičnih laminarnih pahuljica i SPLAT GM™, u vidu parafina (Onufrieva *et al.*, 2010).

Entomopatogena gljiva, *Entomophaga maimaiga* Humber, u prirodi ima značajnu ulogu u redukciji brojnosti populacije gubara (Hajek, 2001). Proizvodi dva tipa spora, konidije, koje vrše infekciju gusenica gubara u rano proleće i azigospore, koje prezimljuju u zemljištu i kličaju u proleće, vršeći zarazu nove generacije gusenica gubara (Hajek *et al.*, 2000; Hajek *et al.*, 2004). Ova gljiva je izolovana i opisana kao prirodni neprijatelj gubara u Japanu. U Severnu Ameriku je introdukovana 1910-11 (Speare and Colley, 1912), dok je u Evropi, prva zemlja u koju je ova gljiva uspešno introdukovana, Bugarska, 1999. godine (Pilarska, 2000). *E. maimaiga* se polako širi Balkanskim poluostrvom i predpostavlja se da je već prisutna u nekim regionima Srbije. U toku gradacije koja ja trajala u Srbiji od 2003 do 2005 godine, do povećanja

brojnosti gubara nije došlo jedino u blizini bugarske granice, u regionu Pirota (Tabaković-Tošić *et al.*, 2011). Veštačko širenje ove gljive ne zahteva velika finansijska ulaganja, potrebna je mala količina patogena, a oprema za aplikaciju na terenu nije skupa, što gljivu *E. maimaiga* čini veoma perspektivnim biološkim preparatom (Tabaković-Tošić, 2014).

U poslednje vreme se sve više radi na razvijanju novih metoda biološke borbe i poboljšanju postojećih u cilju suzbijanja gubara, a pritom i očuvanju životne sredine. Iz tog razloga vrše se stalna ispitivanja u cilju povećanja efikasnost NVP, unapređuju se varijeteti B.t. preprata (Khodyrev *et al.*, 2010), kao i seksualnih atraktanata - feromonskih klopki (Solari *et al.*, 2007). Takođe, ispituje se i mogućnost upotrebe sekundarnih metabolita biljaka koji poseduju toksično delovanje ili mirisna svojstva koja sprečavaju ishranu (Guo-cai *et al.*, 2005), na primer upotreba metil jasmonata u sprečavanju atraktantnog signala sadnica toplola za mlade larve gubara (Zeng-hui *et al.*, 2006).



## Naučni cilj istraživanja

Osnovni cilj ovog istraživanja je utvrđivanje efikasnosti etarskih ulja anisa, morača i mirođije i njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona, u smanjivanju brojnosti larvi gubara, radi njihovog potencijalnog korišćenja u zaštiti bilja.

Ciljevi istraživanja su:

- Utvrditi antifidnu aktivnost ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata na gusenice gubara drugog stupnja;
- Utvrditi rezidualnu kontaktnu toksičnost ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata na gusenice gubara drugog stupnja;
- Utvrditi digestivnu toksičnost ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata na gusenice gubara drugog stupnja;
- Utvrditi vrednost relativne brzine rasta gusenica gubara četvrtog stupnja, hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata;
- Utvrditi vrednost relativne brzine konzumacije hrane gusenica gubara četvrtog stupnja, hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata;
- Utvrditi vrednosti parametara efikasnost asimilacije, efikasnosti konverzije unete i svarene hrane u biomasu gusenica gubara četvrtog stupnja, hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata;
- Razmotriti mogućnost primene etarskih ulja anisa, morača i mirođije i njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona, u cilju smanjenja brojnosti gubara.

## Osnovne hipoteze

- Etarska ulja anisa, morača i mirođije ispoljavaju antifidno delovanje, kontaktnu i digestivnu toksičnost prema gusenicama gubara;
- Dominantna komponenta etarskih ulja anisa i morača, trans-anetol, deluje antifidno i ispoljava rezidualnu kontaktnu i digestivnu toksičnost prema gusenicama gubara;
- Dominantna komponenta etarskog ulja mirođije, karvon, deluje antifidno i ispoljava rezidualnu kontaktnu i digestivnu toksičnost prema gusenicama gubara;
- Etarska ulja anisa, morača i mirođije i njihove dominantne komponente utiču na vrednost relativne brzine rasta gusenica gubara;
- Etarska ulja anisa, morača i mirođije i njihove dominantne komponente utiču na vrednost relativne brzine konzumacije hrane gusenica gubara;
- Etarska ulja anisa, morača i mirođije i njihove dominantne komponente utiču na efikasnost asimilacije i efikasnosti konverzije unete i svarene hrane u biomasu gusenica gubara;
- Etarska ulja anisa, morača i mirođije, kao i njihove dominantne komponente, trans-anetol i karvon, mogle bi da se koriste u cilju smanjenja brojnosti gubara.

### 3. Materijal i metode rada

#### 3.1. Biljni materijal, dominantne komponente, standard

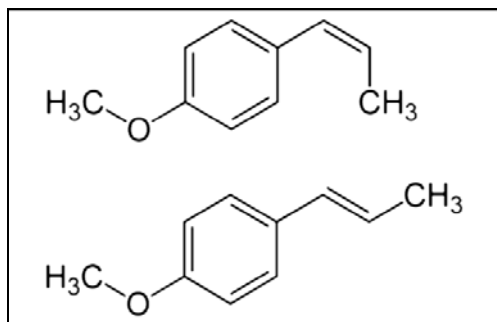
##### Biljni materijal

Sve tri biljne vrste iz čijih semena su ekstrahovana etarska ulja, pripadaju familiji *Apiaceae*. Biljke anis, mirođija i morač gajene su na eksperimentalnim parcelama Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr. Josif Pančić” u Pančevu. Semena ovih biljaka sakupljena su u proizvodnoj vegetaciji 2011. godine. Etarska ulja biljaka anisa, morača i mirođije dobijena su destilacijom njihovih semena (ploda) pomoću vodene pare u aparatu po Klevendžeru po propisu Ph. Jug. IV u laboratoriji Instituta za proučavanje lekovitog bilja “Dr. Josif Pančić”.

##### Dominantne komponente

Dominantne komponente etarskih ulja biljaka anisa, mirođije i morača, karvon i trans-anetol su proizvedene u Sigma-Aldrich-u (<http://www.sigmaaldrich.com>)

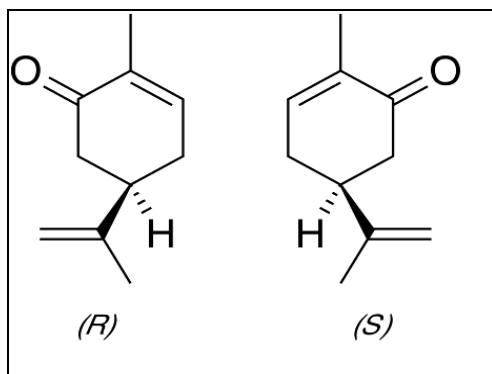
Trans-anetol je fenilpropan, vrsta aromatičnog jedinjenja (nezasićeni monoterpenski etar), koje je prisutno u mnogim etarskim uljima. Njegova molekulska formula je  $C_{10}H_{12}O$ , a strukturna formula je prikazana na slici 6.



Slika 6. Strukturne formule cis-anetola (gore) i trans-anetola (dole).

Postoje dva izomera anetola, cis- i trans-. Značajno zastupljeniji i prihvatljiviji za primenu je trans-anetol i on se smatra odgovornim za karakterističan miris i ukus etarskih ulja anisa i morača, obzirom da predstavlja njihovu dominantnu komponentu.

Karvon je monoterpenski keton. Njegova molekulska formula je  $C_{10}H_{14}O$ , a strukturna formula je prikazana na slici 7.



Slika 7. Strukturna formula karvona

Karvon formira dva enantiomera, za koje je karakteristično da se razlikuju u mirisnim svojstvima: R-(-)-karvone (levogiri) miriše kao etarsko ulje spiriminta u kojem je dominantna komponenta, dok S-(+)-karvon (desnogiri), miriše kao etarsko ulje kima, ili mirođije (Theodore *et al.*, 1971).

### Standard

Biološki komercijalni preparat NeemAzal (a.m. 0.09 % azadiraktina) korišćen je kao standard radi poređenja rezultata sa ispitivanim etarskim uljima i njihovim dominantnim komponentama.

#### 3.1.1. Hemijska kvalitativna i kvantitativna analiza etarskih ulja

Kvalitativni i kvantitativni sastav uzoraka etarskih ulja anisa, mirođije i morača uređen je gasnrohromatskom analizom u Institutu za proučavanje lekovitog bilja "Dr. Josif Pančić".

### **3.1.2. Eksperimentalne grupe u oglecima**

U oglecima su korišćeni alkoholni rastvori etarskih ulja anisa, morača, mirođije, alkoholni rastvori dominantnih komponenata trans-anetola i karvona i vodeni rastvor biološkog preparata NeemAzal i to u sledećim koncentracijama:

- u ogledu za antifidno dejstvo u koncentracijama 0.1, 0.5 i 1.0 %;
- u ogledu za ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti i digestivne toksičnosti u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 %;
- u ogledu za ispitivanje performansi gusenica gubara (indeksi rasta i ishrane) u koncentracijama 0.1, 0.25, 0.5 %;

Kao rastvarač za spravljanje rastvora etarskih ulja i dominantnih komponenata korišćen je 96 % alkohol, sem u slučaju ogleada antifidnog dejstva, gde je korišćen 50 % alkohol, kako bi se izbegao fitotoksični efekat 96 % alkohola na diskove lišća hrasta. Za spravljenje rastvora NeemAzal-a korišćena je destilovana voda.

Kao kontrolna eksperimentalna grupa, u ogledu za antifidnu aktivnost, korišćen je 50 % alkohol, u koji su lisni diskovi potapani u periodu od tri sekunde. U ogledu za ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi, dno petri posude je tretirano 96 % alkoholom. Prilikom ispitivanja digestivne toksičnosti i performansi gusenica gubara (indeksi rasta i ishrane), veštačka hrana u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi, bila je bez dodataka etarskih ulja anisa, morača, mirođije ili njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona, kao i standarda, Neemazal-a.

### **3.2. Gajanje gubara u laboratorijskim uslovima**

Jajna legla gubara korišćena u eksperimentima sakupljana su u Lipovičkoj šumi tokom jeseni 2011., 2012. i 2013. godine. Do početka ogleada, jajna legla su čuvana u frižideru na temperaturi od 4<sup>0</sup>C u laboratoriji Instituta za šumarstvo u Beogradu.

Jaja korišćena u ogledu, izdvajana su iz donje polovine jajnog legla da bi se izbegao uticaj variranja u kvalitetu jaja na rezultate ogleada. Jaja su prvo mehanički očišćena od dlačica, a potom su površinski dezinfikovana potapanjem u 0.1 % rastvor natrijum-hipohlorita u trajanju od 5 minuta. Nakon toga su 10 minuta ispirana

destilovanom vodom i na kraju osušena na sobnoj temperaturi. Vitalna jaja iz 25 legala su pomešana i stavljena u staklene cilindre na piljenje neposredno pre početka eksperimenta. Po 100 jaja iz svakog legla je u epruvetama iznošeno na piljenje u arboretum Šumarskog fakulteta tokom januara 2012., 2013. i 2014. godine kada su postavljani ogledi. Piljenje u laboratoriji je inicirano po piljenju 50 % populacije u Arboretumu sredinom aprila (Milanović, 2011). Iniciranje piljenja u laboratoriskim uslovima vršeno je u klima komori na temperaturi 25<sup>0</sup>C. Do trećeg larvenog stupnja gusenice gubara su gajene grupno, po deset individua i jednoj petri posudi dimenzija 90 x 14 mm. Od trećeg stupnja pa do četvrtog, gusenice su gajene pojedinačno. Svakog dana gusenice su hranjene veštačkom hranom (HWG dijeta – engl. *high wheatgerm diet*) (slika 8). Veštačka hrana, korišćena za gajenje gusenica gubara i testove digestivne toksičnosti i ispitivanje performanse gusenica gubara (indeksi rasta i ishrane) pravljena je po sledećoj recepturi, za dobijanje količine 100 ml: pšenične klice – 12 g, Casein – 2.5 g, Salt Mixture Wesson – 0.8 g, Sorbic Acid – 1.2 g, Vanderzant Vitamin Mixture – 1g, Agar – 1.5 g i destilovana voda 82 ml.

Gusenice gubara su gajene u klima komori pod konstantnim optimalnim uslovima, T=23±1<sup>0</sup>C, RH=65±5%, neonsko difuzno osvetljenje intenziteta 30159 candela 15 časova i tama 9 časova.



Slika 8. A – petrijeve posude u kojima su gusenice gubara gajene na veštačkoj hrani; B, C – veštačka hrana za gajenje gusenica gubara (foto: I. Kostić)

### 3.3. Laboratorijska oprema

Za pripremu diskova od lišća hrasta (*Quercus robur*) korišćena su klešta za biušenje rupa prečnika 30 mm, petri posude dimenzije 90 × 14 mm, mikropipeta ISO LAB (Gmbh) vol. 10-100 µl, tehnička vaga sa 4 decimale marke Kern, skener Mustek

1200 UB Plus za snimanje početnih lisnih površina i površina nakon konzumacije, klima komora proizvođača Sanyo za gajenje gusenica gubara i izvođenje eksperimenata, sušnica marke Sanyo MOV-212 za sušenje gusenica, hrane i ekskrementa, magnetna mešalica sa grejačem firme VELP Scientifica - model T ARE (Heating magnetic stirrer with timer) za pravljanje veštačke hrane za gajenje gusenica gubara, filter papir Whatman br. 1, razno laboratorijsko stakleno posudje, 96 % alkohol i destilovana.

### **3.4. Ispitivanje dejstva etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara**

#### **3.4.1. Ispitivanje antifidne aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja**

Ispitivanje antifidne aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača na gusenice gubara drugog stupnja vršeno je u dva nezavisna ogleda:

1. Ogled bez izbora
2. Ogled sa izborom

1. Ogled bez izbora

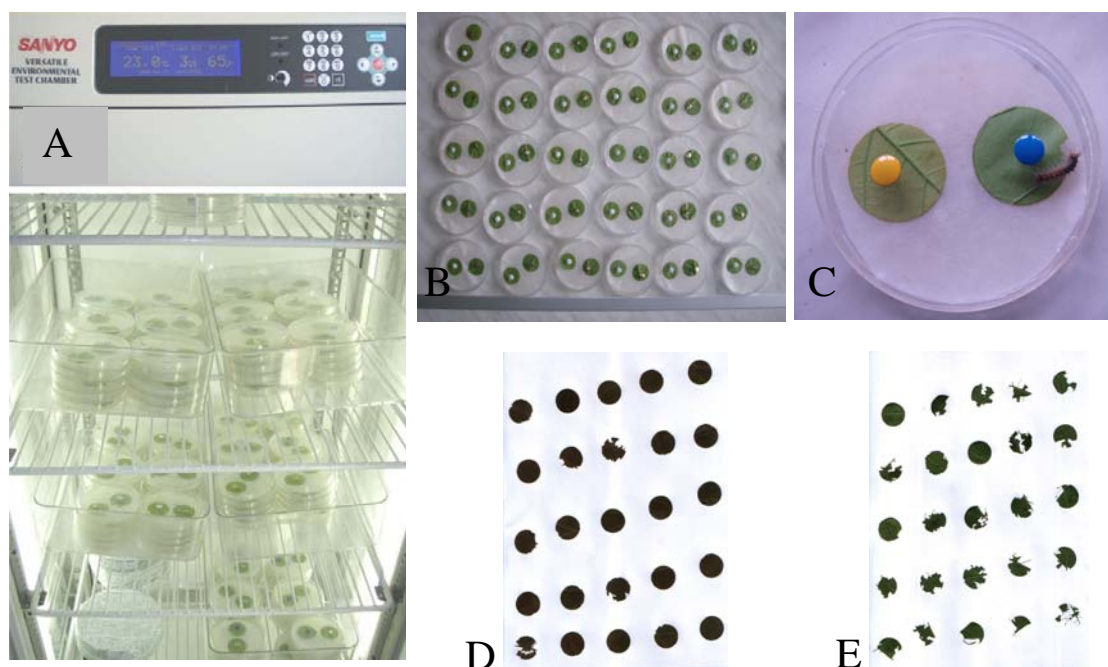
Nakon presvlačenja iz prvog u drugi larveni stupanj, gusenice drugog stupnja su izložene gladovanju u trajanju od 24 časa. U petri posude, dimenzije 90 × 14 mm, nalivana je podloga voda-agar (2 %), debljine 2 mm, koja je po prelasku u čvrsto stanje prekrivena filter papirom. Pomoću klešta za pravljenje rupa prečnika 30 mm formirani su jednoobrazni diskovi listova hrasta (*Quercus robur*). Zatim su lisni diskovi tretirani potapanjem (u trajanju od 3 sekunde) u rastvore etarskih ulja anisa, mirođije i morača, željene koncentracije (0.1, 0.5 i 1.0 %). Za poređenje rezultata korišćen je NeemAzal rastvoren u destilovanoj vodi u koncentracijama identičnim koncentracijama rastvora etarskih ulja, dok su kontrolni diskovi potapani u rastvarač (50 % etanol). Nakon isparavanja rastvarača sa tretiranih lisnih diskova (u trajanju od 30 minuta), u svaku

petri posudu unet je jedan tretiran ili kontrolni lisni disk, koji je čiodom fiksiran za podlogu. Zatim je u svaku petri posudu uneta po jedna gusenica gubara drugog stupnja. Ogled je trajao 48 časova u klima komori u kojoj su održavani konstantni optimalni uslovi:  $T=23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH}=65\pm 5\%$ , neonsko difuzno osvetljenje intenziteta 30159 candela 15 časova i tama 9 časova, u trajanju od 48 časova. Po isteku ovog vremena ostaci konzumiranih diskova su skenirani u rezoluciji od 200 dpi u jpg formatu. Utvrđivanje konzumirane površine za svaki lisni disk je vršeno pomoću programa ImageTool (UTHSCSA 1996-2002). Konzumiranu površinu smo dobili oduzimanjem preostale površine lisnog diska nakon završetka ogleda, od poznate površine pre početka ogleda (slika 9). Svaka eksperimentalna grupa je imala 25 ponavljanja.

Na osnovu površine konzumiranog lisnog diska u testu bez izbora izračunavan je apsolutni antifidni koeficijent po formuli:

$$A = (CC - EE)/CC \times 100$$

gde je CC konzumirana površina kontrolnog lisnog diska, a EE konzumirana površina tretiranog lisnog diska.



Slika 9. Oglad sa izborom za ispitivanje antifidne aktivnosti primenjenih sredstava  
 A – klima komora u kojoj je u kontrolisanim uslovima obavljen ogled; B – ogled sa izborom; C – petri posuda sa tretiranim i kontrolnim lisnim diskom; D, E – skenirani lisni diskovi hrasta po završetku ogleda (tretirani i kontrolni) (foto: A – S. Milanović; B, C, D, E – I. Kostić)



## 2. Oglad sa izborom

Uslovi oglada sa izborom su bili slični kao i oglada bez izbora osim što su u svaku petri posudu uneta dva lisna diska. Jedan lisni disk tretiran etarskim uljem, dominantnom komponentom ili NeemAzal-om, a drugi, kontrolni tretiran 50 % alkoholom (rastvaračem). Lisni diskovi su u petri posudama fiksirani čiodom za podlogu (agar i filter papir), a zatim je u svaku petri posudu uneta po jedna gusenica gubara drugog stupnja. Nakon 48 časova odvijanja oglada u klima komori, ostaci diskova su skenirani i analizirani na isti način kao i u ogledu bez izbora (slika 10).

Na osnovu količine hrane konzumirane u testu sa izborom izračunavan je relativni antifidni koeficijent po formuli:

$$R = (C - E)/(C + E) \times 100$$

gde je C konzumirana površina kontrolnog lisnog diska, a E konzumirana površina tretiranog lisnog diska.



Slika 10. Oglad bez izbora za ispitivanje antifidne aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona prema gusenicama gubara drugog stupnja: A – petri posuda sa lisnim diskom (tretiranim ili kontrolnim); B – ishrana gusenice gubara lisnim diskom; C, D – skenirani lisni diskovi hrasta po završetku oglada bez izbora (tretirani (C) i kontrolni (D)) (foto: I. Kostić)

Mera antifidnog delovanja testiranih koncentracija etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i standarda, biološkog preparata NeemAzal-a, je totalni antifidni koeficijent, koji smo računali po formuli:

$$T = A + R$$

T – totalni antifidni koeficijent

A – apsolutni antifidni koeficijent

R – relativni antifidni koeficijent

Ispitivanje antifidene aktivnosti dominantne komponente etarskih ulja anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente etarskog ulja mirođije, karvona izvršeno je na identičan način kao i ispitivanje antifidne aktivnosti njihovih etarskih ulja. Trans-anetol i karvon su testirani u istim koncentracijama kao i njihova etarska ulja, a za poređenje rezultata je takođe korišćen NeemAzal.

Ogledi za ispitivanje antifidene aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a urađeni su u laboratoriji Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“.

### **3.4.2. Ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja**

Na dno svake petri posude dimenzije  $90 \times 14$  mm nanošeno je 0.5 ml rastvora ispitivanih etarskih ulja u željenim koncentracijama: 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 %. Za poređenje rezultata korišćen je NeemAzal u koncentracijama identičnim koncentracijama rastvora etarskih ulja. Dno petri posude u kontroli tretirano je samo rastvaračem, 96 %-nim etanolom. Nakon sušenja depozita i isparavanja rastvarača, u trajanju od 30 minuta na temperaturi  $25^{\circ}\text{C}$ , u svaku petri posudu je unešeno po 10 gusenica drugog stupnja. Nakon 24 časa gusenice su prebačene u čiste petri posude, u kojima su ostale do kraja ogleda i gde su hranjene standardnom veštačkom hranom za gubara. Ogled je postavljen u pet ponavljanja. Tokom ogleda petri posude su smeštane u klima komoru u kojoj su održavani konstantni optimalni uslovi:  $T=23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH}=65\pm 5\%$ , neonsko difuzno osvetljenje intenziteta 30159 candela 15 časova i tama 9 časova. Ocena smrtnosti gusenica obavljena je nakon 24, 48, 72, 96 i 120 časova od postavljanja ogleda.

U ovom ogledu pored praćenja mortaliteta izazvanog rezidualnom kontaktnom toksičnošću ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i standarda, praćen je i njihov uticaj na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj.

Ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti dominantne komponente etarskih ulja anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente etarskog ulja mirođije,

karvona vršeno je na identičan način kao i ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti njihovih etarskih ulja. Trans-anetol i karvon su testirani u istim koncentracijama kao i njihova etarska ulja, a za poređenje rezultata je takođe korišćen NeemAzal.

‘ Pored praćenja mortaliteta izazvanog rezidualnom kontaktnom toksičnošću trans-anetola i karvona kao i NeemAzal-a, praćen je i njihov uticaj na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj.

Ogledi za ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a urađeni su u laboratoriji Instituta za multidisciplinarna istraživanja.

### **3.4.3. Ispitivanje digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja**

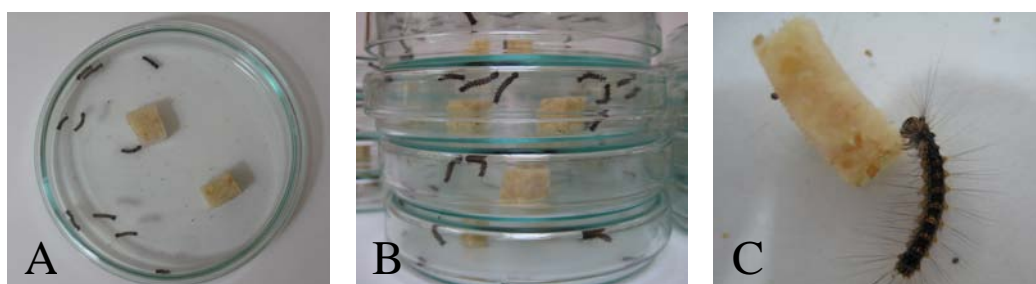
U ogledu za utvrđivanje digestivne toksičnosti korišćena je veštačka hrana u koju su dodavani 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 % rastvori etarskih ulja anisa, mirođije i morača (slika 11). Za poređenje rezultata korišćena je veštačka hrana sa dodatkom rastvora NeemAzal-a u identičnim koncentracijama kao i etarska ulja, dok je u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi korišćena čista veštačka hrana. U ogledima je 10 gusenica gubara drugog stupnja gajeno na kontrolnoj i tretiranoj veštačkoj hrani u petri posudama dimenzije 90 × 14 mm. Svaka eksperimentalna grupa je imala 5 ponavljanja. Gusenice su pre početka oglada bile izložene 24-časovnom gladovanju. U prva 24 časa oglada, gusenice su hranjene veštačkom hranom koja je sadržala etarska ulja, njihove dominantne komponente, ili standard u odgovarajućoj koncentraciji, a zatim je do kraja oglada korišćena veštačka hrana bez ikakvih dodataka. Tokom oglada petri posude su smeštane u klima komoru u kojoj su održavani konstantni optimalni uslovi:  $T=23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH}=65\pm 5\%$ , neonsko difuzno osvetljenje intenziteta 30159 candela 15 časova i tama 9 časov. Mortalitet je kao i u ispitivanju rezidualne kontaktne toksičnosti kontrolisan nakon 24, 48, 72, 96 i 120 časova od početka oglada.

U ovom ogledu pored mortaliteta gusenica izazvanog digestivnom toksičnošću ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, praćen je i njihov uticaj na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj.

Ispitivanje digestivne toksičnosti dominantne komponente etarskih ulja anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente etarskog ulja mirođije, karvona vršeno je na identičan način kao i ispitivanje digestivne toksičnosti njihovih etarskih ulja. Trans-anetol i karvon su testirani u istim koncentracijama kao i njihova etarska ulja, a za poređenje rezultata je takođe korišćen NeemAzal.

Pored praćenja mortaliteta izazvanog digestivnom toksičnošću trans-anetola i karvona kao i NeemAzal-a, praćen je i njihov uticaj na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj.

Ogledi za ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a urađeni su u laboratoriji Instituta za multidisciplinarna istraživanja.



Slika 11. Ogled za ispitivanje digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona na gusenice gubara drugog stupnja: A, B – petrijeve posude u kojima je obavljen ogled za ispitivanje digestivne toksičnosti; D – ishrana gusenice gubara drugog stupnja veštačkom hranom (foto: I. Kostić)

#### **3.4.4. Ispitivanje uticaja etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara četvrtog stupnja**

Gusenice gubara su gajene na veštačkoj podlozi u petri posudama dimenzije 90 x14mm, u klima komori pod konstantnim optimalnim uslovima,  $T=23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH}=65\pm 5\%$ , neonsko difuzno osvetljenje intenziteta 30159 candela 15 časova i tama 9 časova, do presvlačenja u četvrti stupanj. Nakon presvlačenja, gusenice su bile izložene 24 časovnom gladovanju, a zatim je izmerana masa svake gusenice

pojedinačno na analitičkoj vagi sa tačnošću od 0.0001g. Svaka gusenica je zatim stavljena u posebnu petri posudu dimenzije 90 × 14mm u koju je dodata po jedna, prethodno izmerena kocka veštačke hrane, koja je sadržala 0.1, 0.25, 0.5 % rastvora etarskog ulja anisa, mirođije i morača ili njihovih komponenata. Za poređenje rezultata korišćen je NeemAzal u koncentracijama identičnim koncentracijama rastvora etarskih ulja ili njihovih komponenata, dok je u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi korišćena čista veštačka hrana. petri posude sa gusenicama i veštačkom hranom su smeštene u klima komoru u kojoj su održavani konstantni optimalni uslovi. Ogled je trajao 48 časova i nakon toga merena je masa živih gusenica, masa preostale hrane, kao i masa ekskremenata. Gusenice su po završetku ogleda prenete u zamrzivač na temperaturu -20<sup>0</sup>C i nakon 24 časa svaka pojedinačna gusenica je uvijana u aluminijumsku foliju. Ostaci hrane i ekskremenata su takođe smešteni u zamrzivač i adekvatno obeleženi. Tako pripremljeni uzorci su zatim sušeni u sušnicu na temperaturu 65<sup>0</sup>C, u periodu od 72 časa. Po isteku ovog vremena, ponovo je izmerena masa svake pojedinačne gusenice, ostataka hrane i ekskremenata. Istovremeno, izmerena je masa 30 jedinki četvrtog stupnja (24 časa od presvlačenja) i 30 kocki veštačke hrane. Odmah nakon merenja, gusenice i kocke veštačke hrane su sušene na temperaturi od 65<sup>0</sup>C u periodu od 72 časa. Po isteku ovog vremena, ponovo je izmerena masa svake gusenice i svake kocke veštačke hrane. Na ovaj način smo procenili odnos između sveže i suve mase gusenica i kocki hrane. Ovako dobijene relacije između sveže i suve mase su korišćene za računanje suve mase gusenica i kocki hrane na početku ogleda. Na osnovu ovih podataka izračunati su indeksi rasta i ishrane prema formulama Waldbauer-a (1968).

$$\text{RGR (relativna brzina rasta)} = (m_2 - m_0) / (2 \times m_1) - (\text{mg} / \text{mg} / \text{dan})$$

$$\text{RCR (relativna brzina konzumacije hrane)} = m_c / (2 \times m_1) - (\text{mg} / \text{mg} / \text{dan})$$

$$\text{AD (efikasnost asimilacije)} = (m_c - m_e) / m_c \times 100 - (\%)$$

$$\text{ECD (efikasnost konverzije svaarene hrane)} = (m_2 - m_0) / (m_c - m_e) \times 100 - (\%)$$

$$\text{ECI (efikasnost konverzije unete hrane)} = (m_2 - m_0) / m_c \times 100 - (\%)$$

$m_c$  - masa konzumirane hrane

$m_e$  - masa ekskrementa

2 – trajanje ogleda izraženo u danima

$m_0$  - masa gusenice na početku ogleda

$m_2$  - masa gusenice na kraju ogleda

Ispitivanje uticaja dominantne komponente etarskih ulja anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente etarskog ulja mirođije, karvona na indekse rasta i ishrane gusenica gubara vršeno je na identičan način kao i ispitivanje uticaja njihovih etarskih ulja. Trans-anetol i karvon su testirani u istim koncentracijama kao i njihova etarska ulja, a za poređenje rezultata je takođe korišćen NeemAzal.

Ogledi za ispitivanje uticaja etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponentata i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica urađeni su u laboratoriji Instituta za multidisciplinarna istraživanja.

### 3.5. Statističke metode

Statistička obrada podataka izvršena je uz pomoć softverskog paketa Statistica 7.0. (StatSoft, Inc).

#### **3.5.1. Analiza varijanse za procenu antifidne aktivnosti ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponentata i NeemAzal-a, kao i njihove rezidualne kontaktne i digestivne toksičnosti**

Za svaku eksperimentalnu grupu određene su srednje vrednosti ( $\bar{X}$ ) i standardne greške ( $\pm SE$ ) antifidnih indeksa izraženih u procentima. Za ocenu uticaja glavnih faktora, vrste (etarskog ulja ili dominantnih komponentata i NeemAzal-a) i koncentracije primenjenog sredstva, kao i njihove interakcije na variranje antifidnog indeksa korišćena je dvofaktorska analiza varijanse. Dvofaktorska analiza varijanse je urađena na arkus-sinus transformisanim vrednostima indeksa ( $\arcsin(\sqrt{x})$ ). Faktori „primenjeno sredstvo” i „koncentracija” su bili fiksirani faktori. Nakon analize varijanse, za specifična poređenja između eksperimentalnih grupa primenjen je Dankanov post hoc test na nivou značajnosti 0.05.

Za svaku eksperimentalnu grupu određene su srednje vrednosti ( $\bar{X}$ ) i standardne greške ( $\pm SE$ ) rezidualne kontaktne i digestivne toksičnosti izražene u procentima. Za ocenu uticaja vrste (etarskog ulja ili dominantnih komponentata i NeemAzal-a) i koncentracije primenjenog sredstva na procenat mortaliteta i procenat presvučenih gusenica korišćena je jednofaktorska analiza varijanse. Jednofaktorska

analiza varijanse je urađena na arkus-sinus transformisanim vrednostima procenata uginulih i presvučenih gusenica. Nakon jednofaktorske analize varijanse, za specifična poređenja između eksperimentalnih grupa primenjen je Dankanov post hoc test na nivou značajnosti 0.05. Dvofaktorskom analizom varijanse su procenjeni doprinosi svakog od faktora kao i njihove interakcije u variranju ispitivanih osobina.

### **3.5.2. Probit analiza digestine toksičnosti ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a**

Za one eksperimentalne grupe gde je bila značajna regresija zavisnosti procenta uginulih gusenica od primenjene koncentracije urađena je probit analiza. Po grupi je korišćeno 300 gusenica, a u celokupnom ogledu 1850. Za obradu su korišćeni podaci o ukupnom broju uginulih gusenica po grupama. Regresione (1d - p) linije, vrednosti za LC50 i LC95 %, sa 95 % intervala poverenja, utvrđene su probit analizom (Finney, 1971). Od ostalih parametara probit analize, posmatrani su nagib regresije (b) i heterogenost (količnik  $\chi^2$  vrednosti i stepena slobode – df). Heterogenost kao parametar probit analize predstavlja prosečno odstupanje dobijenih vrednosti, u odnosu na teorijske vrednosti. U ovom slučaju heterogenost ukazuje na preciznost metode koja se koristi i predstavlja značajni dopunski kriterijum.

### **3.5.3. Analiza kovarijanse za procenu uticaja ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara**

Određivane su srednje vrednosti ( $\bar{X}$ ) i standardne greške ( $\pm SE$ ) za svako posmatrano obeležje. Za procenu značajnosti razlika indeksa rasta i ishrane kod gusenica gubara gajenih na veštačkoj hrani sa dodacima rastvora etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata ili NeemAzal-a, korišćena je jednofaktorska analiza kovarijanse. Kao zavisno promenljive u jednofaktorskoj analizi kovarijanse korišćeni su brojioci iz formula Waldbauer-a (1968) za izračunavanje indeksa rasta i ishrane prema formulama. Kao zavisno promenljiva za relativnu brzinu rasta (RGR) je korišćena prosečna promena mase po danu, za relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) korišćena je masa konzumirane hrane po danu, za efikasnost asimilacije (AD) korišćena je razlika u masi konzumirane hrane i ekskrementa, odnosno masa asimilovane hrane,

dok je za efikasnost konverzije unete hrane (ECI) i efikasnosti konverzije svarene hrane (ECD) kao zavisno promenjiva korišćena razlika u masi gusenica na kraju ogleda i početne mase gusenica. Imenoci iz formula Waldbauer-a su u jednofaktorskoj analizi kovarijance korišćeni kao kovarijati. Za relativnu brzinu rasta (RGR) i relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) kao kovarijat je korišćena početna masa gusenica. Za efikasnost asimilacije (AD) i efikasnosti konverzije unete hrane (ECI) kao kovarijat je korišćena masa konzumirane hrane, a za efikasnost konverzije svarene hrane (ECD) kao kovarijat je korišćena masa asimilovane hrane (Raubenheimer and Simpson, 1992). Jednofaktorska analiza kovarijance i poređenje srednjih vrednosti između eksperimentalnih grupa Dankanovim post hoc testom na nivou značajnosti 0.05, računati su na transformisanim vrednostima, za parametre RGR i RCR po formuli ( $\sqrt{x} + 0.5$ ), a za parametre AD, ECI i ECD po formuli ( $\text{asin}(\sqrt{x})$ ). Dvofaktorska analiza kovarijance je urađena na transformisanim vrednostima indeksa po formuli ( $\log(x)$ ) i pomoću nje su procenjeni doprinosi svakog od faktora (primenjeno sredstvo i koncentracija), kao i njihove interakcije u variranju ispitivanih osobina.

Za efikasnosti konverzije unete hrane u masu gusenica (ECI), pored dvofaktorske analize kovarijance urađena je i dvofaktorska analiza varijanse kako bi se iz dvofaktorske analize kovarijance i dvofaktorske analize varijanse uporedile značajnosti uticaja faktora primenjenog sredstva i koncentracije i time dobio uvid u značajnost pre-ingestivnih i post-ingestivnih mehanizama delovanja primenjenih sredstva. Ako se značajnost efekata dobijenih u analizi varijanse gubi u analizi kovarijance gde se masa konzumirane hrane koristi kao kovarijat to ukazuje da je primarni mehanizam delovanja primenjenog sredstva preingestivni. Ako obe analize pokažu značajan efekat to ukazuje da primenjeno sredstvo ostvaruje kako pre-ingestivnih tako i post-ingestivne efekte.



## 4. Rezultati

### 4.1. Rezultati kvalitativnog i kvantitativnog hemijskog sastava korišćenih etarskih ulja anisa, mirodije i morača

U etarskom ulju semena anisa zastupljeno je 12 komponenata (tabela 1). Dominantna komponenta je trans-anetol (87.48 %), a u preostalih 12.21 % etarskog ulja je zastupljeno 11 komponenata.

Tabela 1. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja semena anisa (*Pimpinella anisum* L.)

RI	Komponente	Sadržaj (%)
922	$\alpha$ -tujen	0.61
1024	1,8-cineol	2.35
1097	Linalol	0.43
1172	Terpinen-4-ol	0.05
1185	$\alpha$ -terpineol	0.22
1193	Metilhavikol	5.32
1248	Cis-anetol	0.11
1280	Trans-anetol	87.48
1366	$\alpha$ -kopaen	tr
1388	Anisil metil keton	1.70
1397	$\beta$ -longipinen	0.10
1480	$\gamma$ -himahalen	1.31
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>		<i>99.69</i>

RI – Kovačev retencioni indeks

tr – komponenta čije je prisustvo u etarskom ulju zabeleženo u tragovima

U etarskom ulju semena mirođije zastupljeno je 16 komponenata (tabela 2). Dominantna komponenta je karvon (42,47 %), a zatim slede limonen (29.04 %) i  $\alpha$ -felandren (13,112 %), što sačinjava 84.63% sastava etarskog ulja. U preostalim 13,89 %, zastupljeno je 13 komponenata.

Tabela 2. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja semena mirođije (*Anethum graveolens* L.)

<b>RI</b>	<b>Komponente</b>	<b>Sadržaj (%)</b>
919	Trciklen	0.13
924	$\alpha$ -tujen	0.44
985	Mircen	0.51
996	$\alpha$ -felandren	13.12
1017	Para-cimen	2.26
1021	Limonen	29.04
1146	Menton	0.42
1156	Izo-menton	0.17
1166	Neo-mentol	0.28
1176	Dil-etar	6.52
1189	Cis-dihidrokarvon	1.51
1196	Trans-dihidrokarvon	0.81
1210	Izo-dihidrokarveol	0.14
1223	Neoizo-dihidrokarveol	0.46
1238	Karvon	42.47
1470	Dauca-5,8-dien	0.24
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>		98.52

RI-Kovačev retencioni indeks

U etarskom ulju semena morača zastupljeno je 16 komponenata od kojih su tri registrovana samo u tragovima (tabela 3). Dominantna komponenta je trans-anetol (65.05%), a potom sledi fenhon (25.56%). U preostalih 9.19 % etarskog ulja prisutno je 11 komponenata.

Tabela 3. Kvalitativni i kvantitativni sastav etarskog ulja semena morača (*Foeniculum vulgare* Mill.)

<b>RI</b>	<b>Komponente</b>	<b>Sadržaj (%)</b>
924	$\alpha$ -pinen	1.53
938	Kamfen	0.16
965	Sabinen	tr
967	$\beta$ -pinen	0.13
986	Mircen	tr
998	$\alpha$ -felandren	0.38
1003	$\delta$ -3-karen	tr
1018	Para-cimen	0.28
1021	Limonen	1.32
1023	1,8-cineol	0.17
1052	$\gamma$ -terpinen	0.32
1080	Fenhon	25.56
1135	Kamfor	0.65
1194	Metilhavikol	3.44
1246	Cis-anetol	0.79
1281	Trans-anetol	65.05
<i>Ukupno identifikovanih jedinjenja</i>		<i>99.80</i>

RI – Kovačev retencioni indeks

tr – komponenta čije je prisustvo u etarskom ulju zabeleženo u tragovima

Trans-anetol je dominantna komponenta etarskog ulja anisa i morača, a nije prisutna u etarskom ulju mirođije, gde je dominantna komponenta karvon. Zajedničke komponente etarskih ulja semena mirođije i morača su  $\alpha$ -felandren, para-cimen i limonen, semena mirođije i anisa je  $\alpha$ -tujen, a semena anisa i morača su metilhavikol, 1, 8-cineol i cis-anetol.

## **4.2. Antifidna aktivnost etarskih ulja anisa, mirođije, morača i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja**

Antifidna aktivnost etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i standarda, NeemAzal-a su ispitivana u ogledu bez izbora (apsolutni antifidni indeks – A) i ogledu sa izborom (relativni antifidni indeks – R). Dobijeni rezultati iz ova dva ogleda su poslužili za dobijanje totalnog antifidnog indeks (T), a rezultati su prikazani u tabeli 4.

Primenom koncentracije 0.1 % najviša vrednost apsolutnog antifidnog indeksa 54.6 % je zabeležena u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjeno etarsko ulje anisa, dok je statistički značajno manje vrednosti ovog indeksa zapažena u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja mirođije i morača, 44.8 i 43.8 %. Primenom NeemAzal-a u koncentraciji 0.1 % vrednost apsolutnog antifidnog indeksa iznosi 44.2 %, što je statistički značajno manja vrednost u odnosu na vrednost apsolutnog antifidnog indeksa koji je dobijen primenom etarskog ulja anisa, ali ne i primenom etarskih ulja mirođije i morača. Primenom etarskih ulja i NeemAzal-a u koncentraciji 0.5 %, najviša vrednost apsolutnog antifidnog indeksa (70.7 %) postignuta je primenom anisa, dok je prilikom primene mirođije i morača zabeležena statistički značajno manju vrednost ovog indeksa (50.3 i 46.5 %). U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjeno etarsko ulje anisa u koncentraciji 0.5 % zapažena je statistički značajno veća vrednost apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj je anis primenjen u koncentraciji 0.1 % što kod etarskih ulja mirođije i morača nije slučaj. Prilikom primene NeemAzal-a u koncentraciji 0.5 % vrednost apsolutnog antifidnog indeksa iznosi 43 %, slično kao i prilikom primene mirođije i morača, a statistički značajno manja u odnosu na rezultat dobijen prilikom primene anisa. U slučaju koncentracije 1.0 % najveća vrednost apsolutnog antifidnog indeksa od 85.7 % konstatovana je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen anis, dok su statistički značajno manje vrednosti (63.5 i 47%) konstatovane u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni morač i mirođija. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u koncentraciji 1.0 %, vrednost apsolutnog antifidnog indeksa je 51 %. Između eksperimentalne grupe u kojoj je primenjen NeemAzal u koncentraciji 1.0 % i eksperimentalnih grupa u kojima su primenjeni anis i morač u koncentraciji 1.0 % postoje statistički značajne razlike.

Tabela 4. Apsolutni, relativni ( $\bar{X} \pm SE$ ) i totalni antifidni indeks etarskih ulja anisa, mirođije i morača i NeemAzal-a (standard) za gusenice gubara drugog stupnja. F i P – F odnos i značajnost efekata glavnih faktora (primenjenog sredstva i koncentracije primenjenog sredstva) i njihovih interakcija procenjen dvofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode. Eksperimentalne grupe označene istim slovom u koloni nisu statistički značajno različite (Duncan test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Antifidni indeks		
		Apsolutni $\bar{X} \pm SE$	Relativni $\bar{X} \pm SE$	Totalni
Anis	0.1	54.6±2.24d	0.1±9.51cd	54.7
	0.5	70.7±2.14b	23.8±11.52ab	94.5
	1.0	85.7±1.74a	43.4±5.61a	129.1
Mirođija	0.1	44.8±2.66e	-1.7±8.76cd	43.1
	0.5	50.3±2.85de	24.4±7.68ab	74.7
	1.0	47.0±3.36de	23.7±8.8ab	70.7
Morač	0.1	43.8±1.53e	-5.3±6.58d	38.5
	0.5	46.5±2.89de	6.7±7.76bc	53.2
	1.0	62.5±3.85c	29.6±6.92ab	92.1
NeemAzal	0.1	44.2±2.9e	-4.6±7.66d	39.6
	0.5	43.0±2.03e	-17.2±8.11d	25.8
	1.0	51.0±1.82de	22.8±8.05ab	73.8
Primenjeno sredstvo (P), df: 3, 288		F = 57.87 P < 0.0001	F = 4.29 P = 0.0055	
Koncentracija (C), df: 2, 288		F = 34.41 P < 0.0001	F = 17.83 P < 0.0001	
P × C, df: 6, 288		F = 8.15 P < 0.0001	F = 1.50 P = 0.1765	

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, statistički značajno razlikuju u efektu na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa. Džankanov post hoc test je pokazao da u proseku etarsko ulje anisa ostvaruje statistički značajno veću vrednost apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na preostala etarska ulja i NeemAzal. Morač takođe ostvaruje statistički značajno veću vrednost apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na NeemAzal, dok u slučaju mirođije to nije slučaj (tabela 4). U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, dolazi do povećanja vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa, to jest, smanjenja oštećenja lisnih diskova hrasta. Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.5 %, kao i

koncentracija 0.5 % u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa zavisi od primenjene koncentracije (značajna  $P \times C$  interakcija u tabeli 4). Veća promena vrednosti apsolutnog indeksa sa porastom koncentracije je dobijena kod etarskih ulja anisa i morača u odnosu na etarsko ulje mirođije i NeemAzal, što znači da etaska ulja anisa i morača poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na etarsko ulje mirođije i NeemAzal.

U koncentraciji 0.1 %, jedino je prilikom primene anisa vrednost relativnog antifidnog indeksa pozitivna (0.1 %). Negativne vrednosti relativnog antifidnog indeksa su zabeležene u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja mirođije i morača, u vrednostima -1.7 i -5.3 % (tabela 4). U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u koncentraciji 0.1 % takođe je zabeležena negativna vrednost relativnog antifidnog indeksa (-4.6 %). Razlike u relativnom antifidnom indeksu koje su zabeležene prilikom primene ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a u koncentraciji 0.1 % nisu statistički značajne. Prilikom primene koncentracije 0.5 %, u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni mirođija i anis zapažene su slične vrednosti relativnog antifidnog indeksa (24.4 i 23.8 %), dok u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen morač relativni antifidni indeks ima statistički značajno manju vrednost (6.7 %). U eksperimentalnim grupama u kojima se primenjuju anis i mirođija u koncentraciji 0.5 % zabeležene su statistički značajno veće vrednosti relativnog antifidnog indeksa u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima se oni primenjuju u nižim koncentracijama, što kod morača nije slučaj. U eksperimentalnoj grupi u kojoj se primenjuje NeemAzal u koncentraciji 0.5 % zapažena je negativna vrednost relativnog antifidnog indeksa (-17.2 %). Ova eksperimentalna grupa se statistički značajno razlikuje od eksperimentalnih grupa u kojima su primenjena ispitivana etarska ulja u istoj koncentraciji (tabela 4). Primenom koncentracije 1.0 % vrednosti relativnog antifidnog indeksa u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani anis, mirođija, morač i NeemAzal iznose 43.4, 23.7, 29.6 i 22.8 %. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. NeemAzal je primenom u koncentraciji 1.0 % statistički značajno efikasniji nego kada se primenjuje u manjim koncentracijama (tabela 4).

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku ispitivana etarska

ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, statistički značajno razlikuju u efektu na vrednosti relativnog antifidnog indeksa. Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku između etarskih ulja nema značajnih razlika u vrednosti relativnog antifidnog indeksa, kao i da su relativni antifidni indeksi na etarskim uljima anisa i mirođije statistički značajno veći od indeksa na NeemAzal-u (tabela 4). U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, dolazi do povećanja vrednosti relativnog antifidnog indeksa, to jest smanjenja oštećenja tretiranih lisnih diskova hrasta. Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na vrednosti relativnog antifidnog indeksa u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.5 %, dok su efekti koncentracija 0.1 i 0.5 % međusobno slični. Razlike vrednosti relativnog antifidnog indeksa između etarskih ulja i NeemAzal-a su slične na svim primenjenim koncentracijama (neznačajna  $P \times C$  interakcija u tabeli 4).

Etarska ulja i NeemAzal najveću vrednost totalnog antifidnog indeksa ostvaruju kada se primene u koncentraciji 1.0 %.

Prilikom primene koncentracije 0.1 %, vrednosti totalnog antifidnog indeksa u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivana etarska ulja anisa, mirođije, morača i NeemAzal iznose 54.74, 43.1, 38.5 i 39.6. Primenom koncentracije 0.5 % totalni antifidni indeks prilikom primene etarskog ulja anisa iznosi 94.5, prilikom primene etarskog ulja mirođije 74.7, a prilikom primene etarskog ulja morača 53.2. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u koncentraciji 0.5 %, totalni antifidni indeks ima vrednost 25.8 (tabela 4). Primenom koncentracije 1.0 %, od primenjenih etarskih ulja najveću vrednost totalnog antifidnog indeksa ostvaruje anis u vrednosti od 129.1, dok morač i mirođija ostvaruju niže vrednosti ovog indeksa, 92.1 i 70.7. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u koncentraciji 1.0 % totalni antifidni indeks iznosi 73.8.

#### **4.3. Antifidna aktivnost dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na gusenice gubara drugog stupnja**

Antifidna svojstva trans-anetola (dominantna komponenta anisa i morača) i karvona (dominantna komponenta mirođije), kao i NeemAzal-a, ispitivana su u ogledu bez izbora (apsolutni antifidni indeks – A) i u ogledu sa izborom (relativni antifidni

indeks – R). Dobijeni rezultati iz ova dva ogleda su poslužili za dobijanje totalnog antifidnog indeks (T), rezultati su prikazani u tabeli 5.

Prilikom primene koncentracije 0.1 % u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon, vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa iznose 11.1 odnosno 14.1 %, dok primenom NeemAzal-a beležimo statistički značajno veću vrednost ovog indeksa, 44.8 %. Primenom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a u koncentracije 0.5 %, najveća vrednost apsolutnog antifidnog indeks od 43.5 % postignuta je primenom NeemAzal-a, dok su primenom trans-anetola i karvona vrednosti ovog indeksa statistički značajno niže, 11.3 i 12.8 %. Između eksperimentalnih grupa u kojima se primenjuju trans-anetol, karvon i NeemAzal u koncentraciji 0.5 % i eksperimentalnih grupa u kojima se oni primenjuju u koncentraciji 0.1 % nema statistički značajne razlike (tabela 5). Korišćenjem koncentracije 1.0 % u eksperimentalnim grupama za trans-anetol i karvon beležimo statistički značajan porast vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa, u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima se oni primenjuju u manjim koncentracijama. Trans-anetol ostvaruje vrednost apsolutnog antifidnog indeksa 52.7, a karvon 31.9 %. Primenom NeemAzal-a u istoj koncentraciji vrednost apsolutnog antifidnog indeksa iznosi 52.4 %, slično kao vrednosti koju ostvaruje trans-anetol, a statistički značajno veću u odnosu na karvon.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, statistički značajno razlikuju u efektu na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa. Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veću vrednost apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na trans-anetol i karvon (tabela 5). U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do povećanja vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa. Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.5 %. Uticaj trans-anetola, karvona i NeemAzal-a na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa zavisi od primenjene koncentracije (značajna  $P \times C$  interakcija u tabeli 5). Veća promena vrednosti apsolutnog indeksa sa porastom koncentracije je dobijena kod trans-anetola u odnosu na karvon i NeemAzal, što znači da trans-anetol poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u



odnosu na karvon i NeemAzal.

Tabela 5. Apsolutni, relativni ( $\bar{X} \pm SE$ ) i totalni antifidni indeks za dominantnu komponentu anisa i morača, trans-anetol i dominantnu komponentu mirođije, karvona kao i standard NeemAzal kod gusenice gubara drugog stupnja. F i P – F odnos i značajnost razlika efekata glavnih faktora (primenjenog sredstva i koncentracije primenjenog sredstva) i njihovih interakcija procenjen dvofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode. Eksperimentalne grupe označene istim slovom u koloni nisu statistički značajno različite (Duncan test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Antifidni indeks		
		Apsolutni $\bar{X} \pm SE$	Relativni $\bar{X} \pm SE$	Totalni
Trans-anetol	0.1	11.1±9.51c	38.7±8.74a	39.8
	0.5	11.3±6.88c	48.8±9.47a	60.1
	1.0	52.7±4.65a	50.5±9.92a	103.2
Karvon	0.1	14.1±6.37c	-25.5±11.57b	-11.4
	0.5	12.8±6.06c	-5.3±14.21b	7.5
	1.0	31.9±6.36b	43.2±8.53a	75.1
NeemAzal	0.1	44.8±4.41ab	-5.2±5.14b	39.6
	0.5	43.5±2.69ab	-16.8±1.63b	26.7
	1.0	52.4±4.24a	24.2±3.57a	76.6
Primenjenog sredstvo (P), df: 2, 216		F = 14.31 P < 0.0001	F = 23.9 P < 0.0001	
Koncentracija (C), df: 2, 216		F = 13.16 P < 0.0001	F = 17.84 P < 0.0001	
P × C, df: 4, 216		F = 3.13 P = 0.0157	F = 4.67 P = 0.0012	

Primenom koncentracija 0.1 i 0.5 % jedino u eksperimentalnim grupama u kojima je ispitivan trans-anetol beležimo pozitivne vrednosti relativnog antifidnog indeksa, 38.7 i 48.8 %. Negativne vrednosti relativnog antifidnog indeksa, -25.5 i -5.3 %, su konstatovane u eksperimentalnim grupama u kojima se primenjuje karvon u koncentracijama 0.1 i 0.5 %, kao i u eksperimentalnim grupama u kojima se ispituje NeemAzal u istim koncentracijama, -5.2 i -16.8 %. Između eksperimentalnih grupa u kojima se primenjuju karvon i NeemAzal u koncentracijama 0.1 i 0.5 % nema statistički značajnih razlika, dok između ovih eksperimentalnih grupa i eksperimentalnih grupa u kojima se primenjuje trans-anetol, postoje statistički značajne razlike (tabela 5). Korišćenjem koncentracije 1.0 %, u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol, karvon i NeemAzal, vrednosti relativnog antifidnog indeksa iznose 50.5,

43.2 i 24.2 % i između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, statistički značajno razlikuju u efektu na vrednosti relativnog antifidnog indeksa. Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku trans-anetol ostvaruje statistički značajno veće vrednosti relativnog antifidnog indeksa u odnosu na karvon i NeemAzal (tabela 5). U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do povećanja vrednosti relativnog antifidnog indeksa, to jest, smanjenja oštećenja tretiranih lisnih diskova hrasta. Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na vrednosti relativnog antifidnog indeksa u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.5 % dok su efekti koncentracija 0.1 i 0.5 % međusobno slični. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na vrednosti relativnog antifidnog indeksa zavisi od primenjene koncentracije (značajna  $P \times C$  interakcija u tabeli 5). Veća promena vrednosti relativnog indeksa sa porastom koncentracije je dobijen kod karvona i NeemAzal-a, koji poseduju veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na trans-anetol.

Trans-anetol, karvon i NeemAzal najveću vrednost totalnog antifidnog indeksa ostvaruju kada se primene u koncentraciji 1.0 %.

Karvon primenjen u koncentraciji 0.1 % ostvaruje negativnu vrednost totalnog antifidnog indeksa (tabela 5). Prilikom primene koncentracije 0.1 %, najveću vrednost totalnog antifidnog indeksa, u vrednosti od 39.8, je zabeležena u eksperimentalnoj grupi u kojoj se primenjuje trans-anetol. U eksperimentalnoj grupi u kojoj se primenjuje karvon totalni antifidni indeks ima negativnu vrednost (-11.4) dok u slučaju NeemAzal-a vrednost totalnog antifidnog indeksa iznosi 39.6. Najviša vrednost totalnog antifidnog indeksa primenom koncentracije 0.5 % postignuta je u slučaju trans-anetola (60.1) dok karvon i NeemAzal ostvaruju znatno manje vrednosti ovog indeksa u iznosu od 7.5. i 26.7 (tabela 5). Prilikom primene koncentracije 1.0 % najveća vrednost totalnog antifidnog (103.2) konstatovana je u eksperimentalnoj grupi u kojoj se primenjuje trans-anetol, dok su u eksperimentalnim grupama u kojima primenjujemo karvon i NeemAzal konstatovane znatno manje vrednosti totalnog antifidnog indeksa, 75.1 i 76.6.

#### **4.4. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzala na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja**

Rezultati uticaja rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzala, na mortalitet gusenice gubara prikazani su u tabeli 6.

Tokom prvih 48 časova od postavljanja ogleđa za ispitivanje rezidualnog kontaktnog toksičnog dejstva ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a nije zabeležen toksični efekat, to jest, nije došlo do mortaliteta gusenica.

Nakon 72 časa od postavljanja ogleđa, primenom u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), jedino etarsko ulje anisa uzrokuje mortalitet 2 % gusenica, dok ostala ispitivana etarska ulja i NeemAzal nisu prouzrokovali mortalitet gusenica gubara. Primenom u niskoj koncentraciji (0.1 %) jedino je etarsko ulje morača izazvalo mortalitet 2 % gusenica, dok u ostalim eksperimentalnim grupama mortalitet nije zabeležen (tabela 6). Pri srednjoj primenjenoj koncentraciji (0.25 %), mortalitet nije zabeležen ni u jednoj eksperimentalnoj grupi, dok je primenom visoke koncentracije (0.5 %) mortalitet zabeležen u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja morača i anisa, 6 i 4 % uginulih gusenica i u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal 2 % uginulih gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa nisu konstatovane statistički značajne razlike. Etarsko ulje morača primenjeno u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) uzrokovalo je mortalitet 4 % gusenica, dok preostala ispitivana etarska ulja i NeemAzal primenjeni u veoma visokoj koncentraciji nisu izazvali mortalitet gusenica.

Nakon 96 časova od postavljanja ogleđa za ispitivanje rezidualne kontaktne toksičnosti ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, primenom veoma niske koncentracije (0.05 %) etarsko ulje anisa je izazvalo mortalitet 4 %, a mirođija, morač i NeemAzal mortalitet 2 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica nisu zabeležene (tabela 6). Primenom u niskoj koncentraciji (0.1 %) etarska ulja anisa i morača su prouzrokovala mortalitet 2, odnosno 4 % gusenica, dok mirođija nije izazvala mortalitet gusenica. NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji prouzrokovao je mortalitet 2 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. Primenom u srednjoj koncentraciji (0.25 %), ispitivana etarska ulja nisu prouzrokovala mortalitet gusenica, dok je NeemAzal izazvao

mortalitet 4 % gusenica. Primenom u visokoj koncentraciji (0.5 %) etarsko ulje morača je prouzrokovalo mortalitet 12 % gusenica, dok su vrednosti mortaliteta za anis i mirođiju iznosili 4 i 2 %. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji je izazvao mortalitet 4 % gusenica. Od svih ispitivanih eksperimentalnih grupa, statistički se značajno od ostalih grupa jedino mortalitet u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen morač u visokoj koncentraciji (tabela 6). Etarska ulja anisa i morača primenjena u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %), prouzrokovala su mortalitet po 4 % gusenica, a mirođije 2 %. NeemAzal primenjen u veoma visokoj koncentraciji je izazvao mortalitet 4 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene (tabela 6).

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal primenjeni u koncentracijama 0.05, 0.5 i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, nisu ispoljila statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{3,48} = 2.16$ ,  $P = 0.1056$ ). Međutim, Dankanov post hoc test je pokazao da etarsko ulje morača izaziva statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na ulje mirođije. U proseku mortalitet gusenica se nije statistički značajno razlikovao između primenjenih koncentracija (efekat C:  $F_{2,48} = 1.91$ ,  $P = 0.1596$ ). S obzirom da je odsustvo zavisnosti mortaliteta od koncentracije uočeno kod svih primenjenih sredstava interakcija primenjeno sredstvo  $\times$  koncentracija nije bila signifikantna (efekat P  $\times$  C:  $F_{6,48} = 1.21$ ,  $P = 0.3168$ ).

U vremenskom intervalu od 120 časova etarsko ulje anisa, primenjeno u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), prouzrokovalo je mortalitet 4 % gusenica, a etarska ulja mirođije i morača po 2 % gusenica, koliko je prouzrokovao i NeemAzal. Između ovih eksperimentalnih grupa nisu zabeležene statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica (tabela 6). Primenom u niskoj koncentraciji (0.1 %), etarsko ulje morača je prouzrokovalo uginuće 4 % gusenica, a etarska ulja anisa i mirođije po 2 % gusenica. NeemAzal primenjen u niskoj koncentraciji uzrokovao je mortalitet 4 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica takođe nisu zabeležene. Pri srednjoj primenjenoj koncentraciji (0.25 %) etarska ulja su izazvala mortalitet 2 %, a NeemAzal mortalitet 4 % gusenica i između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. Morač primenjen u visokoj koncentraciji (0.5 %) prouzrokovao je mortalitet od 16 % gusenica, dok su

etarska ulja anisa i mirođije, kao i NeemAzal izazvali mortalitet 4 % gusenica. Efikasnost koju poseduje morač u visokoj koncentraciji se statistički značano razlikuje u odnosu na ostala ispitivana etarska ulja i NeemAzal. Etarsko ulje morača primenjeno u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) izazvalo je mortalitet 8 % gusenica, dok su etarska ulja anisa i mirođije, kao i NeemAzal delovali toksično na 4 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica nisu zabeležene.

Tabela 6. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan rezidualnom kontaktnom toksičnošću etarskih ulja anisa, mirođije i morača i NeemAzal-a (standard). F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize varijanse; df – broj stepena slobode. Eksperimentalne grupe označene istim slovom u koloni nisu statistički značajno različite (Duncan test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon		
		72 h	96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Anis	0.05	2.0±2.00a	4.0±2.45b	4.0±2.45b
	0.10	0±0	2.0±2.00b	2.0±2.00b
	0.25	0±0	0±0	2.0±2.00b
	0.50	4.0±2.45a	4.0±2.45b	4.0±2.45b
	1.00	0±0	4±2.45b	4.0±2.45b
Mirođija	0.05	0±0	2.0±2.00b	2.0±2.00b
	0.10	0±0	0±0	2.0±2.00b
	0.25	0±0	0±0	2.0±2.00b
	0.50	0±0	2.0±2.00b	4.0±2.45b
	1.00	0±0	2.0±2.00b	4.0±2.45b
Morač	0.05	0±0	2.0±2.00b	2.0±2.00b
	0.10	2.0±2.00a	4.0±2.45b	4.0±2.45b
	0.25	0±0	0±0	2.0±2.00b
	0.50	6.0±2.45a	12.0±2.00a	16.0±2.45a
	1.00	4.0±2.45a	4.0±2.45b	8.0±2.00ab
NeemAzal	0.05	0±0	2.0±2.00b	2.0±2.00b
	0.10	2.0±2.00a	2.0±2.00b	4.0±2.45b
	0.25	0±0	4.0±2.45b	4.0±2.45b
	0.50	2.0±2.00a	4.0±2.45b	4.0±2.45b
	1.00	0±0	4.0±2.45b	4.0±2.45b
Kontrola	0.00	0±0	0±0	0±0.000
F		0.51	1.20	1.44
P		0.7956	0.29	0.13
df		6, 28	15, 64	19, 80

Slično rezultatima dobijenim za 96 časova, u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ni nakon 120 časova od početka ogleda nisu zabeležili statistički značajno različiti efekat na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{3,80} = 2.13$ ,  $P = 0.1031$ ), ali je Dankanov post hoc test ponovo pokazao da etarsko ulje morača izaziva statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na ulje mirođije. Iako se u proseku primenjene koncentracije nisu razlikovale u efektu na mortalitet gusenica (efekat C:  $F_{4,80} = 1.9$ ,  $P = 0.1189$ ), Dankanov post hoc test je pokazao da koncentracija 1.0 % dovodi do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Razlike efekata ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na mortalitet gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{12,80} = 1.12$ ,  $P = 0.3599$ ).

#### **4.5. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzala na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja**

Rezultati uticaja rezidualne kontaktne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i standarda NeemAzal-a na mortalitet gusenica gubara prikazani su u tabeli 7.

Tokom prvih 48 časova od postavljanja ogleda nije zabeležena rezidualna kontaktna toksičnost ni u jednoj od eksperimentalnih grupa, to jest, mortaliteta gusenica nije zabeležen.

Nakon 72 časa od postavljanja ogleda, mortalitet 2 % gusenica je zabeležen jedino u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni karvon u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) i NeemAzal u visokoj koncentraciji (0.5 %) i između ovih eksperimentalnih grupa nema statistički značajne razlike (tabela 7).

Nakon 96 časova od postavljanja ogleda, primenom u veoma niskoj, niskoj i srednjoj koncentraciji, trans-anetol i karvon nisu prouzrokovali mortalitet gusenica, dok je u eksperimentalnim grupama u kojima je primenjen NeemAzal u niskoj i srednjoj koncentraciji zabeležen mortalitet od 2 % gusenica (tabela 7). Trans-anetol i karvon primenjeni u visokoj koncentraciji (0.5 %), uzrokovali su mortalitet 2 % gusenica, a NeemAzal 4 % gusenica. Trans-anetol primenjen u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %)

uzrokovao je mortalitet 2 % gusenica, karvon 4 %, a NeemAzal 6 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike takođe nisu zabeležene.

Tabela 7. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan rezidualnom kontaktnom toksičnošću dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona kao i standarda NeemAzal-a. F odnos i P vrednost dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti mortaliteta označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon		
		72 h	96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Trans-anetol	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	0±0
	0.50	0±0	2.0±2.00a	2.0±2.00a
	1.00	0±0	2.0±2.00a	2.0±2.00a
Karvon	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	0±0
	0.50	0±0	2.0±2.00a	2.0±2.00a
	1.00	2.0±2.00a	4.0±2.45a	4.0±2.45a
NeemAzal	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	2.0±2.00a	4.0±2.45a
	0.25	0±0	2.0±2.00a	4.0±2.45a
	0.50	2.0±2.00a	4.0±2.45a	6.0±2.45a
	1.00	0±0	6.0±2.45a	8.0±2.00a
Kontrola	0.00	0±0	0±0	0±0
F		0	0.48	0.91
P		1	0.84	0.51
df		1, 8	7, 32	7, 32

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal primenjeni u koncentracijama 0.5 i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, ne ispoljavaju statistički značajno različit efekat na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{2,24} = 0.93$ ,  $P = 0.4071$ ) što je potvrdio i Dankanov post hoc test. U proseku između koncentracija 0.5 i 1.0 % ne postoji statistički značajna razlika u uticaju na mortalitet gusenica (efekat C:  $F_{1,24} = 0.53$ ,  $P = 0.4722$ ). Razlike efekata trans-anetola, karvona i

NeemAzal-a na mortalitet gusenica ne zavise od primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{2,24} = 0.13$ ,  $P = 0.8758$ ).

Nakon 120 časova od početka ogleđa prilikom primene trans-anetola i karvona u veoma niskoj, niskoj i srednjoj koncentraciji (0.05, 0.1 i 0.25 %) nijedna gusenica nije uginula. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je korišćen NeemAzal u veoma niskoj koncentraciji takođe nije bilo uginulih gusenica, a kada je primenjen u niskoj i srednjoj koncentraciji, zabeležen je mortalitet po 4 % gusenica. Prilikom primene u visokoj koncentraciji (0.5 %) trans-anetol i karvon su prouzrokovali mortalitet 2 % gusenica, a NeemAzal 6 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa stistički značajne razlike u mortalitetu gusenica nisu zabeležene. Trans-anetol primenjen u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) uzrokovao je mortalitet 2 % gusenica, karvon 4 %, a NeemAzal 8 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica nisu uočene (tabela 7).

Ni nakon 120 časova od postavljanja ogleđa u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal, primenjeni u koncentracijama 0.5 i 1.0 %, nisu ispoljili statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat  $P$ :  $F_{2,24} = 3$ ,  $P = 0.0687$ ). Međutim, Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal izaziva statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na trans-anetol i karvon. U proseku između koncentracija 0.5 i 1.0 % ne postoji statistički značajna razlika u uticaju na mortalitet gusenica (efekat  $C$ :  $F_{1,24} = 0.57$ ,  $P = 0.4571$ ). Razlike efekata trans-anetola, karvona i NeemAzal-a na mortalitet gusenica ne zavise od primenjene koncentracije (nesignifikantna  $P \times C$  interakcija:  $F_{2,24} = 0.14$ ,  $P = 0.8676$ ).

#### **4.6. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzala na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj**

U ovom ogleđu je praćen uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije, morača, kao i standarda NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj, a rezultati su prikazani u tabeli 8.

Tokom prva 72 časa od početka ogleđa presvlačenje gusenica nije zabeleženo ni u jednoj od eksperimentalnih grupa. Početak presvlačenja gusenica u kontrolnoj i ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen je nakon 96 časova.



Nakon 96 časova od postavljanja ogleda zabeleženo je da se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvuklo 36 % gusenica gubara. Primenom veoma niske koncentracije (0.05 %) etarskih ulja anisa, mirođije i morača, presvuklo se 58.89, 46.89, odnosno 71.56 % gusenica gubara. Etarska ulja anisa i morača su izazvala statistički značajno veći procenat presvlačenja gusenica u odnosu na kontrolu. U slučaju NeemAzal-a primenjenog u veoma niskoj koncentraciji zabeleženo je presvlačenje kod 26.44 % gusenica, što je bio statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji, ali ne i u odnosu na kontrolu (tabela 8). Primenom etarskih ulja anisa, mirođije i morača u niskoj koncentraciji (0.1 %) presvuklo se 28.44, 26 i 39.78 % gusenica, što nije statistički značajno različito od kontrolne eksperimentalne grupe. NeemAzal primenjen u niskoj koncentraciji je statistički značajno smanjio broj presvučenih gusenica (presvuklo se 10.22 % gusenica) u odnosu na kontrolu, a takođe je statistički značajno efikasniji u ometanju presvlačenja gusenica i u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjena etarska ulja u istoj koncentraciji. Primenom srednje koncentracije (0.25 %), u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani anis, mirođija i morač presvuklo se 14, 30 i 20 % gusenica. Od etarskih ulja jedino je anis statistički značajno smanjio broj presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji je statistički značajno smanjio broj presvučenih gusenica (presvuklo se 4.22 % gusenica) u odnosu na kontrolu (36 %), a takođe je ispoljio i statistički značajno veću efikasnost u ometanju presvlačenja gusenica u odnosu na etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji (tabela 8). Primenom visoke koncentracije (0.5 %) u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani etarska ulja anisa, mirođije i morača presvuklo se 22.67, 30.89 i 22.5 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa nema statistički značajne razlike. Primenom NeemAzal-a u visokoj koncentraciji presvuklo se 8.44 % gusenica što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu i eksperimentalne grupe u kojima su primenjeni anis i mirođija u istoj koncentraciji, ali ne i od eksperimentalne grupe u kojoj je primenjen morač (tabela 8).

Tabela 8. Uticaja rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a, na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Procenat presvučenih gusenica nakon	
		96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Anis	0.05	58.89±10.14jk	94.0±4.00k
	0.10	28.44±5.69defghi	69.33±3.23fgh
	0.25	14.0±4.00bcd	61.11±3.96efg
	0.50	22.67±3.52cdefgh	47.78±3.77de
	1.00	18.44±3.51bcdef	30.89±3.98b
Mirođija	0.05	46.89±4.91ij	94.0±2.45jk
	0.10	26.0±9.27defgh	88.0±3.74jkl
	0.25	30.0±3.16efghi	85.78±2.37ij
	0.50	30.89±6.73fghi	62.67±5.00efg
	1.00	42.0±5.83hij	59.11±3.29ef
Morač	0.05	71.56±3.52k	87.78±1.96ijk
	0.10	39.78±6.85ghij	79.33±3.01hij
	0.25	20.0±0.00bcdefg	75.78±3.81ghi
	0.50	22.5±6.92bcdefgh	40.83±5.50cd
	1.00	14.89±4.36bcde	30.67±5.64b
NeemAzal	0.05	26.44±3.86defghi	63.11±2.93efg
	0.10	10.22±3.17abc	24.89±4.95b
	0.25	4.22±2.59a	6.22±2.55a
	0.50	8.44±2.13ab	8.44±2.13a
	1.00	0±0	0±0
Kontrola	0.00	36.0±2.45fghi	100±0
F		9.56	37.68
P		< 0.0001	< 0.0001
df		19, 80	18, 76

U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja anisa, mirođije i morača u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %), presvuklo se 18.44, 42 i 14.89 % gusenica. Anis i morač su statistički značajno smanjili broj presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u veoma visokoj koncentraciji, procenat presvučenih gusenica je bio 0 %, što znači da je NeemAzal u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica iz drugog u treći larveni stupanj i iskazao veću efikasnost u odnosu na ispitivana etarska ulja.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku između etarskih ulja anisa, mirođije i morača primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, ne postoje statistički značajne razlike u efektu na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{2,60} = 1.93$ ;  $P = 0.1536$ ). U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja dolazi do većeg uticaja na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat C:  $F_{4,60} = 17.62$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 1.0 % iskazuje najveću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica, a koncentracija 0.05 % najmanju. Razlike vrednosti procenta presvlačenja gusenica između ispitivanih etarskih ulja zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{8,60} = 3.32$ ;  $P = 0.0033$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod etarskih ulja anisa i morača u odnosu na etarsko ulje mirođije što znači da etarska ulja anisa i morača poseduju veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na etarsko ulje mirođije.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku između etarskih ulja anisa, mirođije i morača i NeemAzal-a primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, postoje statistički značajne razlike u efektu na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{3,64} = 20.29$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ispoljava statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do većeg uticaja na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat C:  $F_{3,64} = 27.18$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.5 % iskazuje najveću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica, a koncentracija 0.05 % najmanju. Promene procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije su u proseku slične kad se uporede ispitivana primenjena sredstva (nesignifikantna  $P \times C$  interakcija:  $F_{9,64} = 1.57$ ;  $P = 0.1416$ ).

Nakon 120 časova od početka ogleđa konstatovano je da su se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvukle sve gusenice (100 % presvučenih gusenica). Prilikom primene etarskih ulja anisa i mirođije u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), zabeleženo je presvlačenje 94 % gusenica, a prilikom primene etarskog ulja morača presvlačenje 87.78 % gusenica. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u veoma

niskoj koncentraciji, zabeleženo je presvlačenje 63.11 % gusenica što je statistički značajno manji procenat presvlačenja gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjena etarska ulja u istoj koncentraciji (tabela 8). Etarsko ulje anis i NeemAzal primenjeni u niskoj koncentraciji (0.1 %) prouzrokovali su statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u poređenju sa njihovom primenom u veoma niskoj koncentraciji. Prilikom primene anisa, mirođije i morača u niskoj koncentraciji zabeleženo je 69.33, 88, odnosno 79.33 % presvučenih gusenica. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u niskoj koncentraciji presvuklo se 24.89 % gusenica što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjena etarska ulja u istoj koncentraciji (tabela 8). Korišćenjem srednje koncentracije (0.25 %) konstatovano je da se u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivan anis presvuklo 61.11 % gusenica, a u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani mirođija i morač zapažen je statistički značajno veći procenat presvučenih gusenica, 85.78, odnosno 75.78 %. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u srednjoj koncentraciji, presvuklo se 6.22 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjena etarska ulja u istoj koncentraciji. U eksperimentalnim grupama u kojima su etarska ulja primenjena u visokoj koncentraciji (0.5 %) zabeležen je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su ona primenjena u srednjoj koncentraciji. Primenom anisa, mirođije i morača u visokoj koncentraciji zabeleženo je presvlačenje kod 47.78, 62.67, odnosno 40.83 % gusenica. Etarska ulja anisa i morača su u ometanju presvlačenja gusenica statistički značajno efikasnija u odnosu na mirođiju. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u visokoj koncentraciji presvuklo se 8.44 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjena etarska ulja (tabela 8). Prilikom primene etarskih ulja anisa, mirođije i morača u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) zabeleženo je presvlačenje kod 30.89, 59.11, odnosno 30.67 % gusenica. Anis i morač primenjeni u veoma visokoj koncentraciji uzrokovali su statistički značajno manji procenat presvlačenja gusenica u odnosu na mirođiju. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u veoma visokoj koncentraciji procenat presvučenih gusenica je bio 0 %, što znači da je NeemAzal u potpunosti

zaustavio presvlačenje gusenica iz drugog u treći larveni stupanj i da je značajno efikasniji u ometanju presvlačenja gusenica od etarskih ulja primenjenih u istoj koncentraciji.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku između etarskih ulja anisa, mirođije i morača primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 120 časova, postoje statistički značajne razlike u efektu na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{2,60} = 20.35$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc je pokazao da u proseku etarska ulja anisa i morača ostvaruju statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na etarsko ulje mirođije. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja dolazi do većeg uticaja na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat C:  $F_{4,60} = 67.20$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 1.0 % iskazuje najveću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica, a koncentracija 0.05 % najmanju. Razlike vrednosti procenta presvlačenja gusenica između ispitivanih etarskih ulja zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{8,60} = 2.48$ ;  $P = 0.0215$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod etarskog ulja anisa u odnosu na etarska ulja mirođije i morača, što znači da etarsko ulje anisa poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na etarska ulja mirođije i morača.

U proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije, u vremenskom intervalu od 120 časova, u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % su zabeležili statistički značajne razlike u zaustavljanju presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{3,64} = 112.93$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja, a među etarskim uljima anis i morač u odnosu na mirođiju. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{3,64} = 68.27$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.5 % iskazuje najveću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica, a koncentracija 0.05 % najmanju. Razlike vrednosti procenta presvlačenja gusenica između ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{9,64} = 4.22$ ;  $P = 0.0003$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom

koncentracije je dobijena kod NeemAzal-a u odnosu na ispitivana etarska ulja, što znači da NeemAzal poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na ispitivana etarska ulja.

#### **4.7. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti dominantnih komponenata trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj**

Rezultati uticaja rezidualne kontaktne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i standarda NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj prikazani su u tabeli 9.

Tokom prva 72 časa od početka ogleda, presvlačenje gusenica nije zabeleženo ni u jednoj od eksperimentalnih grupa. Početak presvlačenja gusenica u kontrolnoj i eksperimentalnim grupama u kojima su primenjene dominantne komponente etarskih ulja anisa, mirođije i morača, odnosno NeemAzal-a zabeležen je nakon 96 časova.

Nakon 96 časova od postavljanja ogleda zabeleženo je da se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvuklo 28 % gusenica, a da je u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u veoma niskoj, niskoj i srednjoj koncentraciji (0.05, 0.1 i 0.25 %) procenat presvučenih gusenica bio u opsegu od 32 do 42 %. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je NeemAzal primenjen u veoma niskoj koncentraciji, presvuklo se 26 % gusenica, u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen u niskoj koncentraciji presvuklo se 14.22 % gusenica, a u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen u srednjoj koncentraciji 6 % gusenica. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji statistički značajno snižava procenat presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu. Primenom trans-anetola u visokoj i veoma visokoj koncentraciji presvuklo se 24.22, odnosno 18.44 % gusenica, dok se prilikom primene karvona u istim koncentracijama presvuklo 30.44 %, odnosno 37.55 % gusenica. Prilikom primene NeemAzal-a u visokoj koncentraciji procenat presvučenih gusenica je statistički značajno manji u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u istoj koncentraciji, presvuklo se 4.22 % gusenica. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je NeemAzal primenjen u veoma visokoj koncentraciji

presvlačenje je u potpunosti zaustavljeno, procenat presvučenih gusenica je bio 0 % (tabela 9).

Tabela 9. Uticaj rezidualne kontaktne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona kao i standarda NeemAzal-a, na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Procenat presvučenih gusenica nakon	
		96 h $\bar{X} \pm SE$	120 h $\bar{X} \pm SE$
Trans-anetol	0.05	34.0±5.10cde	86.0±2.45f
	0.10	32.0±4.9bcd	80.0±3.16def
	0.25	42.0±8.00e	74.0±4.00cdef
	0.50	24.22±4.95bcd	44.89±5.00b
	1.00	18.44±3.83bc	34.67±2.26b
Karvon	0.05	36.0±6.78de	94.0±2.45g
	0.10	34.0±5.10cde	84.0±2.45ef
	0.25	40.0±4.47de	78.0±2.00cdef
	0.50	30.44±4.24cde	67.33±1.94cd
	1.00	37.55±2.59de	66.67±1.83c
NeemAzal	0.05	26.0±2.45bcde	70.0±3.16cde
	0.10	14.22±2.37b	33.33±3.65b
	0.25	6.0±2.45a	10.44±3.17a
	0.50	4.22±2.59a	10.67±0.27a
	1.00	0±0	0±0
Kontrola	0.00	28.0±2.00bcde	100±0
F		9.17	57.55
P		< 0.0001	< 0.0001
df		14, 60	13, 56,

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku između trans-anetola i karvona primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, ne postoje statistički značajne razlike u efektu na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{1,40} = 3.21$ ;  $P = 0.0810$ ). U proseku sa promenom primenjene koncentracije trans anetola i karvona ne dolazi do promene u uticaju na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat C:  $F_{4,40} = 2.35$ ;  $P < 0.0705$ ). Uticaj trans-anetola i karvona

na presvlačenje gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{4,40} = 1.40$ ;  $P = 0.2524$ ).

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije (0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 %), u vremenskom intervalu od 96 časova, statistički značajno razlikuju u zaustavljanju presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{2,48} = 34.83$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na trans-anetol i karvon. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{3,48} = 5.17$ ,  $P = 0.0036$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.5 % iskazuje veću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica u odnosu na niže koncentracije, koje se nisu statistički značajno razlikovale u ovom efektu. Razlike efekata ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{6,48} = 3.14$ ,  $P = 0.0112$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod NeemAzal-a u odnosu na trans-anetol i karvon, što znači da NeemAzal poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na trans-anetol i karvon.

Nakon 120 časova od postavljanja ogleđa zabeleženo je da su se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvukle sve gusenice, što znači da je procenat presvučenih gusenica bio 100 %. Primenom trans-anetola i karvona u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %) presvuklo se 86 %, odnosno 94 % gusenica. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u veoma niskoj koncentraciji zabeleženo je presvlačenje 70 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na trans-anetol i karvon. Primenom trans-anetola i karvona u niskoj koncentraciji (0.1 %) presvuklo se 80 odnosno 84 % gusenica, dok je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal zabeležen statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica (presvuklo se 33.33 % gusenica). Pri srednjoj koncentraciji (0.25 %), u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani trans-anetol i karvon, presvuklo se 74, odnosno 78 % gusenica, dok je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u srednjoj koncentraciji, zabeležen statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica, 10.44 % (tabela 9). Prilikom primene trans-anetola u visokoj



koncentraciji (0.5 %) konstatovan je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica (44.89 %) u odnosu na karvon primenjen u istoj koncentraciji (na kojem se presvuklo 67.33 % gusenica). U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u visokoj koncentraciji zabeležen je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica (10.67 %) u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u istoj koncentraciji. Primenom trans-anetola i karvona u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) presvuklo se 34.67, odnosno 66.67 % gusenica, što pokazuje da je trans-anetol primenjen u veoma visokoj koncentraciji statistički značajno efikasniji od karvona primenjenog u istoj koncentraciji. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u veoma visokoj koncentraciji procenat presvučenih gusenica je bio 0 %, što znači da je NeemAzal u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica iz drugog u treći larveni stupanj.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku između trans-anetola i karvona primenjenih u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 120 časova, postoje statistički značajne razlike u efektu na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{1,40} = 41.88$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc je pokazao da u proseku trans-anetol ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na karvon. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja dolazi do većeg uticaja na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{4,40} = 49.86$ ;  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracije 1.0 % i 0.5 % iskazuju veću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica u odnosu na niže primenjene koncentracije. Razlike vrednosti procenta presvlačenja gusenica između trans-anetola i karvona zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{4,40} = 4.34$ ;  $P = 0.0052$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod trans-anetola nego kod karvona, što znači da trans-anetol ima veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na karvon.

U vremenskom intervalu od 120 časova u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % su zabeležili statistički značajne razlike u zaustavljanju presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{2,48} = 186.53$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na trans-anetol i

karvon, a trans-anetol u odnosu na karvon. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{3,48} = 70.64$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.5 % iskazuje najveću efikasnost na smanjenje broja presvučenih gusenica, a koncentracija 0.05 % najmanju. Promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi varijanse ( $F_{6,48} = 7.22$ ,  $P = 0.0001$ ). Veća promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod NeemAzal-a u odnosu na trans-anetol i karvon, što znači da NeemAzal poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na trans-anetol i karvon.

#### **4.8. Uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja**

U tabelama 10 i 11 prikazani su rezultati uticaja digestivnog toksičnog dejstva etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i standarda NeemAzal-a, na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja. Tokom oglada mortalitet u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi nije zabeležen.

Nakon 24 časa od postavljanja oglada, zapaženo je da ispitivana etarska ulja i NeemAzal primenjeni u veoma niskoj, niskoj, srednjoj i visokoj koncentraciji (0.05, 0.1, 0.25, 0.5 %) ne prouzrokuju mortalitet gusenica. Izuzetak predstavlja eksperimentalna grupa u kojoj je etarsko ulje anisa primenjeno u visokoj koncentraciji, u kojoj je konstatovan mortalitet 4 % gusenica. Primenom veoma visoke koncentracije (1.0 %), mortalitet od 44 % gusenica zabeležen je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjena mirođija, a u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni anis i morač zabeležen je statistički značajno manji mortalitet, 20 i 6 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa su zabeležene statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica (tabela 10). NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji nije izazvao mortalitet gusenica (0 % uginulih gusenica).

Ni nakon 48 časova od postavljanja oglada primena etarskih ulja mirođije i morača kao i NeemAzal-a u veoma niskoj, niskoj i srednjoj koncentraciji (0.05, 0.1 i 0.25 %), ne uzrokuju mortalitet gusenica gubara. Anisa je izazvao mortalitet od svega 2,

odnosno 4 % gusenica primenjen u niskoj i srednjoj koncentraciji. Anis primenjen u visokoj koncentracije (0.5 %) izazvao je statistički značajno veći mortalitet, 16 % gusenica, u odnosu na morač koji je izazvao mortalitet svega 2 % gusenica, dok etarsko ulje mirođije, kao i NeemAzal primenjeni u visokoj koncentraciji nisu prouzrokovali mortalitet gusenica. Pri veoma visokoj koncentraciji (1.0 %), mortalitet od 72 i 76 % gusenica zabeležen je primenom anisa i mirođije, a statistički značajno manji mortalitet (50 %) zabeležen je primenom morača (tabela 10).

Tabela 10. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja nakon 24, 48 i 72 časa od postavljanja ogleđa ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan digestivnom toksičnošću etarskih ulja anisa, mirođije i morača i NeemAzal-a (standard). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode. Eksperimentalne grupe označene istim slovom u koloni nisu statistički značajno različite (Duncan test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon		
		24 h	48 h	72 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Anis	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	2.0±2.00d	2.0±2.00e
	0.25	0±0	4.0±2.45d	4.0±2.45e
	0.50	4.0±2.45c	16.0±2.45c	26.0±2.47c
	1.00	20.0±4.47b	72.0±3.21a	76.0±3.21b
Mirođija	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	12.5±2.50d
	0.50	0±0	0±0	10.0±3.16d
	1.00	44.0±2.45a	76.0±2.45a	88.0±3.74a
Morač	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	2.0±2.00e
	0.50	0±0	2.0±2.00d	4.0±2.45e
	1.00	6.0±2.45c	50.0±3.16b	58.0±4.90b
NeemAzal	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	0±0
	0.50	0±0	0±0	0±0
	1.00	0±0	0±0	0±0
Kontrola	0.00	0±0	0±0	0±0
F		18.12	72.08	40.52
P		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
df		3, 16	6, 28	9, 40

Nakon 72 časa od postavljanja oglada prilikom primene u veoma niskoj i niskoj koncentraciji (0.05 i 0.1 %) jedino je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen anis u niskoj koncentraciji zabeležen mortalitet od 2 % gusenica. Primenom u srednjoj koncentraciji (0.25 %) mortalitet od 12 % gusenica izazvalo je etarsko ulje mirođije, dok su anis i morač izazvali statistički značajno manji mortalitet, 4 odnosno 2 % gusenica. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji nije izazvao mortalitet gusenica gubara (tabela 10). Upotrebom visoke koncentracije (0.5 %) anis je izazvao mortalitet 26 % gusenica, dok su mirođija i morač prouzrokovali statistički značajno manji mortalitet od 10 i 4 % gusenica. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji, nije izazvao mortalitet gusenica. Etarska ulja primenjena u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %), prouzrokovala su statistički značajan porast mortaliteta gusenica u odnosu na njihovu primenu u manjim koncentracijama. Mortalitet od 88 % gusenica zabeležen je primenom mirođije, mortalite od 76 % primenom anisa, a mortalitet od 58 % primenom morača. Između ovih eksperimentalnih grupa postoje statistički značajne razlike.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da se u proseku etarska ulja anisa, mirođije i morača, primenjena u koncentracijama 0.25 %, 0.5 % i 1.0 %, u vremenskom intervalu od 72 časa, statistički značajno razlikuju u efektu na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{2,36} = 13.11$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku anis i mirođija dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na morač. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivana etarska ulja dolazi do većeg mortaliteta gusenica (efekat C:  $F_{2,36} = 158.4$ ,  $F_{2,36}$ ). Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentracije 0.5 % i 0.1 %, a koncentracija 0.5 % u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Uticaj ispitivanih etarskih ulja na mortalitet gusenica zavisi od primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{4,36} = 3.94$ ,  $P = 0.0094$ ). Veća promena procenta uginulih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod NeemAzal-a u odnosu na trans-anetol i karvon, što znači da NeemAzal poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na trans-anetol i karvon.

Nakon 96 časova od postavljanja oglada za ispitivanje digestivne toksičnosti zapažena je niska digestivna toksičnost etarskih ulja primenjenih u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %). Etarska ulja anisa, mirođije i morača su izazvale mortalitet od 6, 4 i 2 % gusenica. NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji nije prouzrokovao

mortalitet gusenica (tabela 11). Primenom niske koncentracije (0.1 %), anis izaziva statistički značajno veći mortalitet (16 % mrtvih gusenica) u odnosu na mirođiju, morač i NeemAzal koji su izazvali mortalitet od po 6 % gusenica. Primenom u srednjoj koncentraciji (0.25 %) etarsko ulje mirođije proukovalo je mortalitet 14 % gusenica, a anisa i morača 12 % gusenica, dok je NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji uzrokovao statistički značajno manji procenat mortaliteta gusenica, 2 %. Primenom visoke koncentracije (0.5 %) kod etarskog ulja anisa beležimo statistički značajno veći mortalitet gusenica (36 %) u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su primenjeni mirođija (20 % mrtvih gusenica) i morač (14 % mrtvih gusenica). NeemAzal primenjen u istoj koncentracije dovodi do mortaliteta 4 % gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima se primenjuju etarska ulja u visokoj koncentraciji zapažen je statistički značajno veći mortalitet gusenica, u odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj se primenjuje NeemAzal u istoj koncentraciji. Etarska ulja primenjena u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) poseduju statistički značajno veću efikasnost u odnosu na njihovu primenu u manjim koncentracijama. Primenjeno u veoma visokoj koncentraciji etarsko ulje mirođije uzrokuje mortalitet 100 % gusenica, a etarska ulja anisa i morača mortalitet od 80 odnosno 68 % gusenica. NeemAzal primenjen u veoma visokoj koncentraciji prouzrokovao je mortalitet 4 % gusenica, što je znatno manji mortalitet u odnosu na etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji (tabela 11).

U proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal primenjeni u koncentracijama 0.1, 0.25 i 0.5 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{3,48} = 12.93$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku ispitivana etarska ulja dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na NeemAzal, a od etarskih ulja anis dovodi do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na mirođiju i morač. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do većeg mortaliteta gusenica. Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentracije 0.25 % i 0.1 % (efekat C:  $F_{2,48} = 6.59$ ,  $P = 0.003$ ). Promena procenta uginulih gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne P × C interakcije u analizi varijanse ( $F_{6,48} = 2.49$ ,  $P = 0.0355$ ). Promena procenta uginulih gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod etarskog

ulja anisa, što znači da anis poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na etarska ulja mirođije i morača, kao i u odnosu na NeemAzal.

Tabela 11. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja nakon 96 i 120 časova od postavljanja ogleđa ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan digestivnom toksičnošću etarskih ulja anisa, mirođije i morača i NeemAzal-a (standard). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode. Eksperimentalne grupe označene istim slovom u koloni nisu statistički značajno različite (Duncan test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon	
		96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Anis	0.05	6.0±2.45efg	12.0±2.00efg
	0.10	16.0±2.45cd	26.0±2.45bcd
	0.25	12.0±3.74cdef	26.0±2.45bcd
	0.50	36.0±2.45b	36.0±2.45b
	1.00	80.0±4.47a	80.0±4.47a
Mirođija	0.05	4.0±2.45fg	8.0±2.00fgh
	0.10	6.0±2.45efg	18.0±3.74cde
	0.25	14.0±2.45cde	24.0±2.45bcde
	0.50	20.0±4.47c	32.0±3.74bc
	1.00	100±0	100±0
Morač	0.05	2.0±2.00g	4.0±2.45hi
	0.10	6.0±2.45efg	14.0±2.45def
	0.25	12.0±3.74cdef	16.0±2.45def
	0.50	14.0±2.45cde	26.0±2.45bcd
	1.00	68.0±3.74a	72.0±3.74a
NeemAzal	0.05	0±0	2.0±2.00i
	0.10	6.0±0.00efg	6.0±2.45ghi
	0.25	2.0±2.00g	4.0±2.45hi
	0.50	4.0±2.45fg	6.0±2.45ghi
	1.00	4.0±2.45fg	8.0±2.00fgh
Kontrola	0.00	0±0	0±0
F		20.02	28.09
P		< 0.0001	< 0.0001
df		17, 72	18, 76

Nakon 120 časova od postavljanja ogleđa za ispitivanje digestivne toksičnosti, primena veoma niske koncentracije (0.05 %), je dovela do mortaliteta od 12 % gusenica u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivano etarsko ulje anisa, mortaliteta od 8 % gusenica u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivano etarsko ulje mirođije, a

mortaliteta od 4 % gusenica u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivano etarsko ulje morača. NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji je izazvao mortalitet 2 % gusenica. Anis i mirođija primenjeni u veoma niskoj koncentraciji izazivaju statistički značajno veći procenat mortaliteta u odnosu na standard, dok za morač nisu uočene značajne razlike od standarda (tabela 11). Ispitivanjem efekta niske koncentracije (0.1 %) zapaženo je da najvišu toksičnost poseduje etarsko ulje anisa koje je izazvalo mortalitet 26 % gusenica, a zatim ulja mirođije i morača koja su prouzrokovala mortalitet 18 %, odnosno 14 % gusenica. NeemAzal primenjen u niskoj koncentraciji je izazvao mortalitet 6 % gusenica. Etarska ulja primenjena u niskoj koncentraciji uzrokuju statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji. Primenom srednje koncentracije (0.25 %), etarska ulja anisa, mirođije i morača su izazvala mortalitet 26, 24, odnosno 16 % gusenica. Između ovih eksperimentalnih grupa nema statistički značajnih razlika u procentu uginulih gusenica. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji je izazvao mortalitet 4 % gusenica. Etarska ulja primenjena u srednjoj koncentraciji imaju statistički značajno veću efikasnost u odnosu na NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji. Na visokoj koncentraciji (0.5 %), etarska ulja anisa, mirođije i morača su uzrokovala mortalitet od 36, 32 i 26 % gusenica i između njih nema statistički značajnih razlika. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji je doveo do mortaliteta svega 6 % gusenica. Etarska ulja primenjena u visokoj koncentraciji imaju statistički značajno veću efikasnost u odnosu na NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji (tabela 11). Etarska ulja primenjena u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) izazivaju značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na njihovu primenu u manjim koncentracijama. Pri veoma visokoj koncentraciji primene etarsko ulje mirođije je prouzrokovalo mortalitet od 100 % gusenica, dok su ulja anisa i morača izazvala mortalitet 80 odnosno 72 % gusenica. NeemAzal primenjen u vrlo visokoj koncentraciji izazvao je mortalitet od svega 8 % gusenica. što je značajno manja efikasnost u odnosu na efikasnost koju ispoljavaju etarska ulja (tabela 11).

U vremenskom intervalu od 120 časova u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal primenjeni u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{3,64} = 37.52$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku ispitivana etarska ulja dovode do

statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na NeemAzal, a da anis i mirođija dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na morača. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na mortalitet gusenica zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat C:  $F_{3,64} = 21.4$ ;  $P < 0.0001$ ). U proseku koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentracije 0.05, 0.1 i 0.25 %, a koncentracije 0.1 i 0.25 % u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na mortalitet gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (nesignifikantna  $P \times C$  interakcija:  $F_{9,64} = 1.08$ ,  $P = 0.3934$ ).

#### **4.9. Uticaj digestivne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na mortalitet gusenica gubara drugog stupnja**

Rezultati uticaja digestivne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i standarda NeemAzal-a na mortalitet gusenice gubara prikazani su u tabelama 12 i 13.

Nakon 24 časa od postavljanja ogleda za ispitivanje digestivne toksičnosti, zapaženo je da trans-anetol i karvon, kao i NeemAzal, ne poseduju toksični efekat kada su primenjeni u veoma niskoj i niskoj koncentraciji, 0.05 i 0.1 % (tabela 12). Trans-anetol i karvon primenjeni u srednjoj koncentraciji (0.25 %), dovode do mortaliteta gusenica od 22, odnosno 26 %. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u visokoj koncentraciji (0.5 %) zabeležen je statistički značajn porasta mortaliteta gusenica u odnosu na njihovu primenu u srednjoj koncentraciji. Primenom trans-anetola u visokoj koncentraciji konstatovan je mortalitet od 46 %, a primenom karvona od 50 % gusenica. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. Trans-anetol i karvon primenjeni u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %), izazivaju statistički značajno veći mortalitet gusenica, u odnosu na njihovu primenu u srednjoj i visokoj koncentraciji. Mortalitet od 72 % gusenica je zabeležen prilikom primene trans-anetola, a mortalitet 78 % gusenica prilikom primene



karvona. NeemAzal ni prilikom primene u veoma visokoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku trans-anetol i karvon primenjeni u koncentracijama 0.25, 0.5 i 1,0 % u vremenskom intervalu od 24 časa, nezavisno od primenjene koncentracije, ne ispoljavaju statistički značajno različit efekat na mortalitet gusenica, (efekat P:  $F_{1,24} = 3.7$ ,  $P = 0.0664$ ). Dankanov post hoc test je potvrdio da u proseku trans-anetola i karvona nemaju statistički značajno različit efekat na mortalitet gusenica. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola i karvona procenat uginulih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{2,24} = 118.46$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentraciju 0.5 %, a one u odnosu na koncentraciju 0.25 %. Uticaj trans-anetola i karvona na mortalitet gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$  interakcije:  $F_{2,24} = 0.12$ ,  $P = 0.8843$ ).

Zapaženo je da trans-anetol, karvon i NeemAzal primenjeni u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), ni nakon 48 časova od postavljanja ogleada ne dovode do mortaliteta gusenica. Primena karvona u niskoj koncentraciji (0.1 %) uzrokovala je mortalitet 4 %, a trans-anetola 2 % gusenica. NeemAzal primenjen u niskoj koncentraciji nije doveo do mortaliteta gusenica gubara (tabela 12). Trans-anetol i karvon primenjeni u srednjoj koncentraciji (0.25 %) prouzrokovali su mortalitet od 32.5 odnosno 34 % gusenica, što je statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su oni primenjeni u niskoj koncentraciji. NeemAzal primenjen u srednjoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u visokoj koncentraciji (0.5 %) mortalitet je iznosio 58 odnosno 64 % gusenica, što je statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na njihovu primenu u srednjoj i nižim koncentracijama. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. Primenom veoma visoke koncentracije (1.0 %), mortalitet od 92 odnosno 88 % gusenica je zabeležen u eksperimentalnim grupama u kojima su ispitivani karvon i trans-anetol, što je statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na njihovu primenu u visokoj i nižim koncentracijama. NeemAzal ni prilikom primene u veoma visokoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica (tabela 12).

Tabela 12. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja nakon 24, 48 i 72 časa od postavljanja ogleđa ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan digestivnom toksičnošću dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona kao i standarda NeemAzal-a. F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize varijanse; Razlike između sredina sa istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon		
		24 h	48 h	72 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Trans-anetol	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	2±2.000d	4.0±2.45c
	0.25	22.0±3.74c	32.5±2.50c	34.0±2.45b
	0.50	46.0±2.45b	58.0±3.74b	86.0±4.00a
	1.00	72.0±2.00a	88.0±3.74a	100±0.00
Karvon	0.05	0±0	0±0	4.0±2.45c
	0.10	0±0	4.0±2.45d	6.0±2.45c
	0.25	26.0±2.45c	34.0±2.45c	36.0±2.45b
	0.50	50.0±3.16b	64.0±4.00b	88.0±3.70a
	1.00	78.0±3.74a	92.0±3.74a	100±0
NeemAzal	0.05	0±0	0±0	0±0
	0.10	0±0	0±0	0±0
	0.25	0±0	0±0	0±0
	0.50	0±0	0±0	0±0
	1.00	0±0	0±0	0±0
Kontrola	0.00	0±0	0±0	0±0
F		48.2	56.24	47.63
P		< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
df		5, 24	7, 32	6, 28

U vremenskom intervalu od 48 časova, nezavisno od primenjene koncentracije, u proseku trans-anetol i karvon primenjeni u koncentracijama 0.1, 0.25 i 0.5 i 1.0 % ne ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{1,32} = 2.21$ ,  $P = 0.1467$ ). Dankanov post hoc test je potvrdio da u proseku između trans-anetola i karvona nema statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola i karvona procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{3,32} = 130.44$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 1.0 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentracije 0.1, 0.25, 0.5 %, koncentracija 0.5 % u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %, a koncentracija 0.25 % u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Uticaj trans-anetola i

karvona na mortalitet gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (nesignifikantna  $P \times C$  interakcija:  $F_{3,32} = 0.9848$ ;  $P = 0.05$ ).

Nakon 72 časa od postavljanja ogleđa, prilikom primene u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), jedino je kod karvona zabeležen mortalitet od 4 % gusenica, dok trans-anetol i NeemAzal primenjeni u istoj koncentraciji ne uzrokuju mortalitet gusenica. Primena karvona u niskoj koncentraciji (0.1 %), dovodi do mortaliteta 6 % gusenica, trans-anetola 4 % gusenica, dok NeemAzal, primenjen u niskoj koncentraciji nije izazvao mortalitet gusenica gubara (tabela 12). Trans-anetol i karvon primenjeni u srednjoj koncentraciji (0.25 %), izazvali su statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na njihovu primenu u niskoj koncentraciji. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon došlo je do mortaliteta 34, odnosno 36 % gusenica. NeemAzal ni primenom u srednjoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u visokoj koncentraciji (0.5 %), zabeležen je mortalitet od 86, odnosno 88 % gusenica. Trans-anetol i karvon primenjeni u visokoj koncentraciji, dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na njihovu primenu u srednjoj koncentraciji. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji nije izazivao mortalitet gusenica. Primenjeni u veoma visokoj koncentraciji i trans-anetol i karvon prouzrokuju mortalitet 100 % gusenica, dok NeemAzal čak ni primenjen u veoma visokoj koncentraciji ne dovodi do mortalitet gusenica.

U proseku trans-anetol i karvon primenjeni u koncentracijama 0.1, 0.25 i 0.5 % u vremenskom intervalu od 72 časa, ne ispoljavaju statistički značajno različit efekat na mortalitet gusenica, (efekat  $P$ :  $F_{1,24} = 0.45$ ,  $P = 0.5106$ ). Dankanov post hoc test je potvrdio da u proseku između trans-anetola i karvona nema statistički značajne razlike u mortalitetu gusenica. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola i karvona procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat  $C$ :  $F_{2,24} = 121.63$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentraciju 0.1 % i 0.25 %, a koncentracija 0.25 % u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Uticaj trans-anetola i karvona na mortalitet gusenica ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$  interakcije:  $F_{2,24} = 0.06$ ,  $P = 0.946$ ).

Nakon 96 časova od postavljanja ogleđa za ispitivanje digestivne toksičnosti (tabela 13), zapaženo je da trans-anetol i karvon dovode do mortaliteta 8, odnosno 6 %

gusenica kada se primene u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), dok NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji nije imao toksično delovanje. Primenjeni u niskoj koncentraciji (0.1 %), karvon i trans-anetol dovode do mortaliteta 16, odnosno 10 % gusenica, dok NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji dovodi do statistički značajno nižeg procenta mortaliteta (2 % gusenica). Trans-anetol i karvon primenjeni u srednjoj koncentraciji (0.25 %), dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na njihovu primenu u manjim koncentracijama. Trans-anetol je prouzrokovao mortalitet 38, a karvon 40 % gusenica. Ove grupe se statistički značajno razlikuju u mortalitetu gusenica od eksperimentalne grupe u kojoj je primenjen NeemAzal u srednjoj koncentraciji i u kojoj je došlo do mortaliteta svega 2 % gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima se primenjuju trans-anetol i karvon u visokoj i veoma visokoj koncentraciji (0.5 % i 1.0 %) došlo je do mortaliteta 100 % gusenica, dok je u eksperimentalnim grupama u kojima je primenjen NeemAzal u istim koncentracijama došlo do mortaliteta 4, odnosno 6 % gusenica.

U proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal primenjeni u koncentracijama 0.1 i 0.25 %, u vremenskom intervalu od 96 časova, ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{2,24} = 39.17$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku trans-anetol i karvon dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na NeemAzal. U proseku, sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a, procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{1,24} = 21.16$ ,  $P = 0.0001$ ). Koncentracija 0.25 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Razlike efekata trans-anetola, karvona i NeemAzal-a na mortalitet gusenica zavise od primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$  interakcije:  $F_{2,24} = 5.63$ ,  $P = 0.0099$ ). Veće promene mortaliteta gusenica sa porastom koncentracije su dobijene kod trans-anetola i karvona u odnosu na NeeAzal, što znači da trans-anetol i karvon iskazuju veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na NeemAzal.

Tabela 13. Mortalitet gusenica gubara drugog stupnja nakon 96 i 120 časova od postavljanja ogleda ( $\bar{X} \pm SE$ ) izazvan digestivnom toksičnošću dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona kao i standarda NeemAzal-a. F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Mortalitet gusenica gubara u % nakon	
		96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Trans-anetol	0.05	8.0±2.00bcd	8.0±2.00de
	0.10	10.0±3.16bc	20.0±0.00bc
	0.25	38.0±3.74a	42.0±3.74a
	0.50	100±0	100±0
	1.00	100±0	100±0
Karvon	0.05	6.0±2.45cd	8.0±2.00de
	0.10	16.0±4.00b	24.0±2.45b
	0.25	40.0±4.47a	46.0±2.45a
	0.50	100±0.00	100±0
	1.00	100±0.00	100±0
NeemAzal	0.05	0±0	2.0±2.00e
	0.10	2.0±2.00d	4.0±2.45e
	0.25	2.0±2.00d	4±2.45e
	0.50	4.0±2.45cd	8±2.00de
	1.00	6.0±2.45cd	14±2.45bcd
Kontrola	0.00	0±0	0±0
F		11.65	17.48
P		< 0.0001	< 0.0001
df		9, 40	10, 44

Nakon 120 časova od postavljanja ogleda (tabela 13), zapaženo je da trans-anetol i karvon primenjeni u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %), izazivaju mortalitet 8 % gusenica. NeemAzal primenjen u veoma niskoj koncentraciji izazvao je mortalitet svega 2 % gusenica. Eksperimentalne grupe u kojima su trans-anetol, karvon i NeemAzal primenjeni u veoma niskoj koncentraciji se statistički nisu značajno razlikovale. Trans-anetol i karvon primenjeni u niskoj koncentraciji (0.1 %), dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na njihovu primenu u veoma niskoj koncentraciji. Primenjeni u niskoj koncentraciji, trans-anetol i karvon dovode do mortaliteta 20 odnosno 24 % gusenica. Ove eksperimentalne grupe se statistički značajno razlikuju u procentu mortaliteta gusenica, od eksperimentalne grupe u kojoj je

primenjen NeemAzal u niskoj koncentraciji i u kojoj je došlo do mortaliteta od svega 4 % gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u srednjoj koncentraciji (0.25 %) konstatovan je mortalitet 42, odnosno 46 % gusenica i u ovim eksperimentalnim grupama je zabeležen statistički značajno veći mortalitet gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su oni primenjeni u manjim koncentracijama. Takođe, ove grupe se statistički značajno razlikuju od eksperimentalne grupe u kojoj je primenjen NeemAzal u srednjoj koncentraciji, a u kojoj je došlo do mortaliteta svega 4 % gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima se primenjuju trans-anetol i karvon u visokoj i veoma visokoj koncentraciji (0.5 % i 1.0 %) došlo je do mortaliteta 100 % gusenica, dok je u eksperimentalnim grupama u kojima je primenjen NeemAzal u istim koncentracijama došlo do mortaliteta 8, odnosno 14 % gusenica (tabela 13). Eksperimentalna grupa NeemAzal 1.0 % se statistički značajno razlikuje od eksperimentalnih grupa u kojima je NeemAzal primenjen u manjim koncentracijama.

U vremenskom intervalu od 120 časova u proseku trans-anetol i karvon primenjeni u koncentracijama 0.05, 0.1 i 0.25 % ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na mortalitet gusenica (efekat P:  $F_{2,36} = 47.65$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku trans-anetol i karvon dovode do statistički značajno većeg mortaliteta gusenica u odnosu na NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola i karvona procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{2,36} = 26.99$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.25 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na mortalitet gusenica u odnosu na koncentracije 0.05 i 0.1 %, a koncentracija 0.1 % u odnosu na 0.05 %. Promena procenta uginulih gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi varijanse ( $F_{4,36} = 4.49$ ,  $P = 0.0048$ ). Veća promena mortaliteta gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod trans-anetola i karvona u odnosu na NeeAzal, što znači da trans-anetol i karvon iskazuju veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na NeemAzal.

#### **4.10. Letalna koncentracija za digestivnu toksičnost trans-anetola i karvona na gusenice gubara**

Ispitivanjem svih primenjenih koncentracija dominantnih komponenata, trans-anetol i karvon, u intervalima 24, 48, 72 i 96 časova zapaža se njihovo toksično dejstvo na gusenice gubara (tabela 14). Toksičnost je evidentna već nakon 24 časa, a u funkciji vremena do kraja ogleada imala je konstantan rast. Intervali povrenja na nivou 95 % za LC50 i LC95 su relativno suženi, a nagibi regresije su oštri, što ukazuje na značajnu osetljivost ispitivanih koncentracija u vremenskom intervalu. Za obe dominantne komponente su dobijene statistički značajne regresije u svim ispitivanim vremenskim intervalima. Nakon 24 časa od postavljanja ogleada, nešto izraženiju inicijalnu toksičnost imao je karvon, 0.49 % (LC<sub>50</sub>) i 1.88 % (LC<sub>95</sub>), u odnosu na 0.61 % (LC<sub>50</sub>) i 2.51 % (LC<sub>95</sub>), koliko je imao trans-anetol. Razlika u toksičnosti je prisutna samo do intervala od 48 časova, a već pri oceni nakon 72 časa, digestivna toksičnost trans-anetola dostiže nivo delovanja karvona, dok je 95 % interval trans-anetola znatno uži. Toksičnost nakon 96 časova je već stabilizovana i bliska vrednostima sa očitavanja nakon 72 časa. Može se reći da obe dominantne komponente, ispoljavaju najizraženiju toksičnost nakon 72 časa, na šta ukazuju i vrednosti regresije, posebno za trans-anetol, a nešto manje i za karvon (tabela 14). U vremenskom intervalu od 72 časa, koncentracija koja dovodi do mortaliteta 50 % gusenica je u slučaju trans-anetola iznosila 0.29 %, a u slučaju karvona 0.26 %, dok je koncentracija koja dovodi do mortaliteta 95 % gusenica u slučaju trans-anetola iznosila 0.68 %, a u slučaju karvona 0.77 %. Etarska ulja anisa, mirođije i morača, izraženije toksičano dejstvo poseduju jedino primenjena u koncentraciji 1.0 %, dok je prilikom primene manjih koncentracija njihova toksičnost vrlo niska, ili izostaje, pa se njihova regresija ne može dobiti. Biološko sredstvo NeemAzal poseduje veoma nisko toksično delovanje, te nije uključeno u tabelu.

Tabela 14. Probit analiza digestivne toksičnosti dominantnih komponenata trans-anetola i karvona za gusenice gubara drugog stupnja (n=300/1800)<sup>a</sup>, nakon 24, 48, 72 i 96 časova od početka ogleada

Primenjeno sredstvo	Vreme (h)	Nagib ( $\pm$ St.gr.nagiba)	LC50 (%) (95% CI)	LC95 (%) (95% CI)
Trans-anetol	24	2.68( $\pm$ 0.35)	0.61 (0.45-0.91)	2.51 (1.44-8.97)
	48	3.67( $\pm$ 0.35)	0.41 (0.31-0.54)	1.41 (0.94-3.11)
	72	4.12( $\pm$ 0.52)	0.29 (0.23-0.36)	0.68 (0.51-1.18)
	96	3.33( $\pm$ 1.02)	0.21 (0.004-2.65)	0.67 (0.30- *****)
Karvon	24	2.85( $\pm$ 0.15)	0.49 (0.38-0.69)	1.88 (1.17-5.09)
	48	3.11( $\pm$ 0.34)	0.36 (0.28-0.47)	1.22 (0.83-2.52)
	72	3.47( $\pm$ 0.76)	0.26 (0.12-0.50)	0.77 (0.42-9.72)
	96	3.33( $\pm$ 0.66)	0.20 (0.064-0.56)	0.64 (0.32-93.88)

CI Interval poverenja; Znacajnost za nivo  $P < 0.05$ ; vrlo visoka vrednost: \*\*\*\*\*,<sup>a</sup> broj testiranih larvi u ogledu

#### **4.11. Uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj**

U ovom ogledu praćen je uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije, morača, kao i standarda, NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj, a rezultati su prikazani u tabeli 15.

Tokom prva 72 časa od početka ogleada, presvlačenje gusenica nije zabeleženo ni u jednoj od eksperimentalnih grupa.

Početak presvlačenja gusenica u kontrolnoj i ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen je nakon 96 časova (tabela 15). Nakon ovog perioda zabeleženo je da se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvuklo 26 % gusenica gubara, dok je u svim ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen manji procenat presvučenih gusenica. Primenom veoma niske (0.05 %), niske (0.1 %) i srednje koncentracije (0.25 %) ispitivana etarska ulja nisu statistički značajno smanjila procenat presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu, procenat presvučenih gusenica se kretao u opsegu od 17.11 do 25.33 %. NeemAzal primenjen u veoma niskoj i niskoj koncentraciji je statistički značajno smanjio procenat presvučenih gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja i kontrolu, presvuklo se 6, odnosno 2.22 % gusenica, dok je primenom u srednjoj koncentraciji presvlačenje gusenica u potpunosti zaustavio.



Tabela 15. Uticaj digestivne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a, na procenat presvlačenja gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Procenat presvučenih gusenica nakon	
		96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Anis	0.05	17.11±2.71b	90.83±2.31fg
	0.10	21.67±2.69b	78.93±4.60de
	0.25	18.17±2.73b	83.93±2.26defg
	0.50	9.52±3.91a	21.43±2.92b
	1.00	0±0	0±0
Mirođija	0.05	25.33±3.27b	86.89±2.29f
	0.10	17.11±2.71b	80.75±4.29defg
	0.25	20.83±2.15b	76.43±4.64d
	0.50	7.3±3.04a	20.71±3.72b
	1.00	/	/
Morač	0.05	22.44±3.71b	91.56±2.13g
	0.10	19.33±2.37b	90.83±2.31fg
	0.25	18.17±2.73b	88.33±3.53efg
	0.50	6.22±2.55a	62.5±4.15c
	1.00	0±0	0±0
NeemAzal	0.05	6.0 ±2.45a	22.44±1.94b
	0.10	2.22 ±2.22a	12.89±2.35b
	0.25	0±0	4.44±2.72a
	0.50	0±0	0±0
	1.00	0±0	0±0
Kontrola	0.00	26.0±2.45b	98.0±2.00h
F		6.68	56.97
P		< 0.0001	< 0.0001
df		14, 60	15, 64

U eksperimentalnim grupama u kojima su etarska ulja primenjena u visokoj koncentraciji (0.5 %) procent presvučenih gusenica se kretao u opsegu od 6.22 do 9.52 % što je statistički značajno manji procent u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su ona primenjena u manjim koncentracijama, kao i u odnosu na kontrolu. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji je u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica, procent presvučenih gusenica je bio 0 %. Etarska ulja anisa i morača, kao i NeemAzal, primenjeni u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) su u potpunosti zaustavili presvlačenje gusenica gubara (presvučenih gusenica je bio 0 %), dok se u slučaju

etarskog ulja mirođije procenat presvučenih gusenica nije mogao odrediti jer je procenat mortaliteta gusenica bio 100 %.

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da u proseku etarska ulja anisa, mirođije i morača, nezavisno od primenjene koncentracije (0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 %), u vremenskom intervalu od 96 časova, nisu ispoljila statistički značajno različiti efekat na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{2,48} = 0.08$ ,  $P = 0.9218$ ). Dankanov post hoc test je potvrdio da u proseku između ispitivanih etarskih ulja nema statistički značajne razlike u presvlačenja gusenica. U proseku sa porastom primenjene koncentracije etarskih ulja procenat presvučenih gusenica se smanjuje. Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na niže primenjene koncentracije (efekat C:  $F_{3,48} = 14.43$ ,  $P < 0.0001$ ). Razlike efekata ispitivanih etarskih ulja na presvlačenje gusenica ne zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{6,48} = 0.48$ ,  $P = 0.8190$ ).

Primenom u koncentracijama 0.05 i 0.1 %, u vremenskom intervalu od 96 časova ispitivana etarska ulja u proseku ostvaruju slabiji uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na NeemAzal (efekat P:  $F_{3,32} = 22.80$ ,  $P < 0.0001$ ). U proseku između koncentracija 0.05 i 0.1 % nema statistički značajne razlike u uticaju na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat C:  $F_{1,32} = 2.14$ ,  $P = 0.1538$ ). Razlike efekata ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica ne zavise od njihove primenjene koncentracije (nesignifikantna  $P \times C$  interakcija:  $F_{3,32} = 1.39$ ,  $P = 0.2626$ ).

Nakon 120 časova od postavljanja ogleđa zabeleženo je da se u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvuklo 98 % gusenica gubara, dok je u svim ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica. Primenom u veoma niskoj koncentraciji (0.05 %) etarska ulja su prouzrokovala statistički značajno manji procenat presvlačenja gusenica u odnosu na kontrolnu eksperimentalnu grupu. Primenom anisa i mirođije presvuklo se 90.83 i 86.89 %, a primenom morača 91.56 % gusenica. U slučaju NeemAzal-a primenjenog u veoma niskoj koncentraciji presvuklo se 22.44 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su etarska ulja primenjena u veoma niskoj koncentraciji, kao i u odnosu na kontrolu (tabela 15). Prilikom primene niske koncentracije (0.1 %), anis je prouzrokovao statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na njegovu primenu u veoma

niskoj koncentraciji, presvuklo se 78.93 % gusenica. U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjeno etarsko ulje mirođije presvuklo se 80.75 %, a u grupi u kojoj je primenjen morač 90.83 % gusenica. Ispitivana etarska ulja su statistički značajno snizila procenat presvučenih gusenica u odnosu na procenat presvučenih gusenica u kontroli (98 %). Najizraženiji uticaj na smanjenje broja presvučenih gusenica primenom niske koncentracije zabeležen je upotrebom NeemAzal-a, kada se presvuklo 12.89 % gusenica i u ovoj eksperimentalnoj grupi je zabeležen statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji, kao i u odnosu na kontrolnu eksperimentalnu grupu. Primenom srednje koncentracije (0.25 %), u eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja anisa, mirođije i morača, presvuklo se 83.93, 76.43, odnosno 88.33 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na kontrolu. Najizraženiji uticaj na smanjenje broja presvučenih gusenica pri primeni srednje koncentracije, zabeležen je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal, presvuklo se 4.44 % gusenica i u ovoj eksperimentalnoj grupi je zabeležen statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji, kao i u odnosu na kontrolu (tabela 15) . U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjena etarska ulja u visokoj koncentraciji (0.5 %) procent presvučenih gusenica je statistički značajno manji u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su ona primenjena u manjim koncentracijama. Primenom etarskih ulja anisa i mirođije presvuklo se 21.43 %, odnosno 20.71 % gusenica, a primenom ulja morača statistički značajno veći procenat gusenica (62.5 %). Najizraženiji uticaj na smanjenje broja presvučenih gusenica, prilikom primene u visokoj koncentraciji, zabeležen je u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal, presvučenih gusenica nije bilo (0 % presvučenih gusenica). Etarska ulja anisa i morača, kao i NeemAzal, primenjeni u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) su u potpunosti zaustavili presvlačenje gusenica gubara (procenat presvučenih gusenica je bio 0 %) dok se u slučaju etarskog ulja mirođije procenat presvučenih gusenica nije mogao odrediti jer je procenat mortaliteta gusenica bio 100 %.

Etarska ulja anisa, mirođije i morača su u proseku, nezavisno od primenjene koncentracije, u vremenskom intervalu od 120 časova, u koncentracijama (0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 %) ostvarila statistički značajne razlike u efektu na presvlačenja gusenica

(efekat P:  $F_{2,48} = 19.12$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku anis i mirođija ostvaruju statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na morač. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{3,48} = 85.94$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.5 % dovodi do statistički značajno manjeg broja presvučenih gusenica u odnosu na koncentracije 0.25 %, 0.1 % i 0.05 %, a koncentracije 0.25 % i 0.1 % u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi varijanse ( $F_{6,48} = 3.27$ ,  $P = 0.0089$ ). Veće promene procenta presvučenih gusenica sa povećanjem koncentracije su dobijene kod anisa i mirođije u odnosu na etarsko ulje morača, što znači da anis i mirođija poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na morač.

U proseku između ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a nezavisno od primenjene koncentracije (0.05, 0.1 i 0.25 %), u vremenskom intervalu od 120 časova, postoje statistički značajne razlike u efektu na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{3,48} = 175.22$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{2,48} = 8.56$ ,  $P = 0.0007$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracije 0.1 % i 0.25 % dovode do statistički značajno manjeg broja presvučenih gusenica u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Razlike efekata ispitivanih etarskih ulja na presvlačenje gusenica ne zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{6,48} = 1.89$ ,  $P = 0.1012$ ).

#### **4.12. Uticaj digestivne toksičnosti dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj**

Rezultati uticaja digestivne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i standarda NeemAzal-a

na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj prikazani su u tabeli 16.

Tokom prva 72 časa od početka ogleda, presvlačenje gusenica nije zabeleženo ni u jednoj od eksperimentalnih grupa. Početak presvlačenja gusenica u kontrolnoj i ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen je nakon 96 časova od postavljanja ogleda.

Nakon 96 časova od postavljanja ogleda u kontrolnoj grupi presvuklo se 28 % gusenica, dok je u svim ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen manji procenat presvučenih gusenica. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni trans-anetol i karvon u veoma niskoj koncentracije (0.05 %) presvuklo se po 19.56, odnosno 18.44 % gusenica, a u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen NeemAzal u istoj koncentraciji presvuklo se 8 % gusenica. Efikasnost digestivne toksičnosti NeemAzal-a u zaustavljanju presvlačenja gusenica, prilikom primene u veoma niskoj koncentraciji je statistički značajno veća u odnosu na trans-anetol i karvon prilikom njihove primene u istoj koncentraciji (tabela 16). Primenom u niskoj koncentraciji (0.1 %) u slučaju trans-anetola presvuklo se 20.11 %, a u slučaju karvona 7.3 % gusenica što je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na njegovu primenu u veoma niskoj koncentraciji. Primenom NeemAzal-a u niskoj koncentraciji presvuklo se 4.22 % gusenica. Procenat presvučenih gusenica je statistički značajno manji primenom karvona i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji u odnosu na procenat presvučenih gusenica dobijen primenom trans-anetola u istoj koncentraciji. Trans-anetol, karvon i Neemazal, primenjeni u srednjoj koncentraciji (0.25 %) su u potpunosti zaustavili presvlačenje gusenica gubara, tako da je procenat presvučenih gusenica bio 0 %. Primenom trans-anetola i karvona u koncentracijama 0.5 i 1.0 % broj presvučenih gusenica se nije mogao odrediti jer je u ovim eksperimentalnim grupama zabeležen 100 % mortalitet gusenica gubara, dok je NeemAzal primenjen u ovim koncentracijama u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica (0 % presvučenih gusenica).

Dvofaktorska analiza varijanse je pokazala da su u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije (0.05 i 0.1 %), u vremenskom intervalu od 96 časova, imali statistički značajno različiti uticaj na presvlačenje gusenica (efekat P:  $F_{2,24} = 10.21$ ,  $P = 0.0006$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku NeemAzal ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na trans-anetol i karvon. Karvon je ispoljio značajniji efekat u

odnosu na trans-anetol. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{1,24} = 5.91$ ,  $P = 0.0229$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da u proseku koncentracija 0.1 % dovodi do statistički značajno manjeg broja presvučenih gusenica u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Razlike efekata trans-anetola, karvona i NeemAzal-a na presvlačenje gusenica ne zavise od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{2,24} = 2.0$ ,  $P = 0.1569$ ).

Tabela 16. Uticaj digestivne toksičnosti dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona kao i standarda NeemAzal-a, na presvlačenje gusenica gubara iz drugog u treći larveni stupanj ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnosi i P vrednosti dobijeni jednofaktorskom analizom varijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti označenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	Procenat presvučenih gusenica nakon	
		96 h	120 h
		$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$
Trans-anetol	0.05	19.56±4.82b	76.22±3.84c
	0.10	20.11±5.34b	70.0±3.06c
	0.25	0±0	6.86±4.3a
	0.50	/	/
	1.00	/	/
Karvon	0.05	18.44±4.69b	71.78±2.53c
	0.10	7.3±3.04a	26.07±3.73b
	0.25	0±0	0±0
	0.50	/	/
	1.00	/	/
NeemAzal	0.05	8.0 ±2.00a	26.67±2.79b
	0.10	4.22 ±2.59a	14.44±2.28b
	0.25	0±0	6.44±2.64a
	0.50	0±0	0±0
	1.00	0±0	0±0
Kontrola	0.00	28.0±2b	96.0±2.45d
F		8.24	55.87
P		< 0.0001	< 0.0001
df		6, 28	8, 36

Nakon 120 časova od postavljanja ogleada u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi presvuklo se 96 % gusenica gubara, dok je u svim ostalim eksperimentalnim grupama zabeležen statistički značajno manji procenat presvlačenja. Primenom veoma niske

koncentracije (0.05 %) u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivan trans-*anetol* presvuklo se 76.22 % gusenica, a u eksperimentalnoj grupi u kojoj je ispitivan *karvon*, 71.78 % gusenica. Primenom *NeemAzal-a* u veoma niskoj koncentraciji zabeleženo je presvlačenje kod 26.67 % gusenica, statistički značajno manje nego primenom *trans-*anetola** i *karvona* u istoj koncentraciji (tabela 16). U eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen *trans-*anetol** u niskoj koncentraciji (0.1 %) presvuklo se 70 % gusenica, a u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjen *karvon*, presvukao se statistički značajno manji procenat gusenica, 26.07 %. Primenom *NeemAzal-a* u niskoj koncentraciji presvuklo se 14.44 % gusenica, što je statistički značajno manji procenat presvlačenja u odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj je primenjen *trans-*anetol**, ali ne i odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj je primenjen *karvon*. U eksperimentalnim grupama u kojima su primenjeni *trans-*anetol** i *NeemAzal* u srednjoj koncentraciji (0.25 %), zabeležen je statistički značajno manji procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su oni primenjeni u manjim koncentracijama, presvlačenje je zabeleženo kod svega 6.86 %, odnosno 6.44 % gusenica, dok je *karvon* u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica. Primenom *trans-*anetola** i *karvona* u koncentraciji 0.5 i 1.0 % broj presvučenih gusenica se nije mogao odrediti jer je u ovim eksperimentalnim grupama zabeležen 100 % mortalitet gusenica gubara, dok je *NeemAzal* primenjen u ovim koncentracijama u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica gubara (0 % presvičenih gusenica).

U proseku između *trans-*anetola**, *karvona* i *NeemAzal-a* su nezavisno od primenjene koncentracije (0.05, 0.1 %), u vremenskom intervalu od 120 časova, zabeležene statistički značajne razlike u efektu na zaustavljanje presvlačenja gusenica (efekat P:  $F_{2,24} = 122.59$ ,  $P < 0.0001$ ). *Dankanov post hoc test* je pokazao da u proseku *NeemAzal* ostvaruje statistički značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica u odnosu na *trans-*anetol** i *karvon*. *Karvon* iskazuje statistički značajno veći uticaj u odnosu na *trans-*anetol**. U proseku, sa porastom primenjene koncentracije *trans-*anetola**, *karvona* i *NeemAzal-a*, procenat presvučenih gusenica se smanjuje (efekat C:  $F_{1,24} = 62.22$ ,  $P < 0.0001$ ). *Dankanov post hoc test* je pokazao da u proseku koncentracija 0.1 % dovodi do statistički značajno manjeg broja presvučenih gusenica u odnosu na koncentraciju 0.05 %. Promena procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo

do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi varijanse ( $F_{2,24} = 17.15$ ,  $P < 0.0001$ ). Najveće promene procenta presvučenih gusenica sa porastom koncentracije su dobijene kod karvona, što znači da karvon poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije od trans-anetola i NeemAzal-a.

#### **4.13. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona i NeemAzal-a na indekse rasta i ishrane gusenica gubara četvrtog stupnja**

##### **4.13.1. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica gubara**

U tabeli 17 prikazani su rezultati uticaja ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica gubara četvrtog stupnja.

Gusenice gubara u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi imaju najveću relativnu brzinu rasta čija je vrednost  $0.23 \text{ mg} / \text{mg} / \text{dan}$ , a u eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice gubara hranjene veštačkom hranom sa dodatkom ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a beležimo statistički značajno manje vrednosti RGR. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja i NeemAzal-a u niskoj (0.1 %) i srednjoj koncentraciji (0.25 %), relativna brzina rasta gusenica je u rasponu od  $0.04$  do  $0.08 \text{ mg} / \text{mg} / \text{dan}$  i između ovih eksperimentalnih grupa, statistički značajne razlike nisu zabeležene (tabela 17). U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u visokoj koncentraciji (0.5 %), konstatovane su statistički značajno manje vrednosti parametra RGR u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u manjim koncentracijama. Etarska ulja primenjena u visokoj koncentraciji prouzrokovala su pad u biomasi gusenica, to jest, negativne vrednosti parametra RGR. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom ulja anisa i morača, beležimo vrednost parametara RGR u iznosu od  $-0.04 \text{ mg} / \text{mg} / \text{dan}$ , a kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom ulja mirođije  $-0.03 \text{ mg} / \text{mg} / \text{dan}$ . Između grupa gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u visokoj koncentraciji,



statistički značajne razlike ne postoje. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u visokoj koncentraciji, beležimo statistički značajno veću vrednost parametra RGR (0.03 mg / mg / dan), u odnosu na gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u istoj koncentraciji.

Tabela 17. Rezultati uticaja etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost dobijeni jednofaktorskom analizom kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti RGR obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (mg / (mg × dana))
Anis	0.10	0.04±0.011b
	0.25	0.04±0.011b
	0.50	-0.04±0.004c
Mirođija	0.10	0.08±0.034b
	0.25	0.05±0.025b
	0.50	-0.03±0.018c
Morač	0.10	0.05±0.015b
	0.25	0.05±0.019b
	0.50	-0.04±0.003c
NeemAzal	0.10	0.04±0.013b
	0.25	0.03±0.003b
	0.50	0.03±0.007b
Kontrola	0.00	0.23±0.04a
F		13.65
P		< 0.0001
df		12, 116

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na brzinu promene mase gusenica (GR) (efekat P:  $F_{3,107} = 11.84$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da je brzina promene mase gusenica izloženih etarskim uljima statistički značajno veća u odnosu na NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do smanjenja brzine rasta gusenica (efekat C:  $F_{2,107} = 22.35$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje brzine rasta gusenica u odnosu

na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Pored toga, na najvećoj primenjenoj koncentraciji ulja je uočeno da gusenice gube na masi u posmatranom vremenskom intervalu. Promena brzine rasta gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi kovarijanse ( $F_{6,107} = 5.94$ ;  $P < 0.0001$ ). Manju promene brzine rasta gusenica sa porastom koncentracije su dobijene kod ispitivanih etarskih ulja u odnosu na NeemAzal, što znači da ispitivana etarska ulja poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na NeemAzal. Etarska ulja anisa i morača ispoljavaju veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na etarsko ulje mirođije.

#### **4.13.2. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta gusenica gubara (RGR)**

U tabeli 18 prikazani su rezultati uticaja dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a, na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica gubara četvrtog stupnja.

Najveću relativnu brzinu rasta 0.23 mg / mg / dan, beležimo kod gusenica gubara u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi, a u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodacima trans-anetola, karvona i NeemAzal-a konstatovana je statistički značajno manja relativna brzina rasta gusenica. Kod gusenice hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji (0.1 %) parametar RGR ima vrednost 0.05 mg / mg / dan, odnosno 0.04 mg / mg / dan. Gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u niskoj koncentraciji gube na biomasi, parametar RGR ima negativnu vrednost, -0.02 mg / mg / dan. Između grupa gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji, nisu zabeležene statistički značajne razlike (tabela 18).

Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %) parametar RGR ima vrednost 0.03 mg / mg / dan. Gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u srednjoj koncentraciji gube na biomasi, parametar RGR ima vrednost -0.08 mg / mg / dan i kod ovih gusenica parametar RGR ima statistički značajno nižu vrednost u odnosu na parametar RGR gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i

NeemAzal-a u istoj koncentraciji. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i karvona u visokoj koncentraciji (0.5 %) parametar RGR ima negativne vrednosti (-0.05 i -0.09 mg / mg / dan) što znači da gusenice gube na biomasi. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. U eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u visokoj koncentraciji vrednost parametra RGR je 0.04 mg / mg / dan (tabela 18). Trans-anetol i karvon primenjeni u visokoj koncentraciji su statistički značajno efikasnije delovali na usporavanje relativne brzine rasta gusenica u odnosu na NeemAzal primenjen u istoj koncentraciji.

Tabela 18. Rezultati uticaja dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu rasta (RGR) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti RGR obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (mg / (mg × dana))
Trans-anetol	0.10	0.05±0.011b
	0.25	0.03±0.009b
	0.50	-0.05±0.007c
Karvon	0.10	-0.02±0.012bc
	0.25	-0.08±0.008c
	0.50	-0.09±0.007c
NeemAzal	0.10	0.04±0.012b
	0.25	0.03±0.004b
	0.50	0.04±0.004b
Kontrola	0.10	0.23±0.017a
F		79.36
P		< 0.0001
df		9, 89

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na brzinu promene mase gusenica (GR) (efekat P:  $F_{2,80} = 51.3$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da karvon ima najizraženiji negativan uticaj na gusenice gubara koje na svim koncentracijama pokazuju smanjenje mase. Suprotno

tome, gusenice izložene NeemAzal-u bez obzira na primenjenu koncentraciju povećavaju masu u ispitivanom vremenskom periodu, mada je taj porast mase značajno manji nego kod kontrolnih gusenica. Efikasnost trans-anetola je između karvona i NeemAzal-a i samo je na najvećoj koncentraciji uočeno smanjenje mase nakon dva dana delovanja. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a dolazi do smanjenja brzine rasta gusenica, ili čak gubitka njihove mase (efekat C:  $F_{2,80} = 3.76$ ,  $P = 0.0275$ ). Koncentracija 0.5 % u proseku ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje brzine rasta pri čemu čak dolazi do gubitka mase gusenica u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Promena brzine rasta gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi kovarijanse ( $F_{4,80} = 5.87$ ;  $P = 0.0003$ ). Najveća promena brzine rasta gusenica sa porastom koncentracije je dobijena u slučaju trans-anetola, što znači da trans-anetol poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na karvon i NeemAzal, a to je posebno izraženo kad se uporede srednja i visoka koncentracija primenjenih sredstava.

#### **4.13.3. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara**

U tabeli 19 prikazani su rezultati uticaja ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara četvrtog stupnja.

Najveću brzinu konzumacije hrane beležimo kod gusenica gubara u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi u vrednosti 1.07 mg / mg / dan, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, zapažene su statistički značajno niže vrednosti parametra RCR. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja i NeemAzal-a u niskoj (0.1 %) i srednjoj (0.25 %) koncentraciji vrednosti parametra RCR su u rasponu od 0.38 do 0.5 mg / mg / dan (tabela 19). Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike u vrednosti parametra RCR nisu zabeležene. Primenom etarskih ulja i NeemAzal-a u visokoj koncentraciji (0.5 %) trend opadanja relativne brzine konzumacije hrane sa porastom koncentracije je nastavljen. Vrednosti parametra RCR su u rasponu od 0.29 mg / mg / dan do 0.38 mg / mg / dan.

Tabela 19. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost dobijeni jednofaktorskom analizom kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti RCR obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (mg / (mg × dana))
Anis	0.10	0.45±0.035bc
	0.25	0.38±0.025bcd
	0.50	0.29±0.007d
Mirođija	0.10	0.47±0.066bc
	0.25	0.41±0.032bcd
	0.50	0.34±0.022cd
Morač	0.10	0.5±0.038b
	0.25	0.45±0.03bc
	0.50	0.32±0.013cd
NeemAzal	0.10	0.39±0.013bcd
	0.25	0.38±0.021bcd
	0.50	0.38±0.018bcd
Kontrola	0.00	1.07±0.212a
F		12.87
P		< 0.0001
df		12, 116

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ne ispoljavaju statistički značajno različiti uticaj na konzumaciju hrane gusenica (efekat P:  $F_{3,107} = 1.57$ ,  $P = 0.201$ ) što je potvrdio i Dankanov post hoc test. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do smanjenja konzumacije hrane gusenica (efekat C:  $F_{2,107} = 14.95$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje konzumacije hrane u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na konzumaciju hrane gusenica, ne zavisi od njihove primenjene koncentracije (nesignifikantna interakcija primenjeno sredstvo × koncentracija;  $F_{6,107} = 1.8$ ;  $P = 0.106$ ).

#### **4.13.4. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara**

U tabeli 20 prikazani su rezultati uticaja dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica gubara četvrtog stupnja.

Najveća relativna brzina konzumacije hrane je kod gusenica u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi 0.92 mg / mg / dan, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a beležimo statistički značajno niže vrednosti parametra RCR. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola u niskoj koncentraciji (0.1 %) vrednost parametra RCR iznosi 0.48 mg / mg / dan, dok je u eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji vrednost parametra RCR statistički značajno niža, 0.39 mg / mg / dan i 0.36 mg / mg / dan (tabela 20). Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %) vrednosti parametra RCR su 0.41 mg / mg / dan, 0.32 mg / mg / dan i 0.36 mg / mg / dan, tabela 20. Gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u srednjoj koncentraciji imaju statistički značajno manju relativnu brzinu konzumacije hrane u odnosu na gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal-a u istoj koncentraciji. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a u visokoj koncentraciji (0.5 %) vrednosti parametra RCR su 0.39 mg / mg / dan, 0.31 mg / mg / dan i 0.37 mg / mg / dan. Kod grupe gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u visokoj koncentraciji vrednost parametra RCR je statistički značajno manja u odnosu na grupe gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal u istoj koncentraciji.

Tabela 20. Uticaj dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i NeemAzal-a na relativnu brzinu konzumacije hrane (RCR) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost dobijeni jednofaktorskom analizom kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti RCR obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (mg / (mg × dana))
Trans-anetol	0.10	0.48±0.02b
	0.25	0.41±0.018c
	0.50	0.39±0.037c
Karvon	0.10	0.39±0.007c
	0.25	0.32±0.01d
	0.50	0.31±0.01d
NeemAzal	0.10	0.38±0.009c
	0.25	0.36±0.012c
	0.50	0.37±0.007c
Kontrola	0.00	0.92±0.042a
F		69.36
P		< 0.0001
df		9, 89

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal nezavisno od primenjene koncentracije ispoljavaju statistički značajno različitu efikasnost na brzinu konzumaciju hrane gusenica (CR) (efekat P:  $F_{2,80} = 24.7$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da karvon ima statistički značajno veći uticaj na snižavnje brzine konzumacije hrane gusenica u odnosu na trans-anetol i NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a dolazi do smanjenja brzine konzumacije hrane gusenica (efekat C:  $F_{2,80} = 17.92$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje brzine konzumacije hrane gusenica u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Promena brzine konzumacije hrane gusenica sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi kovarijanse ( $F_{4,80} = 3.89$ ;  $P = 0.0062$ ). Najveća promena brzine konzumacije hrane gusenica sa porastom koncentracije je dobijen u slučaju trans-anetola, što znači da trans-anetol poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na karvon i NeemAzal.

#### **4.13.5. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja etarskih ulja i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije svarene hrane (AD) kod gusenica gubara četvrtog stupnja dati su u tabeli 21.

Najveća efikasnost asimilacije svarene hrane je konstatovan kod gusenica u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi 58.5 %, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice gubara hranjene veštačkom hranom sa dodacima ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, one imaju statistički značajno manje vrednosti parametra AD. Efikasnost asimilacije svarene hrane kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom etarskog ulja anisa iznosi 52.44 %, sa dodatkom etarskog ulja mirođije 49.84 %, a sa dodatkom etarskog ulja morača 53.28 %. Između grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u niskoj koncentraciji statistički značajne razlike u efikasnosti asimilacije svarene hrane nisu zabeležene. U eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u niskoj koncentraciji, konstatovana je statistički značajno niža vrednost parametra AD, 47.7 % u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su gusenice hranjene veštačkim hranom sa dodatkom morača, ali ne i u odnosu na eksperimentalne grupe u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom anisa i mirođije u niskoj koncentraciji. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom anisa, mirođije, morača i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %), konstatovane vrednosti parametara AD su u rasponu od 45.04 do 48.44 % i između ovih eksperimentalnih grupa ne postoje statistički značajne razlike (tabela 21). Primenom ispitivanih etarskih ulja u visokoj koncentraciji (0.5 %) trend opadanja vrednosti parametra AD sa porastom koncentracije primenjenog sredstva je nastavljen. Kod gusenica eksperimentalne grupe u kojoj je primenjen anis vrednost ovog parametra iznosi 38.3 %, u eksperimentalnoj grupi u kojoj je primenjena mirođija 39.94 %, a u kojoj je primenjen morač 39.1 %. Između ovih eksperimentalnih grupa ne postoje statistički značajne razlike. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u visokoj koncentraciji zapažamo statistički značajno veću vrednost parametra AD (46.4 %) u odnosu na vrednost parametra AD



kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u istoj koncentraciji.

Tabela 21. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti AD obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Anis	0.10	52.44±1.395cd
	0.25	47.15±0.587bc
	0.50	38.3±0.635a
Mirođija	0.10	49.84±0.479bcd
	0.25	45.04±1.962b
	0.50	39.94±0.422a
Morač	0.10	53.28±1.59d
	0.25	48.44±2.449bcd
	0.50	39.1±0.847a
NeemAzal	0.10	47.7±1.76bc
	0.25	46.23±3.117b
	0.50	46.4±2.86b
Kontrola	0.00	58.5±1.05e
F		4.78
P		< 0.0001
df		12, 116

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, nisu ispoljila statistički značajno različit efekat na asimilaciju hrane kod gusenica (efekat P:  $F_{3,107} = 0.4$ ,  $P = 0.7525$ ). Međutim, Dankanov post hoc test je pokazao da ispitivana etarska ulja imaju statistički značajno veći uticaj na smanjenje asimilacije hrane kod gusenica u odnosu na NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do smanjenja asimilacije hrane kod gusenica (efekat C:  $F_{2,107} = 16.1$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje asimilacije hrane u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %, a koncentracija 0.25 % u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Uticaj na asimilaciju hrane kod gusenica, ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :

$F_{6,107} = 2.31$ ;  $P = 0.0388$ ). Veća promena asimilacije sa porastom koncentracije je dobijena kod ispitivanih etarskih ulja u odnosu na NeemAzal, što znači da ispitivana etarska ulja poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na NeemAzal. Najveću osetljivost je ispoljilo etarsko ulje mirođije, a zatim ulja anisa i morača.

#### **4.13.6. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije svačene hrane (AD) gusenica gubara četvrtog stupnja dati su u tabeli 22.

Najveću efikasnost asimilacije svačene hrane imaju gusenice u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi u vrednosti 60.74 %, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodacima trans-anetola, karvona i NeemAzal-a, one imaju statistički značajno niže vrednosti parametra AD. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a koeficijent asimilacije iznosi 49.68 , 47.58 i 46.65 %. Između ovih grupa gusenica ne postoje statistički značajne razlike u efikasnosti asimilacije hrane. Primenom trans-anetola, karvona i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %) parametar AD iznosi 46.73, 45.68 i 44.68 %. Između ovih eksperimentalnih grupa ne postoje statistički značajne razlike (tabela 22). Kod grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i karvona u visokoj koncentraciji (0.5 %), gusenice imaju statistički značajno manje vrednosti parametra AD (37.92, i 37.58 %) u odnosu na eksperimentalnu grupu gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u istoj koncentraciji, kada parameter AD ima vrednost 45.14 %. Trans-anetol i karvon primenjeni u visokoj koncentraciji efikasnije snižavaju efikasnosti asimilacije gusenica, nego kada se primene u manjim koncentracijama.

Tabela 22. Uticaj dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost asimilacije hrane (AD) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti AD obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Trans-anetol	0.10	49.68±0.640c
	0.25	46.73±1.082bc
	0.50	37.92±1.419a
Karvon	0.10	47.58±0.625bc
	0.25	45.68±0.615bc
	0.50	37.58±1.265a
NeemAzal	0.10	46.65±1.956bc
	0.25	44.68±2.001b
	0.50	45.14±2.486b
Kontrola	0.00	60.74±0.938d
F		9.77
P		< 0.0001
df		9, 89

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, nisu ispoljila statistički značajno različiti efekat na asimilaciju hrane kod gusenica (efekat P:  $F_{2,80} = 0.05$ ,  $P = 0.9533$ ). Međutim, Dankanov post hoc test je pokazao da trans-anetol i karvon imaju statistički značajno veći uticaj na smanjenje asimilacije hrane kod gusenica u odnosu na NeemAzal. Karvon je ispoljio statistički značajno veći uticaj na smanjenje asimilacije hrane kod gusenica u odnosu na trans-anetol. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do smanjenja asimilacije hrane kod gusenica (efekat C:  $F_{2,80} = 22.91$ ,  $P < 0.0001$ ). Koncentracije 0.25 % i 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na smanjenje asimilacije hrane u odnosu na koncentraciju 0.1 %. Promena efikasnosti asimilacije sa porastom koncentracije (C) se razlikuje između različitih primenjenih sredstava (P) što je dovelo do značajne  $P \times C$  interakcije u analizi kovarijanse ( $F_{4,80} = 5.4$ ;  $P = 0.0007$ ). Najveći promena asimilacije hrane gusenica sa porastom koncentracije je dobijena u slučaju karvona, što znači da

karvon poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na trans-anetol i NeemAzal.

#### **4.13.7. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane u biomasu (ECI) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja etarskih ulja i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane (ECI) gusenica gubara četvrtog stupnja, prikazani su u tabeli 23.

Najveću efikasnost konverzije unete hrane imaju gusenice u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi u vrednosti 21.83 %, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodacima ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a one imaju statistički značajno manje vrednosti parametra konverzije unete hrane (ECI). U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja anisa, morača i mirođije, kao i NeemAzal-a u niskoj (0.1 %) i srednjoj (0.25 %) koncentraciji, vrednost parametra ECI se kreće u rasponu od 10.04 % do 7.54 % i između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu uočene. Kod grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u visokoj koncentraciji (0.5 %), parametar ECI ima statistički značajno manje vrednosti u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u manjim koncentracijama. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja anisa, morača i mirođije u visokoj koncentraciji, parametar ECI ima negativne vrednosti -12.44, -10.5 i -12.3 %, koje su posledica pada mase u datom vremenskom periodu. Između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji ima statistički značajno manji uticaj na vrednosti parametra ECI u odnosu na etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji. Vrednost parametra ECI u eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a iznosi 8.85 %.

Tabela 23. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na na efikasnost konverzije unete hrane (ECI) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti ECI obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Anis	0.10	10.04±2.182bc
	0.25	8.14±2.613bc
	0.50	-12.44±1.641a
Mirođija	0.10	9.57±6.989b
	0.25	7.54±5.93b
	0.50	-10.5±4.078a
Morač	0.10	9.48±3.022bc
	0.25	8.13±4.43b
	0.50	-12.3±1.308a
NeemAzal	0.10	9.0±3.291bc
	0.25	8.27±0.543bc
	0.50	8.85±1.869bc
Kontrola	0.00	21.83±1.955d
F		6.55
P		< 0.0001
df		12, 116

Dvofaktorska analiza kovarijanse sa količinom unete hrane kao kovarijatom je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ispoljavaju statistički značajno različiti uticaj na promenu mase gusenica (efekat P:  $F_{3,107} = 11.29$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da ispitivana etarska ulja dovode do statistički značajno veće promene mase gusenica u odnosu na NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do povećanja promene mase gusenica (efekat C:  $F_{2,107} = 15.62$ ,  $P < 0.0001$ ). Na koncentraciji ulja 0.5 % dolazi do smanjenja mase i vrednosti ECI su negativne za razliku od efekata ulja na manjim koncentracijama. Efekat primenjenog sredstva na promenu mase zavisi od njihove primenjene koncentracije (značajna  $P \times C$  interakcija:  $F_{6,107} = 4.99$ ,  $P = 0.0002$ ). Veća promena mase gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod ispitivanih etarskih ulja u odnosu na NeemAzal. Etarska ulja anisa i morača poseduju veću osetljivost na promenu koncentracije od etarskog ulja mirođije.

S obzirom da značajni efekti primenjenog sredstva (efekat P:  $F_{3,108} = 12.21$ ,  $P < 0.0001$ ) i koncentracije (efekat C:  $F_{2,108} = 21.88$ ,  $P < 0.0001$ ) dobijeni u analizi varijanse za rast gusenica ostaju i nakon što se u analizi kovarijanse eliminišu uticaji razlika u količini konzumirane hrane, efekti P i C se mogu objasniti njihovim uticajem kako na preingestivne, tako i na postingestivne procese.

#### **4.13.8. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja trans-anetola i karvana, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane u biomasu (ECI) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane (ECI) kod gusenica gubara četvrtog stupnja dati su u tabeli 24.

Najveću efikasnost konverzije unete hrane imaju gusenice u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi u vrednosti 24.88 %, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodacima trans-anetola, karvona i NeemAzal-a, gusenice imaju statistički značajno manje vrednosti parametra ECI. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji (0.1 %), vrednosti parametra ECI su 9.33, odnosno 9.89 %, dok kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom karvona u niskoj koncentraciji, ovaj parametar ima statistički značajno nižu vrednost (5.64 %). U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %), vrednosti parametra ECI je 7.55, odnosno 9.5 %, a u eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u istoj koncentraciji, konstatovana je statistički značajno nižu vrednost ovog parametra, -25.53 %. U eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona primenjenog u srednjoj koncentraciji konstatovana je statistički značajno niža vrednost parametra ECI u odnosu na vrednost koju gusenice imaju u eksperimentalnoj grupi u kojoj su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u niskoj koncentraciji. Kod eksperimentalnih grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola i karvona u visokoj koncentraciji (0.5 %), parametar ECI ima statistički

značajno niže vrednosti (-13.35 i -30.23) u odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u istoj koncentraciji, a u kojoj parametar ECI ima vrednost 9.86 %. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola u visokoj koncentraciji, konstatovana je statistički značajno manja vrednost parametra ECI u odnosu na gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-anetola u manjim koncentracijama.

Tabela 24. Uticaja dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije unete hrane (ECI) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti ECI obeležjenih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Trans-anetol	0.10	9.33±2.278d
	0.25	7.55±2.244d
	0.50	-13.35±2.36b
Karvon	0.10	-5.64±3.054c
	0.25	-25.53±3.075a
	0.50	-30.23±2.186a
NeemAzal	0.10	9.89±3.106d
	0.25	9.5±0.973d
	0.50	9.86±1.242d
Kontrola	0.00	24.88±1.497e
F		40.67
P		< 0.0001
df		9, 89

Dvofaktorska analiza kovarijanse sa količinom unete hrane kao kovarijatom je pokazala da u proseku, trans-anetol, karvon i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ispoljavaju statistički značajno različiti uticaj na promenu mase gusenica (efekat P:  $F_{2,80} = 41.0$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da trans-anetol i karvon dovode do statistički značajno veće promene mase u odnosu na NeemAzal, s tim da karvon deluje statistički značajno efikasnije u odnosu na trans-anetol. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a dolazi do povećanja promene mase gusenica (efekat C:  $F_{2,80} = 5.8$ ,  $P = 0.0045$ ). Koncentracija 0.5

% ostvaruje statistički značajno veći uticaj na povećanje promene mase gusenica u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Uticaj trans-anetola, karvona i NeemAzal-a na promenu mase gusenica zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{4,80} = 8.44$ ;  $P < 0.0001$ ). Najveća promena mase gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod trans-anetola, što znači da trans-anetol poseduje veću osetljivost na promenu koncentracije u odnosu na karvon i NeemAzal.

S obzirom da značajni efekti primenjenog sredstva (efekat  $P$ :  $F_{2,81} = 54.58$ ,  $P < 0.0001$ ) i koncentracije ( $C$ :  $F_{2,81} = 5.49$ ,  $P = 0.0058$ ) dobijeni u analizi varijanse za promenu mase gusenica ostaju i nakon što se u analizi kovarijanse eliminišu uticaji razlika u količini konzumirane hrane, efekti  $P$  i  $C$  se mogu objasniti njihovim uticajem kako na preingestivne, tako i na postingestivne procese.

#### **4.13.9. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane u biomasu (ECD) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja etarskih ulja i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane (ECD) kod gusenica gubara četvrtog stupnja dati su u tabeli 25.

Najveću efikasnost konverzije svarene imaju gusenice u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi (37.55 %), dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice gubara hranjene veštačkom hranom sa dodacima ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a, one imaju statistički značajno niže vrednosti parametra ECD. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja anisa, morača i mirođije, kao i NeemAzal-a u niskoj (0.1 %) i srednjoj (0.25 %) koncentraciji, vrednost parametra ECD se kreće u rasponu od 19.07 % do 20.63 % i između ovih eksperimentalnih grupa statistički značajne razlike nisu zabeležene. Kod eksperimentalnih grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u visokoj koncentraciji (0.5 %) parametar ECD ima statistički značajno niže vrednosti u odnosu na eksperimentalne grupe u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja u manjim koncentracijama. U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom etarskih ulja anisa, morača i mirođije u visokoj



koncentraciji parametar ECD ima negativne vrenosti -32.27, -26.52 i -31.48 %. Između ovih eksperimentalnih grupa nema statistički značajnih razlika. NeemAzal primenjen u visokoj koncentraciji ima statistički značajno manji uticaj na vrednost parametra ECD kod gusenica u odnosu na etarska ulja primenjena u istoj koncentraciji. Vrednost parametra ECD kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a iznosi 19.84 %.

Tabela 25. Uticaj etarskih ulja anisa, mirođije i morača, kao i NeemAzal-a na na efikasnost konverzije svarene hrane (ECD) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti ECD obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Anis	0.10	19.90±4.514b
	0.25	17.49±5.606b
	0.50	-32.27±4.127a
Mirođija	0.10	19.89±14.022b
	0.25	17.74±13.643b
	0.50	-26.52±10.142a
Morač	0.10	19.07±6.097b
	0.25	19.01±9.274b
	0.50	-31.48±3.432a
NeemAzal	0.10	20.63±8.797b
	0.25	19.18±2.464b
	0.50	19.84±4.69b
Kontrola	0.00	37.55±3.64c
F		7.39
P		< 0.0001
df		12, 116

Dvofaktorska analiza kovarijanse je pokazala da u proseku ispitivana etarska ulja i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ispoljavaju statistički značajno različiti uticaj na promenu mase gusenica (efekat P:  $F_{2,107} = 11.22$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da ispitivana etarska ulja imaju statistički značajno veći uticaj na smanjenje mase gusenica u odnosu na NeemAzal. U proseku sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a dolazi do povećanja promene mase gusenica (efekat C:  $F_{3,107} = 13.05$ ,  $P < 0.0001$ ).

Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na povećanje promene mase u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Uticaj ispitivanih etarskih ulja i NeemAzal-a na promenu mase gusenica, zavisi od njihove primenjene koncentracije (efekat  $P \times C$ :  $F_{6,107} = 4.36$ ;  $P = 0.0006$ ). Veća promena mase gusenica sa porastom koncentracije je dobijena kod ispitivanih etarskih ulja u odnosu na NeemAzal, što znači da ispitivana etarska ulja poseduje veću osetljivost na promenu primenjene koncentracije u odnosu na NeemAzal. Etarska ulja anisa i morača ispoljavaju nešto veću ostljivost na promenu koncentracije u odnosu na etarsko ulje mirođije.

#### **4.13.10. Uticaj dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-agnetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane u biomasu (ECD) kod gusenica gubara**

Rezultati ispitivanja uticaja dominantnih komponenata ispitivanih etarskih ulja, trans-agnetola i karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane (ECD) kod gusenica gubara četvrtog stupnja, dati su u tabeli 26.

Najveću vrednost efikasnosti konverzije svarene hrane imaju gusenice u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi, u vrednosti 41.08 %, dok u svim eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice gubara hranjene veštačkom hranom sa dodacima trans-agnetola, karvona i NeemAzal-a one imaju statistički značajno manje vrednosti parametra ECD. Kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom trans-agnetola i NeemAzal-a u niskoj koncentraciji (0.1 %) vrednosti parametra ECD iznosi 19.07, odnosno 23.63 %, dok kod gusenica hranjenih veštačkom hranom sa dodatkom karvona u niskoj koncentraciji konstatovana je statistički značajno niža vrednost ovog parametra (-11.62 %). U eksperimentalnim grupama u kojima su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-agnetola i NeemAzal-a u srednjoj koncentraciji (0.25 %) vrednosti parametra ECD su 16.38, odnosno 21.72 %, dok u eksperimentalnoj grupi u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom karvona u istoj koncentraciji vrednost ovog parametra je statistički značajno manja (-56.11 %). Karvon primenjen u srednjoj koncentraciji ispoljava statistički značajno izraženiji uticaj na efikasnost konverzije unete hrane u odnosu na njegovu primenu u niskoj koncentraciji. Kod grupa gusenica koje su hranjene veštačkom hranom sa dodatkom trans-agnetola i

karvona u visokoj koncentraciji (0.5 %), parametar ECD ima statistički značajno niže vrednosti (-36.95 i -79.83 %) u odnosu na eksperimentalnu grupu u kojoj su gusenice hranjene veštačkom hranom sa dodatkom NeemAzal-a u istoj koncentraciji (23.4 %). Trans-anetol i karvon primenjeni u visokoj koncentraciji ispoljavaju statistički značajno izraženiji uticaj na efikasnost konverzije unete hrane, nego kada su primenjeni u manjim koncentracijama.

Tabela 26. Uticaj dominantne komponente anisa i morača, trans-anetola i dominantne komponente mirođije, karvona, kao i NeemAzal-a na efikasnost konverzije svarene hrane (ECD) gusenica ( $\bar{X} \pm SE$ ). F, P - F odnos i P vrednost iz jednofaktorske analize kovarijanse; df – broj stepena slobode; Razlike između vrednosti ECD obeleženih istim slovom u koloni nisu statistički značajne (Dankanov post hoc test,  $P < 0.05$ )

Primenjeno sredstvo	Koncentracija (%)	$\bar{X} \pm SE$ (%)
Trans-anetol	0.10	19.07±4.6327d
	0.25	16.38±4.915d
	0.50	-36.95±7.061b
Karvon	0.10	-11.62±6.508c
	0.25	-56.11±7.044a
	0.50	-79.83±4.351a
NeemAzal	0.10	23.63±7.912d
	0.25	21.72±2.354d
	0.50	23.40±3.973d
Kontrola	0.00	41.08±2.682e
F		44.13
P		< 0.0001
df		9, 89

Dvofaktorska analiza kovarijanse sa količinom asimilovane hrane kao kovarijatom je pokazala da u proseku trans-anetol, karvon i NeemAzal, nezavisno od primenjene koncentracije, ispoljavaju statistički značajno različiti uticaj na promenu mase gusenica (efekat P:  $F_{2,80} = 44.1$ ,  $P < 0.0001$ ). Dankanov post hoc test je pokazao da trans-anetol i karvon dovode do statistički značajno veće promene mase gusenica u odnosu na NeemAzal, s tim da karvon deluje statistički značajno efikasnije u odnosu na trans-anetol. U proseku sa porastom primenjene koncentracije trans-anetola, karvona i NeemAzal-a dolazi do povećanja promene mase gusenica (efekat C:  $F_{2,80} = 5.18$ ,  $P =$

0.0077). Koncentracija 0.5 % ostvaruje statistički značajno veći uticaj na povećanje promene mase u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Efekat primenjenog sredstva na promenu mase gusenica zavisi od njihove primenjene koncentracije (značajna  $P \times C$  interakcija:  $F_{4,80} = 8.18$ ;  $P < 0.0001$ ). Najveća promena mase gusenica sa porastom koncentracije primenjenog sredstva je dobijena kod trans-anetola, što znači da trans-anetol poseduje veću osetljivost na promenu koncentracije u odnosu na karvon i NeemAzal.

## 5. Diskusija

Ispitivanjem antifidne aktivnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača primenjenih u koncentracijama 0.1, 0.5 i 1.0 % uočene su znatno veće vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa u odnosu na relativni antifidni indeks što ukazuje da je antifidna aktivnost etarskih ulja u većoj meri zasnovana na njihovoj post-ingestivnoj toksičnosti nego na njihovom deterentnom delovanju.

Trans-anetol primenjen u koncentracijama 0.1 i 0.5 % ostvaruje znatno više vrednosti relativnog u odnosu na vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa što znači da u njegovoj antifidnoj aktivnosti veći udeo ima njegovo deterentno delovanje nego njegova post-ingestivna toksičnost. Kod karvona primenjenog u koncentracijama 0.1 i 0.5 %, zapažamo niske vrednosti apsolutnog antifidnog indeksa, a negativne vrednosti relativnog antifidnog indeksa, pa tako karvon primenjen u koncentraciji 0.1 % ima čak fagostimulativno dejstvo, a primenjen u koncentraciji 0.5 % slabo antifidno dejstvo zasnovano pretežno na njegovoj post-ingestivnoj toksičnosti. Trans-anetol i karvon primenjeni u koncentraciji 1.0 %, poseduju približno jednake vrednosti apsolutnog i relativnog antifidnog indeksa što njihovoj antifidnosti daje i deterentni i post-ingestivno toksični karakter.

NeemAzal u koncentracijama 0.1 %, 0.5 % i 1.0 %, poseduje više vrednosti apsolutnog u odnosu na vrednosti relativnog antifidnog indeksa (u koncentracijama 0.1 i 0.5 % vrednosti relativnog antifidnog indeksa su čak negativne) na osnovu čega možemo zaključiti da je mehanizam antifidne aktivnosti NeemAzal-a u većoj meri zasnovan na njegovoj post-ingestivnoj toksičnosti, a u manjoj na njegovoj deterentnosti.

Totalni antifidni indeks se kreće u opsegu od -200 do +200. Smatra se da jedinjenja sa ukupnim antifidnim indeksom u opsegu od 151 do 200 imaju veoma dobro antifidno dejstvo, u opsegu od 101 do 150 dobro, u opsegu od 51 do 100 intermedijarno antifidno dejstvo, dok jedinjenja sa totalnim antifidnim indeksom manjim od 50 imaju slabo antifidno dejstvo (Szczepanik *et al.*, 2009). Negativne vrednosti totalnog antifidnog indeksa ukazuju da ta jedinjenja imaju fagostimulativna svojstva (Szczepanik *et al.*, 2005, Szczepanik *et al.*, 2009).

Analizom rezultata ogleđa u kojem je testirana antifidna aktivnost ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a zapaženo je da

primenom u koncentraciji 0.1 % jedino etarsko ulje anisa i njegova dominantna komponenta trans-anetol poseduju intermedijarnu antifidnu aktivnost, dok ulje morača, čija je dominantna komponenta takođe trans-anetol, kao i ulje mirođije, poseduju slabu antifidnu aktivnost. Karvon primenjen u ovoj koncentraciji čak deluje fagostimulativno. Primenenom u koncentraciji 0.5 % ispitivana etarska ulja i trans-anetol ostvaruju intermedijarnu, a karvon i NeemAzal slabu antifidnu aktivnost. Dobru antifidnu aktivnost, primenom u koncentraciji 1.0 %, ostvaruju jedino anis i trans-anetol, dok ostala etarska ulja, dominantna komponenta karvon i NeemAzal ostvaruju intermedijarnu antifidnu aktivnost.

Antifidnu aktivnost prema gusenicama gubara poseduju i druga etarska ulja i njihove dominantne komponente. Prema gusenicama gubara drugog stupnja, primenom u koncentracijama 0.05, 0.1 i 0.5 %, antifidnu aktivnost ispoljavaju i etarsko ulje *Ocimum basilicum* L. i njegova dominantna komponenta linalol (Kostić *et al.*, 2008), kao i različite frakcije etarskog ulja *O. basilicum* (Popović *et al.*, 2013). Alkaloidi akridin, atropin, kofein, nikotin, skopolamin, spartein i strihnin, a posebno berberin i aristolohična kiselina ispoljavaju dobar efekat na zaustavljanje ishrane gusenica gubara petog stupnja (Vonnice *et al.*, 2008). U radu Kostića i saradnika (2013) konstatovano je da prema gusenicama gubara drugog stupnja dobru antifidnu aktivnost ispoljavaju i etarska ulja *Athamanta haynaldii* Borb. i *Myristica fragrans* Houtt. i to prilikom njihove primene u koncentracijama 0.05 i 0.1 %. Sousa i saradnici (2015) su u testu bez izbora utvrdili da dobru antifidnu aktivnost prema gusenicama *Pseudaletia unipuncta* Haw četvrtog stupnja ispoljavaju etarsko ulje mirođije i trans anetol kada se primene u količini  $175 \mu\text{g cm}^{-2}$ , dok etarsko ulje morača i karvon primenjeni u istoj koncentraciji nemaju zadovoljavajuću efikasnost. Antifidna aktivnost trans-anetola je konstatovana i prema gusenicama *Spodoptera littoralis* Boisduval petog stupnja (Hummelbrunner and Isman, 2001). Biološki preparat Bioneem čija je dominantna komponenta azadiraktin, zastupljena u istom procentu (0.09 %) kao i u biološkom preparatu NeemAzal-u, takođe ispoljava antifidnu aktivnost prema gusenicama gubara drugog stupnja što su u svojim radovima konstatovali Zabel i saradnici (2002), Kostić i saradnici (2008) i Popović i saradnici (2013). Isman (1993) je konstatovao da azadiraktin antifidnu aktivnost ispoljava i prema gusenicama *Peridroma saucia* Hubner i *Spodoptera litura* Fab. drugog u četvrtog stupnja, a Martinez i Van Emden (1999)

antifidnu aktivnost azadiraktina prema gusenicama *S. littoralis*

Prilikom ispitivanja rezidualne kontaktne toksičnosti etarskih ulja anisa, mirođije i morača, njihovih dominantnih komponenata, trans-anetola i karvona, kao i NeemAzal-a, prva uginuća gusenica su zabeležena tek nakon 72 časa od početka ogleada i to u vrlo niskom procentu. Nakon 96 i 120 časova od početka ogleada etarsko ulje morača je ispoljilo veću efikasnost od etarskog ulja mirođije, ali ne i od etarskog ulja anisa i NeemAzal-a, dok koncentracija primene nije imala bitniji uticaj na mortalitet gusenica. Značajnija promena u mortalitetu gusenica nije zabeležena ni nakon 120 časova od početka ogleada, pa se može konstatovati da je rezidualna kontaktna toksičnost ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponenata i NeemAzal-a izuzetno niska.

Niska rezidualna kontaktna toksičnost prema gusenicama gubara je konstatovana i primenom drugih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata. Kostić i saradnici (2008) su utvrdili da etarsko ulje *O. basilicum* i njegova dominantna komponenta linalol primenjeni rezidualno kontaktno u koncentracijama 0.05, 0.1 i 0.5 %, u vremenskom intervalu od 48 časova, dovode do mortaliteta gusenica gubara drugog stupnja u rasponu od 17.78 do 63.33 %. Ovo je značajno veći procenat mortaliteta u odnosu na procenat mortaliteta izazvan primenom etarskih ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata trans-anetola i karvona koji u ovom vremenskom intervalu nisu izazvali mortalitet gusenica. Ipak i efikasnost *O. basilicum* i njegove dominantne komponente linalol nije bila zadovoljavajuća. Nisku rezidualnu kontaktnu toksičnost Bioneem-a (0.09 % azadiraktina) prema gusenicama gubara u svojim radovima su konstatovali Zabel i saradnici (2002) i Kostić i saradnici (2008). Primenom u količini  $250 \mu\text{g cm}^{-2}$  etarsko ulje morača ispoljava nisku kontaktnu toksičnost prema gusenicama *P. unipuncta* četvrtog stupnja, ali njegova dominantna komponenta, trans-anetol, kao i etarsko ulje mirođije i njegova dominantna komponenta karvon primenjeni u istoj količini poseduju visoku kontaktnu toksičnost prema gusenicama ove vrste (Sousa *et al.*, 2013). Veću oseljivost prema trans-anetolu, u odnosu na gusenice gubara ispoljile su gusenice *S. litura* (Hummelbrunner and Isman, 2001; Bhardwaj *et al.*, 2010) i *Euproctis chrisorrhoea* L. (Erler and Cetin, 2008), a gusenice *E. chrisorrhoea* i prema etarskom ulju anisa (Erler and Cetin, 2008).

Etarska ulja anisa, mirođije i morača, njihove dominantne komponente i

NeemAzal primenjeni kontaktno se značajno razlikuju u uticaju na zaustavljanje presvlačenja gusenica. Etarska ulja anisa i morača su ispoljila veću efikasnost u smanjenju broja presvučenih gusenica u odnosu na etarsko ulje mirođije. Nakon 96 časova od postavljanja ogleđa etarska ulja anisa i morača su primenom u višim koncentracijama (0.25, 0.5 i 1.0 %) značajno smanjila procenat presvučenih gusenica ali zanimljivo je da je prilikom njihove primene u koncentraciji 0.05 % konstatovan veći procenat presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu. Primenom etarskog ulja mirođije zabeležen je sličan procenat presvlačenja kao i u kontrolnoj eksperimentalnoj grupi. Nakon 120 časova od početka ogleđa sva tri ispitivana etarska ulja su smanjila procenat presvučenih gusenica u odnosu na kontrolu grupu. Koncentracija 1.0 % je delovala značajno efikasnije u odnosu na niže primenjene koncentracije, ali ni primenom u koncentraciji 1.0 % nije ostvaren zadovoljavajući efekat. Dominantne komponente trans-anetol i karvon nakon 96 časova od početka ogleđa nisu ispoljile značajan uticaj na presvlačenje gusenica. U vremenskom intervalu od 120 časova ostvarile su sličan efekat na zaustavljanje presvlačenja gusenica kao i etarska ulja čije su dominantne komponente, trans-anetol sličan kao etarska ulja anisa i morača, a karvon sličan efekat kao etarsko ulje mirođije. U proseku NeemAzal (standard) je ispoljio veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja u odnosu na ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente. Nakon 96 časova od početka ogleđa NeemAzal je značajno smanjio procenat presvučenih gusenica primenom u koncentracijama 0.1, 0.25, 0.5 i 1.0 %, dok je nakon 120 časova NeemAzal primenom u koncentracijama 0.25 i 0.5 % skoro u potpunosti zaustavio presvlačenja gusenica (oko 10 % presvučenih gusenica), a primenom u koncentraciji 1.0 % u potpunosti (0 % presvučenih gusenica).

Etarska ulja anisa, mirođije i morača, njihove dominantne komponente trans-anetol i karvon i NeemAzal se značajno razlikuju u efektu njihove digestivne toksičnosti na gusenice gubara. Etarska ulja primenjena u koncentracijama od 0.05 do 0.5 % poseduju slabu digestivnu toksičnost. Primenom u veoma visokoj koncentraciji (1.0 %) efikasnost je značajno veća, ali je jedino etarsko ulje mirođije u vremenskom intervalu od 96 časova izazivalo 100 % mortalitet gusenica. U proseku etarska ulja anisa i mirođije su ispoljila veću efikasnost u odnosu na etarsko ulje morača, a koncentracija 1.0 % u odnosu na niže primenjene koncentracije. Dominantne komponente trans-anetol



i karvon, imaju izraženu inicijalnu toksičnost, ali samo primenom u visokoj (0.5 %) i veoma visokoj (1.0 %) koncentraciji. Primenom u visokoj koncentraciji, obe dominantne komponente su nakon 96 časova od početka ogleđa izazvale mortalitet 100 % gusenica, a primenom u veoma visokoj koncentraciji mortalitet 100 % gusenica je konstatovan nakon 72 časa. Trans-anetol i karvon primenjeni u manjim koncentracijama imaju slabu efikasnost. NeemAzal poseduje vrlo nisku digestivnu toksičnost, tako da je mortalitet gusenica zabeležen tek nakon 96 časova od početka ogleđa i to u vrlo niskom procentu. U slučaju NeemAzal-a i ispitivanih etarskih ulja, sa izuzetkom mirođije primenjene u koncentraciji 1.0 %, toksičnost je vrlo niska, ili izostaje, pa se njihova regresija ne može dobiti. Za obe dominantne komponente dobijene su značajne regresije, u svim ispitivanim vremenskim intervalima, a vrednost nagib regresije pokazuje da su najizraženiju toksičnost postigli nakon 72 časa.

Digestivnu toksičnost prema gusenicama gubara, sličnu etarskim uljima anisa i mirođije, ispoljavaju i etarska ulja biljaka *Rosmarinus officinalis* Linn. i *Thimus herbarona* Loisel (Moretti *et al.*, 2002). Ova etarska ulja, u vremenskom intervalu od 72 časa, primenom u koncentraciji 1.0 %, izazivaju mortalitet 78, odnosno 84 % gusenica, što je mortalit gotovo identičan mortalitetu koji su u istom vremenskom intervalu i istoj koncentraciji primene izazvali anis i mirođija (76 i 88 %). Etarsko ulje *O. basilicum* i njegova dominantna komponenta linalol, primenjeni u koncentracijama 0.05, 0.1 i 0.5 %, u vremenskom intervalu od 120 časova (Kostić *et al.*, 2008), izazivaju znatno manji mortalitet gusenica gubara drugog stupnja kada se primene oralnim putem u odnosu na etarska ulja anisa, mirođije i morača i njihovih dominantnih komponenata. Pavela (2011) je utvrdio da etarsko ulje morača primenjeno u koncentraciji 0.015 %, u vremenskom intervalu od 120 časova dovodi do 100 % mortaliteta gusenica *S. littoralis* četvrtog stupnja pa se može zaključiti da etarsko ulje morača ispoljava veću digestivnu toksičnost prema gusenicama *S. littoralis* nego prema gusenicama gubara. Dominantna komponenta etarskih ulja anisa i morača, trans-anetol, ispoljava digestivnu toksičnost i prema gusenicama *Chilo partellus* Swinhoe, naročito prema njihovom prvom stupnju (Singh *et al.*, 2010). Nisku digestivnu toksičnost biološkog preparata Bioneem-a prema gusenicama gubara drugog stupnja su konstatovali Zabel i saradnici (2002), Kostić i saradnici (2008) i Popović i saradnici (2013). Zabel i saradnici (2002) su zabeležili da Bioneem aplikovan na lisnu masu *Prunus cerasifolia* L. u koncentracijama 0.05, 0.1 i

0.5 % dovodi do mortaliteta 25, odnosno 27.5 % gusenica nakon 96 časova od primene, a Kostić i saradnici (2008) da Bioneem aplikovan u koncentraciji 0.5 % na lisnu masu *P. cerasifolia* L., u vremenskom intervalu od 120 časova, izaziva mortalitet 44.72 % gusenica. U sličnom ogledu Popović i saradnici (2013) su utvrdili da Bioneem u vremenskom intervalu od 120 časova, primenjen u koncentracijama 0.05, 0.1 i 0.5 % dovodi do mortaliteta 30, 32.5 i 47.5 % gusenica gubara drugog stupnja. Količina azadiraktina koju sadrže biološki preparati Bioneem i NeemAzal je identična (0.09 %), ali je vremenski period u kojem su gusenice bile izložene njihovom dejstvu bio različit. Gusenice su delovanju Bioneem-a bile izložene tokom čitavog ogleada (120 časova), dok su dejstvu NeemAzal-a gusenice bile izložene samo u prvih 24 časa ogleada što je uzrok razlike u procentu mortaliteta gusenica. U svakom slučaju i Bioneem i Neemazal su ispoljili nisku digestivnu toksičnost prema gusenicama gubara drugog stupnja. Takođe i Azetrol (1.2 % azadiraktina) i čisto ulje neem-a su ispoljili nisku digestivnu toksičnost prema gusenicama *Spodoptera eridania* (Stoll) drugog stupnja. Mortalitet se u vremenskom intervalu od 48 časova kretao u rasponu od 3.3 do 20 % gusenica (Shannag *et al.*, 2015).

Oralnom primenom etarska ulja anisa, mirođije i morača, njihove dominantne komponente i NeemAzal ostvaruju značajno veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica nego kada se primene kontaktno. Etarska ulja anisa i mirođije su ispoljila veću efikasnost u smanjenju procenta presvučenih gusenica u odnosu na etarsko ulje morača, a koncentracije 0.5 % i 1.0 % su delovale značajno efikasnije u odnosu na niže primenjene koncentracije. Nakon 96 časova od početka ogleada ispitivana etarska ulja su primenom u koncentraciji 0.5 % značajno smanjila procenat presvučenih gusenica, dok su primenom u koncentraciji 1.0 % etarska ulja anisa i morača u potpunosti zaustavila presvlačenje gusenica. Za etarsko ulje mirođije, primenjeno u koncentraciji 1.0 %, nije se mogao utvrditi procenat presvučenih gusenica s obzirom da je etarsko ulje mirođije primenjeno u koncentraciji 1.0 % izazvalo 100 % mortalitet. Ispitivana etarska ulja primenjena u nižim koncentracijama (0.05, 0.1 i 0.25 %) nisu značajno smanjila procenat presvučenih gusenica u odnosu na procenat presvlačenja u kontrolnoj grupi. Nakon 120 časova od početka ogleada ispitivana etarska ulja, primenjena u koncentracijama 0.05, 0.1, 0.25 i 0.5 % su značajno smanjila procenat presvučenih gusenica u odnosu na procenat presvlačenja u kontrolnoj grupi, dok su

etarska ulja anisa i morača primenom u koncentraciji 1.0 % u potpunosti zaustavila presvlačenje gusenica. Za etarsko ulje mirođije, primenjeno u koncentraciji 1.0 %, nije se mogao utvrditi procenat presvučenih gusenica s obzirom da je etarsko ulje mirođije primenjeno u koncentraciji 1.0 % izazvalo 100 % mortalitet gusenica. Dominantne komponente trans-anetol i karvon, u vremenskom intervalu od 96 časova, primenjene u koncentraciji 0.05 %, nisu ispoljile značajan uticaj u zaustavljanju presvlačenja gusenica, kao ni trans-anetol primenjen u koncentraciji 0.1 %, dok je karvon primenjen u koncentraciji 0.1 % značajno smanjio procenat presvučenih gusenica. Trans-anetol i karvon primenjeni u koncentraciji 0.25 % su u potpunosti zaustavili presvlačenje gusenica. Uticaj trans-anetola i karvona primenjenih u koncentracijama 0.5 i 1.0 % nije mogao da se utvrdi s obzirom da su trans-anetol i karvon primenjeni u ovim koncentracijama izazivaju 100 % mortalitet gusenica. U vremenskom intervalu od 120 časova trans-anetol i karvon su pri svim primenjenim koncentracijama značajno snizili procenat presvučenih gusenica. Primenom u koncentracijama 0.05 i 0.1 % nisu ispoljili visoku efikasnost, dok je trans-anetol prilikom primene u koncentraciji 0.25 % smanjio procenat presvučenih gusenica ispod 10 %, a karvon u potpunosti zaustavio presvlačenje. Za trans-anetol i karvon u koncentraciji 1.0 %, nije se mogao utvrditi procenat presvučenih gusenica s obzirom da su primenom u ovoj koncentraciji i obe dominantne komponente izazvale 100 % mortalitet. Karvon je u proseku imao veću efikasnost u ometanju presvlačenja gusenica u odnosu na trans-anetol. U proseku NeemAzal (standard) je ispoljio veći uticaj na zaustavljanje presvlačenja u odnosu na ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente, ali su ispitivana etarska ulja primenom u koncentraciji 1.0 % dostigle efikasnost NeemAzal-a, a dominantne komponente već primenom u koncentraciji 0.25 %. Primenom NeemAzal u koncentracijama 0.05 i 0.1 %, u vremenskom intervalu od 96 časova broj presvučenih gusenica je bio manji od 10 %, a pri koncentracijama od 0.25, 0.5 i 1.0 % presvlačenje gusenica je u potpunosti zaustavljeno. U vremenskom intervalu od 120 časova NeemAzal je u svim primenjenim koncentracijama značajno smanjio procenat presvučenih gusenica u odnosu na eksperimentalnu grupu, a u koncentracijama 0.5 i 1.0 % je u potpunosti zaustavio presvlačenje gusenica iz drugog u treći larveni stupanj.

Trans-anetol na gusenice *C. partellus* deluje tako što produžavava trajanje njihovog drugog larvenog stupnja i na taj način odlaže proces presvlačenja (Singh *et*

al., 2010). Nathan i saradnici (2006) su konstatovali da azadiraktin primenjen u koncentracijama 0.1, 0.25 i 0.5 % značajno produžava trajanje drugog stupnja gusenica *S. litura* Fab, dok su Martinez i Van Edman (2001) utvrdila da i izuzetno niske koncentracije azadiraktina (od 0.01 do 1 ppm) dodate u veštačku hranu gusenica *S. littoralis* trećeg stupnja odlažu njihovo presvlačenje. Shannag i saradnici su utvrdili da Azetrol i čisto ulje neem-a produžavaju trajanje drugog larvenog stupnja gusenica *S. eridania*, s tim da je čisto ulje neem-a ispoljilo značajno veći uticaj na odlaganje presvlačenja gusenica *S. eridania* u odnosu na Azetrol.

Ispitivana etarska ulja, njihove dominantne komponente i NeemAzal, značajno snižavaju vrednosti parametara rasta i ishrane gusenica gubara. Sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarska ulja i njihovih dominantnih komponenata parametra RGR gusenica opada. Njihovom primenom u visokoj koncentraciji (0.5 %), gusenice gube na biomasi, a parametar RGR ima negativne vrednosti. Od primenjenih sredstava karvon ostvaruje najveći uticaj na snižavanje parametra RGR, a prilikom njegove primene u sve tri ispitivane koncentracije gusenice gube na masi. S obzirom da karvon poseduje najznačajniji uticaj na smanjenje relativne brzine konzumacije hrane gusenica, kao i na efikasnost asimilacije i konverzije unete i svarene hrane u biomasu gusenica, ovo je i bio očekivan rezultat. NeemAzal primenjen u koncentraciji 0.5 % ima sličan uticaj na vrednost parametra RGR kao i prilikom primene u koncentracijama 0.1 i 0.25 %, ali značajno manji u odnosu na ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente. U proseku ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente imaju izraženiji uticaj na smanjenje mase gusenica u odnosu na NeemAzal. Svojim antifidnim i post-ingestivno toksičnim dejstvom etarska ulja i njihove dominantne komponente smanjenjuju relativnu brzinu konzumacije hrane gusenica (RCR). U proseku ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente ostvaruju sličan uticaj na snižavanje parametra RCR kao i NeemAzal, sa izuzetkom dominantne komponente karvon. Sa porastom koncentracije primenjenih sredstava relativna brzina konzumacije hrane gusenica opada. Najizraženiji uticaj na smanjenje relativne brzine konzumacije hrane gusenica ostvaruje karvon primenom u koncentraciji 0.5 %. S obzirom da karvon primenjen u visokoj koncentraciji ima najizraženiju toksičnost u odnosu na ostala primenjena sredstva, ovo je bio očekivan rezultat. Zanimljivo je da prilikom primene trans-anetola gusenice imaju veću brzinu konzumacije hrane nego prilikom primene

anisa, etarskog ulja čija je on dominantna komponenta, što ipak ne sprečava gubitak u biomasi gusenica, jer trans-anetol deluje toksičnije u odnosu na anis pa u većoj meri snižava efikasnost asimilacije i efikasnost konverzije unete i svarene hrane u biomasu gusenica. NeemAzal primenjen u sve tri ispitivane koncentracije ima sličan uticaj na relativnu brzinu konzumacije hrane gusenica i u proseku ispoljava slabiji uticaj na snižavanje vrednosti parametra RCR gusenica jedino u odnosu na karvon. Ispitivana etarska ulja, njihove dominantne komponente i NeemAzal značajno utiču na smanjenje efikasnosti asimilacije hrane (AD) kod gusenica. Svojim toksičnim dejstvom oni mogu oštetiti ćelije epitela srednjeg creva i remetiti rad digestivnih enzima što se ogleda kroz sniženu efikasnost asimilaciju hrane (Naseri *et al.*, 2009; Zibae and Bandani, 2010a; Shannag *et al.*, 2015). Sa porastom primenjene koncentracije ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenata efikasnost asimilacije kod gusenica opada. U proseku koncentracija 0.5 % ostvaruje značajno veći uticaj na snižavanje vrednosti parametra AD u odnosu na koncentracije 0.1 i 0.25 %. Etarska ulja anisa, morača i mirođije i njihove dominantne komponente trans-anetol i karvon imaju sličan uticaj na smanjenje efikasnosti asimilacije hrane kod gusenica, dok NeemAzal u proseku ima značajno slabiji uticaj. NeemAzal primenjen u nižim koncentracijama ostvaruje sličan efekat na efikasnost asimilacije kao i ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente, dok primenom u koncentracij 0.5 % ostvaruje značajno slabiji uticaj. Primenjena sredstva značajno snižavaju efikasnost konverzije unete (ECI) i svarene hrane (ECD) u biomasu gusenica. Svojim toksičnim dejstvom ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente mogu narušavanje rada digestivnih enzima što dovodi do inhibicije konverzije svarene i unete hrane u enrgiju koja je insektima neophodna za normalan rast i razviće (Koul *et al.*, 2004; Nathan *et al.* 2005; Naseri *et al.*, 2009; Khosravi and Sendi, 2013). Sa porastom primenjene koncentracije, efikasnost konverzije unete i svarene hrane gusenica opada. U proseku ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente deluju značajno efikasnije na smanjenje efikasnosti konverzije unete i svarene hrane u odnosu na NeemAzal (standard). Parametara ECI i ECD imaju negativne vrednosti primenom ispitivanih etarskih ulja i njihovi dominantnih komponenata u koncentraciji 0.5 %, a karvona u sve tri ispitivane koncentracije negativni, pa gusenice gube na biomasi. Karvon ostvaruje najveći uticaj na snižavanje efikasnosti konverzije unete i svarene hrane kod gusenica što je bilo i

očekivano s obzirom da poseduje i najveću toksičnost. Snižene vrednosti parametara ECI i ECD ukazuju na hronično trovanje gusenica (Koul *et al.*, 2004; Abdel-Rahman and Al-Mozini, 2007), kod kojih se najveći deo enrgije dobijen konverzijom unete i svarene hrane, umesto u produkciju biomase, troši na indukciju enzima uključenih u procese detoksikacije (Khosravi and Sendi, 2013).

Ispitivana etarska ulja, njihove dominantne komponente i azadiraktin utiču na indekse rasta i ishrane i drugih vrsta gusenica iz reda Lepidoptera. Sousa i saradnici (2015) su ispitivali uticaj etarskih ulja biljaka familije *Apiaceae* i njihovih dominantnih komponenata, primenjenih u količini  $175 \mu\text{g cm}^{-2}$ , kao i azadiraktina primenjenog u koncentraciji  $10 \mu\text{g cm}^{-2}$  na indekse rasta i ishrane gusenice *P. unipuncta* četvrtog stupnja. Za razliku od uticaja koje etarsko ulje mirođije ima na relativnu brzinu konzumacije hrane gusenica gubara, ono ne dovodi do značajne promene u relativnoj brzini konzumacije hrane gusenica *P. unipuncta*. Ipak, gusenice *P. unipuncta*, kao i gusenice gubara, su imale nižu relativnu brzinu rasta i nižu efikasnost konverzije unete i svarene hrane. Etarsko ulje morača primenjeno na gusenice *P. unipuncta* je delovalo čak fagostimulativno, što ipak nije dovelo do njihovog bržeg rasta. Etarsko ulje morača primenjeno u koncentraciji 0.1 % je u ogledu sa izborom delovalo fagostimulativno i na gusenice gubara drugog stupnja. Efekat trans-anetola na relativnu brzinu konzumacije hrane gusenica gubara i gusenica *P. unipuncta* je sličan. Gusenice i jedne i druge vrste su gubile na biomasi, a vrednosti parametara ECI i ECD su bile negativne. Karvon smanjuje relativnu brzinu konzumaciju hrane gusenica *P. unipuncta*, kao i njihovu relativnu brzinu rasta, ali ne utiče na konverziju svarene i unete hrane u biomasu. Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da karvon poseduje znatno izraženiju toksičnost na gusenice gubara, nego na gusenice *P. unipuncta*. Azadiraktin je imao izraženiji uticaj na smanjenje konzumacije hrane gusenica *P. unipuncta*, nego na smanjenje konzumacije hrane gusenice gubara. Gusenica *P. unipuncta* su gubile na biomasi, a parametri ECD i ECI su imali negativne vrednosti (Sousa *et al.*, 2015) što sa gusenicama gubara nije slučaj. Uticaj azadiraktin na snižavanje parametara rasta i ishrane insekata je poznat od ranije. On inhibitorno deluje na određene tipove enzima u srednjem crevu gusenica, kao što su  $\alpha$ -amilaza, lipaza,  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozidaza, laktat dehidrogenaza i proteaza (Zibae and Bandani, 2010a; Roya and Sendi, 2013; Yazdani *et al.*, 2014) i izaziva poremećaje u radu stomatogastričnog nervnog sistema čime

ometa prolaz hrane kroz digestivni trakt insekata (Trumm and Dorn, 2000). Da azadiraktin negativno utiče i na parametre rasta i ishrane gusenice *S. littoralis* i *S. litura* smanjujući njihovu relativnu brzinu rasta, relativnu brzinu konzumacije hrane, kao i njihovu sposobnost konverzije unete hrane u biomasu utvrdili su Martinez i Emden (1999) i Nathan i Kalaivani (2005). Rharrabe i saradnici (2008) utvrdili da gusenice četvrtog stupnja *P. interpunctella* hranjene veštačkom hranom sa dodatkom azadiraktina gube na biomasu, a Shannag i saradnici (2015) su konstatovali da Azetrol i čisto ulje neem-a snižavaju relativnu brzinu rasta, relativnu brzinu konzumacije hrane, efikasnost konverzije sva rene i unete hrane u biomasu, kao i efikasnost asimilacije hrane kod gusenicama *S. eridania* drugog stupnja.

## 6. Zaključak

Dobru antifidnu aktivnost poseduju etarsko ulje anisa i njegova dominantna komponenta trans-anetol primenjeni u koncentraciji 1.0 %, a intermedijernu antifidnu aktivnost primenjeni u koncentracijama 0.1 i 0.5 %. Etarska ulja mirođije i morača, dominantna komponenta karvon, kao i NeemAzal u svim ispitivanim koncentracijama poseduju intermedijernu ili slabu antifidnu aktivnost, a karvon primenjen u koncentraciji 0.1 % čak i fagostimulativnu.

Rezidualna kontaktna toksičnost ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponenta izostaje, a njihov uticaj na zaustavljanje presvlačenja gusenica nije zadovoljavajuć. NeemAzal takođe ne ispoljava značajnu kontaktnu toksičnost ali zato primenjen u višim koncentracijama (0.25, 0.5 i 1.0 %) ispoljava visoku efikasnost u zaustavljanju presvlačenja gusenica (u koncentraciji 1.0 % se nijedna gusenica nije presvukla). U proseku NeemAzal ostvaruje značajno veći uticaj na presvlačenje gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente.

Visoku digestivnu toksičnost koja dovodi do mortaliteta 100 % gusenica, od ispitivanih etarskih ulja poseduje jedino ulje mirođije (1.0 %) i dominantne komponente trans-anetol i karvon (0.5 i 1.0 %). Dominantne komponente izazivaju mortalitet 100 % gusenica u kraćem vremenskom periodu (nakon 72 časa) u odnosu na etarsko ulje mirođije (nakon 96 časova). Na osnovu vrednosti regresije iz probit analize može se konstatovati da obe dominantne komponente ispoljavaju najizraženiju toksičnost nakon 72 časa. Digestivna toksičnost NeemAzal-a posmatrana kroz mortalitet gusenica nije zadovoljavajuća.

Ispitivanjem uticaja digestivne toksičnosti primenjenih sredstava na presvlačenje gusenica koje su preživele tretman etarskim uljima i njihovim dominantnim komponentama u vremenskom intervalu od 120 časova je pokazalo odsustvo presvlačenja gusenica u grupama tretiranim etarskim uljima anisa i morača (1.0 %) i dominantnom komponentom karvonom (0.25 %), dok je trans-anetol koncentracijom 0.25 % smanjio broj presvučenih gusenica ispod 10 %. Odsustvo presvlačenja kod gusenica tretiranih NeemAzal-om je dobijeno u grupama izloženih koncentracijama 0.25, 0.5 i 1.0 %. U proseku NeemAzal ostvaruje značajno veći uticaj na zaustavljanje



presvlačenja gusenica u odnosu na ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente.

Ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente imaju značajan uticaj na snižavanje relativne brzine rasta gusenica (RGR). Najveću efikasnost postižu primenom u koncentraciji 0.5 %. Primenom u ovoj koncentraciji ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente uzrokuju negativne vrednosti parametra RGR, što znači da gusenice izložene njihovom dejstvu gube na masi. Jedino karvon primenjen u sve tri ispitivane koncentracije dovodi do gubitka u masi gusenica i u proseku ostvaruje veću efikasnost u smanjenju relativne brzine rasta gusenica u odnosu na trans-anetol i NeemAzal. Etarska ulja i dominantne komponente su efikasnije u snižavanju RGR od NeemAzal-a (standarda).

Ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente imaju značajan uticaj na snižavanje relativne brzine konzumacije hrane gusenica (RCR). Najveću efikasnost postižu primenom u koncentraciji 0.5 % kojom postižu i značajno veću efikasnost u odnosu na NeemAzal (standard).

Ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente imaju značajan uticaj na snižavanje efikasnosti asimilacije hrane kod gusenica (AD). Najveću efikasnost u snižavanju vrednosti parametra AD ostvaruju primenom u koncentraciji 0.5 %, kojom postižu i značajno veću efikasnost u odnosu na NeemAzal (standard).

Ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente imaju značajan uticaj na snižavanje efikasnosti konverzije unete (ECI) i efikasnosti konverzije svarene hrane (ECD) u biomasu gusenica. Njihov uticaj je najizraženiji primenom u koncentraciji 0.5 %, kada dolazi do smanjenja mase gusenica u posmatranom vremenskom intervalu. Negativne vrednosti parametara ECI i ECD nisu dobijene u grupama gusenica izloženim NeemAzal-u i etarskim uljima i njihovim dominantnim komponentama na nižim koncentracijama, sa izuzetkom karvona. Najizraženiji uticaj na smanjenje vrednosti parametara ECI i ECD poseduje dominantna komponenta karvon primenjena u koncentracijama 0.25 i 0.5 %. S obzirom da značajni efekti na snižavanje efikasnosti konverzije svarene hrane u biomasu gusenica ispitivanih etarskih ulja, njihovih dominantnih komponentata i NeemAzal-a, kao i koncentracija u kojima su primenjeni ostaju i nakon što se eliminišu uticaji izazvani razlikom u količini konzumirane hrane

pod njihovim dejstvom, efekti primenjenih sredstava se mogu objasniti njihovim uticajem kako na preingestivne, tako i na postingestivne procese.

Ispitivana etarska ulja i njihove dominantne komponente, u vremenskom intervalu i koncentracijama u kojima je mortalitet gusenica usled njihove digestivne toksičnosti nizak, inhibitorno deluju na paramtre rasta i ishrane gusenica. Takođe, pod uticajem digestivne toksičnosti ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponentata presvlačenje gusenica je odloženo ili onemogućeno. Antifidnom aktivnošću i toksičnošću etarska ulja i njihove dominantne komponente utiču na snižavanje relativne brzine rasta gusenica, jer je kod gusenica koje su izložene dejstvu ispitivanih etarskih ulja i njihovih dominantnih komponentata smanjena relativna brzina konzumacije hrane, efikasnost asimilacije i efikasnos konverzije unete i swarene hrane u biomasu gusenica, što dalje utiče na rast i razviće gusenica. Spektar bioloških efekata koje poseduje etarsko ulje anisa, njegova dominantna komponenta trans-anetol, kao i dominantna komponenta karvon, svrstava ih u dobre kandidate za formulaciju biloških preparata koji bi se mogli koristiti u sklopu integralnih mera odbrane od gubara, a naročito u fazi progradacije kada intenzitet šteta još uvek nije dostigao svoj maksimum.

## 7. Literatura

- Abdel-Rahman, H. R., Al-Mozini, R. N. (2007): Antifeedant and toxic activity of some plant extracts against larvae of cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pakistan Journal of Biological science*, 10, 4467-4472.
- Agrawal, A. (2000): Specificity of induced resistance in wild radish: causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars. *Oikos*, 89, 493–500.
- Aharoni, A., Jongsma, M. A., Bouwmeester H. J. (2005): Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. *TRENDS in Plant Science*, 10 (12), 594-602.
- Arimura, G. I., Matsui, K., Takabayashi, J. (2009): Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. *Plant Cell Physiology*, 50, 911–23.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–47.
- Baldwin, I. T. (1994): Chemical changes rapidly induced by folivory. In E.A. Bernays (ed.), *Insect-plant interactions*, 5, Boca Raton, FL, 1–23.
- Baldwin, I. T. and Preston, C. A. (1999): The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores, *Planta*, 208, 137-145.
- Ballhorn D. J., Kautz S., Heil M., Hegeman A. D. (2009): Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature. *Plant Signaling and Behavior*, 4 (8), 735-745.
- Bedoy, B. and Farfan, F. (2010): The effect of inbreeding on defence against multiple enemies in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology*, 24 (3), 518–530.
- Bennett, R. N. and Wallsgrave, R. M. (1994): Secondary metabolites in plant defence mechanisms, *New Phytologist*, 127, 617-633.
- Berenbaum, M. (1980): Adaptive significance of midgut pH in larval Lepidoptera, *American Naturalist*, 115, 138-146.
- Berenbaum, M. R. (1986): Target site insensitivity in insect–plant interactions. In *Molecular aspects of insect–plant associations* (ed. L. B. Brattsten and S. Ahmad), Plenum Press, New York, 257–272.

- Berenbaum, M. and Seigler, D. (1992): Biochemicals: engineering problems for natural selection. In *Insect chemical ecology* (ed. B. D. Roitberg and M. B. Isman), Chapman & Hall, New York, 89–121.
- Berenbaum, M. and Zangerl, A. R. (2008): Facing the future of plant-insect interaction research: Le retour à la “raison d’être”, *Plant Physiology*, 146, 804-811.
- Bernays, E. A. and Chapman, R. F. (1976): Deterrent chemicals as a basis of oligophagy in *Locusta migratoria* (L.). *Ecological Entomology*, 2, 1-18.
- Berryman, A. A. (1988): Towards a unified theory of plant defense, *Mechanisms of woody plant defenses against insects* (ed. by Mattson W.J., Levieux, J., and Dagan, B. C.), Springer-Verlag, New York, 39-57.
- Berryman A. A. (1996): What causes population cycles of forest Lepidoptera? *Tree*, 11, 28-32.
- Bhardwaj, A., Tewary, D. K., Kumar, R., Kumar, V., Sinha, A. K., Shanker, A. (2010): Larvicidal and structure activity studies of natural phenylpropanoids and their semisynthetic derivatives against the tobacco armyworm *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemistry and Biodiversity*, 7, 168–177.
- Bharti, N., Yadav, D., Barnawal, D., Maji, D., Kalra, A. (2013): Exiguobacterium oxidotolerans a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell under primary and secondary salt stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 379–387.
- Bissinger, B. W., Roe, R. M. (2010): Tick repellents: past, present, and future. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 96, 63–79.
- Brattsten, L. B. (1992): Metabolic defenses against plant allelochemicals. In *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*, vol 2, ed. G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum, San Diego: Academic press, 176-242.
- Broderick, A. N., Goodman, R., Raffa, F. K. (2000): Synergy Between Zwittermicin A and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Against Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environmental Entomology*, 29 (21), 101-107.
- Bruce, T. J. A., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M. (2005a): Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci* 10, 269–274.
- Buchanan, B. B., Gruissen, W., and Jones, R. L. (2000): *Biochemistry and molecular*

- biology of plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD.
- Byers, J. A., (1995): Host-tree chemistry affecting colonization of bark beetles. In: R. T. Cardé and W. J. Bell, (eds), *Chemical Ecology of Insects 2*. Chapman and Hall, New York, 154-213.
- Cameron, E. A. (1979): Disparlure and its role in gypsy moth population manipulation. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft [R]*, 52, 333-342.
- Carisey, N. and Bauce, E. (1997): Balsam fir foliar chemistry in middle and lower crowns and Spruce budworm growth, development, food and nitrogen utilization. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1963-1978.
- Cetin H., Erler F., Yanikoglu A. (2006): Toxicity of Essential Oils Extracted from *Origanum onites* L. and *Citrus aurentium* L. against the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams., *Folia biologica (Kraków)*, 54, 3-4.
- Cetin, H., Erler, F., Yanikoglu, A. (2007): A comparative evaluation of *Origanum onites* essential oil and its four major components as larvicides against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams., *Pest Management Science*, 63, 830–833.
- Chen, M.S. (2008): Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science* 15, 101-114.
- Chinta, S., Dickens, J. C, Aldrich, J. R. (1994): Olfactory reception of potential pheromones and plant odors by tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Chemical Ecology*, 20, 12, 3251-3267.
- Coats, J. R., Karl, L. L., Charles, D., Drewes, C. D. (1991): Toxicity and Neurotoxic Effects of Monoterpenoids In Insects and Earthworms. In: Hedin, P. A. (Ed.), *Naturally Occurring Pest Bioregulators*, ACS Symposium Series, 449, 305-316.
- Cohen, M. B., Schuler, M. A., Berenbaum, M. R. (1992): A host plant inducible cytochrome P- 450 from a host - specific caterpillar: Molecular cloning and evolution. *Proceedings of National Academy Sciences of the USA*, 89, 10920 – 10924.
- Copping, L. G., Menn J. J. (2001): Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, 56 (8), 651–676.
- Copping, L. G. (2009): *The Manual of Biocontrol Agents: A World Compendium*. The

- British Crop Production Council's.
- Coviella, C. E., Stipanovic, R. D., Trumble, J. T. (2002): Plant allocation to defensive compounds: interactions between elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen in transgenic cotton plants, *Journal of Experimental Botany*, 53, 323–331.
- Dale V. H., Joyce L. A., McNulty S., Neilson R. P., Ayres M.P., Flannigan M.D., Hanson P. J., Irland L. C., Lugo A. E., Peterson C. J., Simberloff D., Swanson F. J., Stocks B. J., Wotton B. M. (2001): Climate change and forest disturbances. *BioScience*, 51, 723-734.
- Darrow, K. and Bowers, M. D. (1999): Effects of herbivore damage and nutrient levels on induction of iridoid glycosides in *Plantago lanceolata*. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 1427-1440.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 4022–4034.
- De Moraes, C. M., Mescher, M. C., Tumlinson, J. H. (2001): Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. *Nature*, 410, 577–580.
- DeBach, P. [ed.]. (1964): Biological control of insect pests and weeds. Chapman and Hall, London, 844.
- Dudt, J. F. and Shure, D. J. (1994): The influence of light and nutrients on foliar phenolics and insect herbivory. *Ecology*, 75, 86-98.
- Duffey, S. S. (1986): Plant glandular trichomes: their partial role in defence against insects. In: B. E. Juniper and T. R. E Southwood (eds), *Insect and the Plant Surface*. Arnold, London, 151-172.
- Dunse K. M., Stevens J. A., Lay F. T., Gaspar Y. M., Heath R. L., Anderson M. A. (2010): Coexpression of potato type I and II proteinase inhibitors gives cotton plants protection against insect damage in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 15011–15015.
- Dussourd, D. E., (1993): Foraging with finesse: caterpillar adaptations for circumventing plant defenses. In: Stamp N. E. and Casey T. M. (eds), *Caterpillars. Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging*. Chapman and Hall, New York, 92-131.
- Elder, B. D., Rehill B. J., Haynes K. J., Dwyer G. (2013): Induced plant defenses, host-pathogen interactions, and forest insect outbreaks. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the USA 110, 14978-14983.
- Elkinton J. S. & Liebhold A. M. (1990): Population dynamics of gypsy moth in North America. *Annual Review of Entomology*, 35, 571–596.
- Enan, E. (2001): Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 130, 325–337.
- Enan, E. (2005a): Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 59, 161–171.
- Enan, E. (2005b): Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine response cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35, 309–321.
- Erler, F., Cetin, H., (2008): Larvicidal activity of essential oil from *Pimpinella anisum* and its major component, trans-anethole, against *Euproctis chrysorrhoea*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17 (12B), 2170-2174.
- Farrar, J. L. (1995): *Trees in Canada*. Fitzhenry & Whiteside and Canadian Forest Service, Ottawa, Ontario.
- Fenny, P. (1970): Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by Winter Moth caterpillars, *Ecology*, 51, 4, 565-581.
- Ferrat, L., Pergent-Martini, C., Roméo, M. (2003): Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses. *Aquatic Toxicology*, 65, 187–204.
- Finney, D. J. (1971): *Probit Analysis*, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge, 333.
- Forbush, E. H. and Fernald, C. H. (1896): *The gypsy moth: Porthetria dispar* (Linn.), Wright and Potter Printing Co., Boston, 1-251.
- Francios, G., Mirotson M., Hatsiapostolou E., Karl J., Scouraz Z. G., Mavragani T. P. (1997): Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2690-2694.
- Freeman, B. C., Beattie, G. A. (2008): An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01.
- Fritz, R. S., Hochwender, C. G., Lewkiewicz, D. A., Bothwell, S., Orians, C. M. (2001): Seedling herbivory by slugs in a willow hybrid system: development

- changes in damage, chemical defense, and plant performance. *Oecologia*, 129, 87-97.
- Garza, R., Vera, J., Cardona, C., Barcenas, N., Singh, S. P. (2001): Hypersensitive response of beans to *Apion godmani* (Coleoptera: *Curculionidae*). *Journal of Economical Entomology*, 94, 958-962.
- Gatehouse, A. M. R., Gatehouse, J. A. (1998): Identifying proteins with insecticidal activity: Use of encoding genes to produce insect-resistant transgenic crops. *Pesticide Science*, 52, 165 – 17.
- Glynn, C., Herms, D. A., Egawa, M., Hansen, R., Mattson, W.J. (2003): Effects of nutrient availability on biomass allocation as well as constitutive and rapid induced herbivore resistance in poplar, *Oikos*, 101, 385-397.
- Goggin, F. L. (2007): Plant-aphid interactions: molecular and ecological perspectives. *Current Opinion in Plant Biology*, 10, 399-408.
- Gorunović, S. M., Lukić, B. P. (2001): *Farmakognozija*. Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.
- Gould, F. (1984): Mixed function oxidases and herbivore polyphagy: the devil's advocate position. *Ecological Entomology*, 9, 29 – 34.
- Grace, J. (1997): Plant water relations. In: M.J. Crawley (ed.), *Plant Ecology*, pp. 28-50.
- Green, T. R. and Ryan, C. A. (1972): Wound induced proteinase inhibitors in plant leaves. *Science*, 175, 776–7.
- Guo-cai, Z., Yue-jie, W., Xiao-guang Y. (2005): Control of *Lymantria dispar* L. by biological agents. *Journal of Forestry Research*, 16 (2), 158-160 .
- Hajek, A. E., Shimazu, M., Knoblauch, B. (2000): Isolating a species of Entomophthorales using resting spore-bearing soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75, 298-300.
- Hajek, A. E. (2001): Larval behavior in *Lymantria dispar* increases risk of fungal infection. *Oecologia*, 126, 285–291.
- Hajek, A. E., Wheeler M. (2004): Using bioassays to estimate abundance of *Entomophaga maimaiga* resting spores in soil. – *Journal of Invertebrate Pathology*, 86, 61-64.
- Hansson B. S., Hallberg E. (1999): Introduction to insect sensory structures. *Microscopy Research and Technique*, 47, (6), 367.



- Harborne, J. B. (1993): Ecological Biochemistry. 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, San Diego.
- Hartmann, T. (1996): Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80, 177–88.
- Haukioja, E. and Hakala, T. (1975): Herbivore cycles and periodic outbreaks. Formulation of a general hypothesis. Report of the Kevo Subarctic Research Station, 12, 1–9.
- Hilker M., Stein C., Schröder R., Varama M., Mumm R. (2005): Insect egg deposition induces defence responses in *Pinus sylvestris*: characterisation of the elicitor. *The Journal of Experimental Biology*, 208 (Pt 10), 1849-1854.
- Hossain, M. A., Ismail Z., Rahman A., Kang, S. H. (2008): Hemical composition and anti-fungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Industrial crops and products*, 27, 328–334.
- Howe, G. A., Jander, G. (2008): Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 41–66.
- Huang, Z., Tan, J. M. W. L., Kini, R. M., Ho, S. H. (1997): Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium Castaneum* (Herbast) and *Sitophilus zeamais* (Motsch.). *Journal of Stored Products Research*, 33, 289-298.
- Hummelbrunner, L. A. and Isman, M. B. (2001): Acute, Sublethal, Antifeedant, and Synergistic Effects of Monoterpenoid Essential Oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 715–720.
- Ikeda, T., Matsamura, F., Benjamin, D. M., (1977): Mechanism of feeding discrimination between matured and juvenile foliage by two species of pine sawflies, *Journal of Chemical Ecology*, 3, 677-694.
- Isman, M. B. (1993): Growth Inhibitory and Antifeedant Effects of Azadirachtin on Six Noctuides of Regional Economic Importance. *Journal of Pesticide science*, 38, 57-63.
- Isman, M. B. (2006): Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*, 51, 45-66.
- Isman, M. B. and Machial, C. M. (2006): Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Advances in Phytomedicine*, Vol. 3:

- Naturally Occurring Bioactive Compounds (ed. by M Rai & MC Carpinella), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 29–44.
- Isman, M. B. and Miresmailli, S. (2011): Plant Essential Oils as Repellents and Deterrents to Agricultural Pests. In: Recent Developments in Invertebrate Repellents; Paluch, G., et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 67-77.
- Isman, M. B., Miresmailli, S., Machial, C. (2011): Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10, 197–204.
- Janković, Lj. (1954): Neka zapažanja u vezi visinskog rasprostranjenja gubara. *Zaštita bilja*, 23, 103-104.
- Janković, Lj. (1958): Prilog poznavanju biljki hraniteljki gubara u prirodi u toku poslednje gradacije (1953-1957 god.). *Zaštita bilja*, 49/50, 36-39.
- Jančić R., Stošić D., Mimica -Dukić N., Iakušić B. (1995): Aromatične biljke Srbije. NIP Dečije novine, Beograd-Gornji Milanovac.
- Jevđović, R., Kostić, M., Todorović, G. (2011): Proizvodnja lekovitog bilja.
- Johnson, C. B, Kazantzis A., Skoula M., Mitteregger U., Novak J. (2004): Seasonal, populational and ontogenic variation in the volatile oil content and composition of individuals of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, assessed by GC headspace analysis and by SPME sampling of individual oil glands. *Phytochemical Analysis*, 15, 286–292.
- Jones, P., Vogt, T. (2001): Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers. *Planta*, 213, 164-174.
- Kaitaniemi, P., Ruohomäki, K., Ossipov, V.M., Haukioja, E., Pihlaja, K. (1998): Delayed induced changes in the biochemical composition of host plant leaves during an insect outbreak, *Oecologia*, 116,182-190.
- Karban, R., (1989): Induced plant responses to herbivory. *Annual review of ecology, evolution and sistematics*, 20, 331-348.
- Karban, R., Baldwin, I. T. (1997): *Induced Responses to Herbivory*, The University of Chicago Press, Chicago, 319.
- Katerinopoulos, H., Pagona, G, Afratis, A., Stratigakis, N. and Roiditakis, N. (2005): Composition and insect attracting activity of the essential oil of *Rosmarinus*

- officinalis*. Journal of Chemical Ecology, 31, 111- 122.
- Kaur, S., Pal Singh, H., Mittal, S., Rani Batish, D., Kohli, R. K. (2010): Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. Industrial Crops and Products, 32, 54–61.
- Kay, L. M., Stopfer, M. (2006): Information processing in the olfactory systems of insects and vertebrates. Seminars in Cell & Developmental Biology, 1-10.
- Keita S. M., Vincent C., Schmit J. P., Arnason J. T., Belanger A. (2001): Efficiency of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 37 (4), 339–349.
- Kessler, A. and Baldwin I. T. (2001): Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. Science, 291, 2141–44.
- Khodyrev, V. P., Teshebaeva, Z. A., Toktoraliev, B. A., Bakhvalov, S. A. (2010): Entomopathogenic Microorganisms in the Foci of the Gypsy Moth (*Lymantria dispar* L.) in Nut-Fruit Forests of the South of Kyrgyzstan. Contemporary Problems of Ecology, 3 (5), 509–514.
- Khosravi, R. and Sendi, J. J. (2013): Effect of neem pesticide (achook) on midgut enzymatic activities and selected biochemical compounds in the hemolymph of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Protection Research, 53 (3), 238-247.
- Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., Keinänen, M. (1998): Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. Oikos, 83, 212–226.
- Kostić, I., Petrović, O., Milanović, S., Popović, Z., Stanković, S., Todorović, G., Kostić, M. (2013): Biological activity of essential oils of *Athamanta haynaldii* and *Myristica fragrans* to gypsy moth larvae. Industrial Crops and Products, 41, 17-20.
- Kostić, M., Popović, Z., Brkić, D., Milanović, S., Sivčev, I., Stanković, S. (2008): Larvicidal and antifeedant activity of some plant-derived compounds to *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). Bioresource Technology 99, 7897–7901.
- Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., Shaaya, E. (2002):

- Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*, 58, 1101–1106.
- Koul, O., Singh, G., Sing, R., Singh, J. (2004): Bioefficacy and mode-of-action some limonoids of salanin group from *Azadirachta indica* A. Juss and their role in a multicomponent system against lepidopteran larvae. *Journal of Bioscience*, 29, 409-416.
- Kovačević, N. (2004): Osnovi farmakognozije. Treće izdanje. Institut za farmakognoziju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu. Srpska školska knjiga, Beograd.
- Kurowska, A., Kalemba, D., Majda, T., Gora, J. and Mielniczuk, Z. (1993): Analysis of essential oils in aspects of their influence on insects. Part II. Essential oil of tansy. *Zeszyty Naukowe olitechniki Lodzkiej, Technologia I Chemia Spozywcza* 589, 15–22.
- Lance, D. (1983): Host-seeking behavior of the gypsy moth: the influence of polyphagy an highly apparent host plants. In *Herbivorous Insects. Host-seeking Behavior and Mechanisms* (Ahmad, S.), Academic Press, New York, 201-224.
- Larsson, S., Björkman, C. Gref, R. (1986): Responses of *Neodiprion sertifer* (Hym., Diprionidae) larvae to variation in needle resin acid concentration in Scots pine, *Oecologia*, 70, 77- 84.
- Lawrence P. K., Koundal K. R. (2002): Plant protease inhibitors in control of phytophagous insects. *Electronic Journal of Biotechnology*, 5, 93–109.
- Liebhold, A. M., Halverson, J. A., Elmes, G. A. (1992): Gypsy moth invasion in North America: a quantitative analysis. *Journal of Biogeography*, 19 (5), 513–520.
- Liebhold, A. M., MacDonald, W. L., Bergdahl, D. D., Mastro, V. (1995): Invasion by exotic forest pests: a threat to for est ecosystems. *Forest Science Monograph*, 30, 1-49.
- Liebhold, A. M., Gottschalk, K. W., Muzika, R. M., Montgomery, M.E., Young, R., O’Day, K., Kelley. B., (1995): Suitability of North American tree species to the gypsy moth: A summary of field and laboratory tests. USDA Foreest Service Gen. Techn. Rep. NE-211.
- Marković, I., Norris, D. M., Phillips, J. K., Webster, F. X. (1996): Volatiles involved in

- the non-host rejection of *Fraxinus pennsylvanica* by the *Lymantria dispar* larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 929-935.
- Martemyanov, V. V., Bakhvalov, S. A., Dubovskiy, I. M., Glupov, V. V., Salakhutdinov, N. F., Tolstikov, G. A. (2006): Effect of Tannic Acid on the Development and Resistance of the Gypsy Moth, *Lymantria dispar* L. to Viral Infection. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 409, 219–222.
- Martinez, S. S. and Van Edman H. F. (2001): Growth Disruption, Abnormalities and Mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) Caused by Azadirachtin. *Neotropical Entomology*, 30, 1, 113-125.
- Martinez, S. S. and Van Edman H. F. (1999): Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research*, 89, 65-71.
- Matsuki, M., Kay, M., Serin, L. F. R. and Scott, J. K. (2001): Potential risk of accidental introduction of Asian gypsy moth (*Lymantria dispar*) to Australasia: effects of climatic conditions and suitability of native plants. *Agricultural and Forest Entomology*, 3, 305-320.
- Mattson, W. J., Lawrence, R. K., Haack, R. A., Herms, D. A. & Charles, P. J. (1988): Defensive strategies of woody plants against different insect-feeding guilds in relation to plant ecological strategies and intimacy of association with insects, In: Mechanisms of woody plant defenses against insects, ed. by Mattson W. J., Levieux, J., and Dagan, B. C., Springer-Verlag, New York, 3-39.
- McCormick A. C., Irmisch, S., Reinecke, A., Boeckler, G. A., Veit D., Reichelt M., Hannson B. S., Gershenson J., Köllner, T. G., Unsicker, S. B. (2014). *Plant, Cells and Environment* 37 (8), 1909-1923.
- McKey, D. (1979): The distribution of secondary compounds within plants. In *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites*. Edited by Rosenthal GA, Janzen DH. Orlando, Florida: Academic Press, 56-134
- Mihajlović, Lj. (2008): Gubar (*Lymantria dispar* L.) (Lepidoptera, Lymantridae) u Srbiji. *Šumarstvo*, 1-2, 1-26.
- Milanović, S. (2011): Razviće gubara (*Lymantria dispar* L.) (Lepidoptera, Lymantriidae) na različitim vrstama hrastova u Srbiji. *Doktorska disertacija*, 19

pp. Šumarski fakultet, Univerzitet u Beogradu.

- Milanović S., Lazarević J., Popović Z., Miletić Z., Kostić M., Radulović Z., Karadžić D., Vuleta A. (2014): Preference and performance of the larvae of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) on three species of European oaks. *European Journal of Entomology*, 111(3), 371–378.
- Mimica-Dukić, N. (1993): Ispitivanje sekundarnih biomolekula u nekim vrstama roda *Mentha*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, PMF. Novi Sad.
- Moretti, M. D. L., Sanna-Passino, G., Demontis, S., Bazzoni, E. (2002): Essential Oil Formulations Useful as a New Tool for Insect Pest Control. *American Associations Pharmaceutical Scientists Technology*, 3 (2), 13.
- Mosaddek, I. A., Aktari, U. N., Bibi, B., Cao, F., He, X., Zhang, G., Wu, F. (2015): Secondary metabolism and antioxidants are involved in the tolerance to drought and salinity, separately and combined, in Tibetan wild barley. *Environmental and Experimental Botany*, 111, 1-12.
- Naseri, B., Fathipour, Y., Moharramipour, S., Hosseininaveh, V. (2009): Nutritional indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on 13 soybean varieties. *Journal of Insect Science*, 151, 10, 1-14.
- Nathan S. S. and Kalaivani K. (2005): Efficacy of nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*, 34, 93–98.
- Nathan, S. S., Chung, P. G., Murugan, K. (2005): Effect of biopesticides applied separately or together on nutritional indices of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis*. *Phytoparasitica*, 33, 187-195.
- Nathan S. S. and Kalaivani K. (2006): Combinet effects of azadirachtin and nucleopolyhedrovirus (SpltNPV) of *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Biological Control*, 39, 96–104.
- Nikolić, V. (1973): Fam. Apiaceae. In: Josifović M. (Ed.), *Flora SR Srbije* 5. Beograd, Srbija, SANU, 183.
- Ninković, S., Miljuš-Đukić, J., Lazarević, J. (2001): Proteinazni inhibitori i mogućnost njihove primene u kontroli štetnih insekata, *Ekologija*, 36, No. 1, 1-38.
- Ntalli, N. G., Menkissoglu-Spiroudi, U. (2011): Pesticides of Botanical Origin: A Promising Tool in Plant Protection. *Pesticides, Formulations, Effects, Fate*, 3-24.

- Onufrieva, K. S.; Thorpe, K. W.; Hickman, A. D.; Tobin, P. C.; Leonard, D. S.; Roberts, E. A. (2010): Effects of SPLAT® GM sprayable pheromone formulation on gypsy moth mating success. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 136, 109–115.
- Orians, C. M., Roche, B., Fritz, R. S. (1996): The genetic basis for variation in the concentration of phenolic glycosides in *Salix sericea*, and analysis of heritability, *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 719-724.
- Osier, T. L., Hwang, S. Y., Lindroth, R. L. (2000): Effects of phytochemical variation in quaking aspen *Populus tremuloides* clones on gypsy moth *Lymantria dispar* performance in the field and laboratory. *Ecological Entomology*, 25, 197-207.
- Ozols, G. and Bicevskis, M. (1979): Respects for the use of *Ips typographus* attractant. In E. M. Shumakov, S.Y. Chekmenev, and T.V. Ivanova (eds). *Biologia Aktualis Veshchestva Zashchiva Rastenij*, Moscow: Izd. Kolos, 49–51.
- Pavela R. (2011): Screening of Eurasian plants for insecticidal and growth inhibition activity against *Spodoptera littoralis* larvae. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6 (12), 2895-2907.
- Pichersky, E., Noel, J. P., Dudareva, N., (2006): Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311, 808–811.
- Pilarska, D., McManus, M., Hajek, A., Herard, F., Vega, F., Pilarski P., Markova, G. (2000): Introduction of the entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* Hum., Shim. & Sop. (Zygomycetes: Entomophthorales) to a *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) population in Bulgaria. *Journal of Pest Science*, 73, 125-126.
- Pogue, M. G., Schaefer, P. W. (2007): A review of Selected Species of *Lymantria* Hubner, (1819) (Lepidoptera: Lymantriidae) from Subtropical and Temperate Regions of Asia, including the Descriptions of three new species, some potentially invasive to North America. Publication FHTET-2006-2007, Colorado. 221 pp.
- Poonpaiboonpipat, T., Pangnakorn, U., Suvunnamek, U., Teerarak, T., Charoenying, P., Laosinwattana C. (2013): Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Industrial Crops and Products*, 41, 403– 407.

- Popović, Z., Kostić, M., Stanković, S., Milanović, S., Sivčev I., Kostić I., Kljajić P. (2013): Ecologically acceptable usage of derivatives of essential oil of sweet basil, *Ocimum basilicum*, as antifeedants against larvae of the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Journal of Insect Science*, 13, 161, 1-12.
- Pourcel, L., Routaboul, J. M., Cheynier, V., Lepiniec, L., Debeaujon, I. (2007): Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Science*, 12, 29–36.
- Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., Sattelle, D. B. (2003): Thymol, a constituent of thyme essential oil is a positive allosteric modulator of human GABA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 140, 1363–1372.
- Raffa, K. F., (1991): Induced defensive reactions in conifer-bark beetle systems. In: D. Tallamy, D. and Raupp (eds), *Phytochemical Induction by Herbivores*. Wiley-Interscience Publication, New York, 245-276.
- Rafiei-Karahroodi, Z., Moharramipour, S., Farazmand, H., Karimzadeh-Esfahani, J. (2011): Insecticidal effect of six native medicinal plants essential oil on Indianmeal moth *Plodia interpunctella* Hübner (Lep.: Pyralidae). *Munis Entomology & Zoology Journal*, 6 (1), 339–345.
- Ramak, P., Kazempour, S. O., Sharifi, M., Ebrahimzadeh, H., Behmanesh, M. (2014): Biosynthesis, regulation and properties of plant monoterpenoids. *Journal of Medical Plant Research*, 8 (29), 983-991.
- Rattan, R. S. (2010): Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 29 (9), 913-920.
- Raubenheimer, D. and Simpson S. J. (1992): Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62, 221-231.
- Regnault-Roger, C. (1997): The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* 2, 25–34.
- Regnault-Roger, C., Vincent, C., Arnason, J. T. (2012): Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review Entomology*, 57, 405–424.
- Rharrabe, K., Amri, H., Bouayad, N., Sayah, F. (2008): Effects of azadirachtin on post-embryonic development, energy reserves and  $\alpha$ -amylase activity of *Plodia*



- interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research, 44, 290–294.
- Rocha Vilela, G., Almeida, S. G., Regitano D'Arca, M. A. B., Duarte Mores, H. M., Brito, H. O., da Silva M. F. das G. F., Cruz Silva, S., da Stefano Piedade, S. M., Caloria-Domingues, M. A., da Gloria E. M. (2009): Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. Journal of Stored Products Research, 45 (2), 108–111.
- Roininen, H., Price, P. W., Julkunen-Tiitto, R., Tahvanainen, J., Ikonen, A. (1999): Oviposition stimulant for a gall-inducing sawfly, *Euura lasiolepis*, on willow is a phenolic glucoside. Journal of Chemical Ecology, 25, 943-953.
- Rossiter, M. C., Shultz, J. C., Baldwin, I. T. (1988): Relationships among defoliation, red oak phenolics, and gypsy moth growth and reproduction, Ecology, 69, 267-277.
- Roya, K., and J. J. Sendi (2013): Effect of neem pesticide (Achook) on midgut enzymatic activities and selected biochemical compounds in the hemolymph of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Protection Research, 53, 238–247.
- Russo, R., Autore, G., Severino, L. (2009): Pharmaco-toxicological aspects of herbal drugs used in domestic animals. Natural Product Communication, 4, 1777–1784.
- Ryan C. A. (1990): Protease Inhibitors in Plants: Genes for Improving Defenses Against Insects and Pathogens. Annual Review of Phytopathology, 28, 425-449.
- Schaefer, P. W. and Mallner, W. E. (1992): Asian Gypsy Moth (AGM) bioecology: Comparison with North American Gypsy Moth and other species of *Lymantria*, General Technical Report NE-170, Northeastern Forest Experiment Station, USDA Interagency Gypsy Moth Research Forum, 42-44. Annapolis, Maryland.
- Schoonhoven, L. M., Jermy, T., Van Loon, J. J. A. (1998): Insect-plant biology. From physiology to evolution. Chapman and Hall, London, 31-32.
- Schoonhoven, L. M., Van Loon, J. J. A., Dicke, M. (2005): Insect-plant biology. Oxford University Press, Oxford, 116-117.
- Seigler, D., Price, P. W. (1976): Secondary compounds in plants: primary functions, American Naturalist, 110, 101–105.

- Shaalán, E. A., Canyon, D., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H., Mansour, A. (2005): A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*, 31, 1149 – 1166.
- Shannag, H. K, Capinera, J. L., Freihat, N. M. (2015): Effects of Neem-Based Insecticides on Consumption and Utilization of Food in Larvae of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of insect science* 15(1), 152; DOI: 10.1093/jisesa/iev134.
- Siemens, D. H., Garner, S. H., Mitchell-Olds, T., Callaway, R. M. (2002): Cost of defense in the context of plant competition: *Brassica rapa* may grow and defend. *Ecology*, 83, 505–517.
- Singh, R., Koul, O., Jai Rup, P., Jindal, J. (2010): Evaluation of dietary toksiciti of some essential oils allelochemicals for the managment of *Chilo partelluus* (SWINHOE). *Journal of plant protection research*, 50, 3, 293-301.
- Sisojević, P. (1975): Population dynamics of tachinid parasites of the gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) during a gradation period (in Serbo-Croatian). *Zastita bilja*, 26, 97-170.
- Smith, H. S. (1919): On some phases of insect control by the biological method. *Journal Economic Entomology*, 12, 288–292.
- Solari, P., Crnjar, R., Spiga, S., Sollari, G., Loy, F., Masala, C., Liscia, A. (2007): Release mechanism of sex pheromone in the female gypsy moth *Lymantria dispar*: a morpho-functional approach. *Journal Comparative Physiology A.*, 193, 775–785.
- Sousa, R. M., Rosa, J. S., Oliveira, L., Cunha, A. (2013): Activities of Apiaceae Essential Oils against Armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 7661–7672.
- Sousa, R. M., Rosa J. S., Oliveira, L., Cunha, A., Fernandes-Ferreira M. (2015): Activities of Apiaceae essential oils and volatile compounds onhatchability, development, reproduction and nutrition of *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Industrial Crops and Products*, 63, 226–237.
- Southwood, T. R. E. (1973): The insect plant relationship - an evolutionary perspective, in *Insect/plantrelationships*, ed. by Van Emden H.F., The Royal entomological society, London, 6, 3-30.

- Speare, A. T., Colley, R. H. (1912). The artificial use of the brown-tail fungus in Massachusetts with practical suggestions for private experiments, and a brief note on a fungous disease of the gypsy caterpillar. Wright & Potter, Boston.
- Stathers, T. E., Denniff, M., Golob, P. (2004): The efficacy and persistence of diatomaceous earth admixed with commodity against four tropical stored product beetle pests. *Journal of Stored Products Research*, 40, 113-123.
- Stotz, H. U., Kroymann, J., Mitchell-Olds, T. (1999): Plant–insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 2, 268–272.
- Stowe, K. A., Marquis, R. J., Hochwender, C. G., Simms, E. L. (2000): The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 565–595.
- Swain, T. (1977): Secondary compounds as protective agents, *Annual Review of Plant Physiology*, 28, 479-501.
- Szczepanik, M., Dams, I., Wawrzęńczyk, C. (2005): Feeding deterrent activity of terpenoid lactones with the p-menthane system against the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 34 (6), 1433-1440.
- Szczepanik, M., Szumny, A., Wawrzęńczyk, C. (2009): The Effect of  $\alpha$ -Methylenelactone Group on the Feeding Deterrent Activity of Natural and Synthetic Alkenes Against Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say. *Polish Journal of Environmental Studies*, 18 (6), 1107-1112.
- Tabaković-Tošić M., Golubovic-Curguz V., Tosić D. (2011): New technological methods in the integrated forest protection in the Republic of Serbia. *Proceedings of International scientific conference "Integrated plant protection – Strategy and tactics"*, Minsk, 49-55.
- Tabaković-Tošić M. (2014): Suppression of gypsy moth population in mountain Avala (Republic of Serbia) by introduction of entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga*. *Доклади на Българската академия на науките*, tome 67, No 1.
- Tamayo, M. C., Rufat, M., Bravo, J. M., San Segundo, B. (2000): Accumulation of a maize proteinase inhibitor in response to wounding and insect feeding, and characterization of its activity toward digestive proteinases of *Spodoptera littoralis* larvae. *Planta*, 211, 62–71.
- Tapondjou, L. A., Adler C., Bouda, H., Fontem, D. A. (2002): Efficacy of powder and

- essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38 (4), 395–402.
- Theodore, J. L., Dante, G. G., Harris, J., Mon, R. T., Teranishi, R. (1971): Chemical and sensory data supporting the difference between the odors of the enantiomeric carvones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19 (4), 785.
- Tripathi, A. K., Prajanpati, V., Aggarwal, K. K. and Kumar, S. (2001): Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 94, 979–983.
- Tripathi, A. K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M., Bhattacharya, P. R. (2009): A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phithotherapy*, 15, 52-63.
- Trumm, P., Dorn A. (2000): Effects of azadirachtin on the regulation of midgut peristalsis by the stomatogastric nervous system in *Locusta migratoria*. *Phytoparasitica*, 28, 7-26.
- Tuomi, J., Niemela, P., Chapin, F. S., III, Brayant, J. P., Siren, S. (1988): Defensive response of trees in relation with their carbon/nutrient balance, in *Mechanisms of woody plant defenses against insects*, ed. by Mattson W.J., Levieux, J., and Dagan, B. C., Springer-Verlag, New York, 57-73.
- Uesugi, A., Poelman, E. H., Kessler, A. (2013): A test of genotypic variation in specificity of herbivore-induced responses in *Solidago altissima* L. (Asteraceae). *Oecologia*, DOI 10.1007/s00442-013-2717-5.
- Van den Boom, C. E. M., Van Beek, T. A., Posthumus, M. A., De Groot, A. E., and Dicke, M. (2004): Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetranychus urticae* feeding on plants from various families. *Journal of Chemical Ecology*, 30, 69–89.
- Van Netten, C., Teschke, K., Leung, V., Chou, Y., Bartkett, K. (2000): The measurement of volatile constituents in Foray 48B an insecticide prepared from *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*. *Science of the Total Environment*, 263, 155-160.
- Visser, J. H. (1988): Host-plant finding by insects – orientation, sensory input and

- search patterns. *Journal Insect Physiology*, 34, 259–268.
- Viswanathan, D. V., Narwani, A. J. T, Thaler, J. S. (2005): Specificity in induced plant responses shapes patterns of herbivore occurrence on *Solanum dulcamara*. *Ecology* 86, 886–896.
- Vonnie, D. C. S., Kristen P. S., Nicole S. A., Ineta M. G., Taharah E. S., Danielle W. (2008): The effect of varying alkaloid concentrations on the feeding behavior of gypsy moth larvae, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). *Arthropod-Plant Interactions*, 2, 101–107.
- Wagner, G. J., Wang, E., Shepherd, R. W. (2004): New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*, 93, 3-11.
- Wait, D. A., Jones, C. G., Coleman. J. S. (1998): Effects of nitrogen fertilization on leaf chemistry and beetle feeding are mediated by leaf development, *Oikos*, 82, 502-514.
- Waldbauer, G. P. (1968): The consumption and utilization of food by insects, *Advances in Insect Physiology*, 5, 229-288.
- Wall, R., Appel, H., Cipollini, M., Schultz, J. (2005): Fertility, root reserves and the cost of inducible defenses in the perennial plant *Solanum carolinense*. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 2263–2288.
- Wink, M. (1988): Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied genetics*, 75, 225-233.
- Wink, M., (2003): Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective, *Phytochemistry*, 64, 3–19.
- Wittstock, U. and Gershenzon, J. (2002): Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 5 (4), 300-307.
- Wu, K., Zhang, J., Zhang, G., Ding, J. (2014): *Epiblema tetragonana* and *Epinotia ustulana* (Lepidoptera: Tortricidae), two potential biological control agents for the invasive plant, *Rubus ellipticus*. *Biological Control*, 77, 51-58.
- Yazdani, E., Sendi, J. J., Hajizadeh, J. (2014): Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker

- (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54 (1), 53-61.
- You, C., Zhang, W., Guo, S., Wang, C., Yang, K., Liang, J., Wang, Y., Geng, Z., Du, S., Deng, Z. (2015): Chemical composition of essential oils extracted from six *Murraya* species and their repellent activity against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*, 76, 681-687.
- Zabel, A., Manojlović, B., Rajković, S., Stanković, S., Kostić, M. (2002): Effect of neem extract on *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) and *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera : Chrysomelidae), *Journal of Pest Science*, 75, 19-25.
- Zagrobelny, M., Bak, S., Rasmussen, A. V., Jorgensen, B., Naumann, C. M., Moller, B. L. (2004): Cyanogenic glucosides and plant-insect interactions. *Phytochemistry*, 65, 293–306.
- Zangerl, A. R. and Bazzaz, F. A. (1992): Theory and pattern in plant defense allocation. In *Plant resistance to herbivores and pathogens* (ed. R.S. Fritz and E.L. Simms). University of Chicago Press, Chicago, 363–91.
- Zangerl, A. R., Berenbaum, M. R. (1993): Plant chemistry, insect adaptations to plant chemistry, and host plant utilisation patterns, *Ecology*, 74, 47-54.
- Zeng-hui, H. U., Ling, H., Di, Y., Ying-bai, S., Fan-yi, S. (2006): Influences of the *Populus deltoids* seedlings treated with exogenous methyl jasmonate on the growth and development of *Lymantria dispar* larvae. *Journal of Forestry Research*, 17 (4), 277-280.
- Zibae, A. and Bandani, A. R. (2010a): Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on digestive enzymes profiles and cellular immune reactions of sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae), against *Beauvaria bassiana*. *Bulletin of Entomologica Research* 100, 185-196.
- Zucker, W.V. (1982): How aphids choose leaves: the role of phenolics in host selection by a galling aphid. *Ecology*, 63, 972–81.

## Biografija

Igor Kostić je rođen 06.07.1982. godine u Splitu, republika Hrvatska. Osnovnu školu, kao i srednju Medicinsku školu je završio u Beogradu. Poljoprivredni fakultet, Univerziteta u Beogradu, Odsek za zaštitu bilja i prehrambenih proizvoda, završio je 2011. godine odbranom diplomskog rada pod naslovom: „Antifidni i larvicidni efekat etarskih ulja *Athamanta haynaldii* Borb. et Uecht. i *Myristica fragrans* Houtt. na *Lymantria dispar* L.”.

Doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu univerziteta u Beogradu, Studijski program: Poljoprivredne nauke, Modul: Fitomedicina, upisao je školske 2011/2012. godine. U periodu od 01.04.2011. do 30.08.2012 bio je angažovan kao spoljni saradnik Instituta za šumarstvo, na poslovima naučno-istraživačkog rada u oblasti entomologije. Od 1.11.2012. zaposlen je u Institutu za multidisciplinarna istraživanja, Univerziteta u Beogradu, u zvanju istraživač-saradnik.

Od 2011. godine angažovana je na Projektu III 43010 „Modifikacije antioksidativnog metabolizma biljaka sa ciljem povećanja tolerancije na abiotski stres i identifikacija novih biomarkera sa primenom u remedijaciji i monitoringu degradiranih staništa” koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Do sada je objavio i saopštio ukupno 11 naučnih radova.

Služi se engleskim i ruskim jezikom.

## Izjave

### Izjava o autorstvu

Potpisani-a Igor Kostić

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije 11/4

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

Dejstvo etarskih ulja anisa, morača i mirođije i njihovih dominantnih komponenti na larve gubara (*Lymantria dispar* L.)

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena doktorska disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

### Potpis doktoranda

U Beogradu, \_\_\_\_\_



**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske  
verzije doktorske disertacije**

Ime i prezime autora Igor Kostić

Broj indeksa ili prijave doktorske disertacije 11/4

Studijski program Poljoprivredne nauke

Naslov rada Dejstvo etarskih ulja anisa, morača i mirođije i njihovih dominantnih  
komponenti na larve gubara (*Lymantria dispar* L.)

Mentor prof. dr Olivera Petrović-Obradović, redovni profesor

Potpisani/a Igor Kostić

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, \_\_\_\_\_

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Dejstvo etarskih ulja anisa, morača i mirođije i njihovih dominantnih komponenti na larve gubara (*Lymantria dispar* L.)

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
- ③ Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

### Potpis doktoranda

U Beogradu, \_\_\_\_\_