

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

Branislav R. Pešić

ISPITIVANJE UTICAJA RAZLIČITIH
FORMULACIJA LARVICIDA NA BAZI
DIFLUBENZURONA I PIRIPROKSIFENA U
SUZBIJANJU LARVI KOMARACA *CULEX*
PIPIENS L.

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Branislav R. Pešić

THE LARVICIDAL EFFECT OF DIFFERENT
FORMULATIONS OF DIFLUBENZURON
AND PYRIPROXYFEN IN LARVAL
CONTROL OF *CULEX PIPIENS* L.
MOSQUITOES

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

MENTOR:

Dr Milutin Đorđević, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Zoran Kulišić, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Dr Saša Trailović, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Dr Ljiljana Janković, vanredni profesor

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Dr Štefan Pintarič, docent

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Ljubljani

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Na pomoći pri izradi ovog rada, posebno se zahvaljujem mentoru prof. dr Milutinu Dorđeviću, na ukazanom poverenju, pruženom znanju i stručnim savetima, bez čijeg truda i zalaganja ovaj rad ne bi mogao biti realizovan.

Zahvaljujem članovima Komisije na pomoći pri istraživanjima i izradi doktorske disertacije. Značajnim komentarima, sugestijama i savetima učinili su da ova doktorska disertacija bude bolja.

Posebno hvala prof dr. Novici Stajkoviću i Dr Vitomiru Đokiću na pomoći, korisnim savetima i sugestijama tokom izrade dela ove disertacije.

Takođe, zahvaljujem se Prim. dr Dragani Despot i kolegama iz Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju na nesebičnoj pomoći prilikom izvođenja eksperimentalnog rada, kao i na korisnim savetima i sugestijama u toku izrade disertacije.

Najveće HVALA mojoj supruzi, deci, roditeljima i prijateljima, koji su bili uz mene sve vreme, kao moja najveća podrška!

Branislav

ISPITIVANJE UTICAJA RAZLIČITIH FORMULACIJA LARVICIDA NA BAZI DIFLUBENZURONA I PIRIPROKSIFENA U SUZBIJANJU LARVI KOMARACA *CULEX PIPIENS L.*

Rezime

U ovoj doktorskoj disertaciji ispitivana je efikasnost diflubenzurona i piriproksifena u formulacijama plivajućih granula, peleta, tableta i tonućih granula, peleta i tableta u dozi od 100 g diflubenzurona po hektaru i 50 g piriproksifena po hektaru. Ispitivanje formulacija je vršeno u malim i velikim terenskim ispitivanjima, a potvrda efikasnosti aktivnih supstanci je izvršena u laboratorijskim ispitivanjima. Praćeni su efekti inhibicije izletanja 1., 7., 14., 21., 28. i 35. dana nakon tretmana kako bi se utvrdila najbolja formulacija i aktivna supstanca koja će najduže pokazivati najvišu efikasnost.

Najslabije efekte nakon 35 dana u ispitivanjima na kanalskim površinama pokazala je tonuća granula sa diflubenzuronom gde je smrtnost larvi iznosila 34,41% i tonuća tableta sa piriproksifenom 31,88%. Najbolju efikasnost dale su plivajuće formulacije i to plivajuće pelete gde je procenat uginulih larvi iznosio 58,20% 35. dana nakon tretmana.

Imajući u vidu da se radi o novim formulacijama koje su napravljene od neškodljivih materija za životnu sredinu, one će u narednom periodu obezbediti veću efikasnost u suzbijanju larvi komaraca na terenu. Smanjenjem brojnosti larvi komaraca, doći će i do boljeg kvaliteta života ljudi, a i manjeg ugrožavanja njihovog zdravlja imajući u vidu bolesti koje se prenose komarcima, kako kod ljudi tako i kod životinja.

Ključne reči: diflubenzuron, piriproksifen, kontrola, komarci, larve komaraca

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Zoohigijena

UDK broj: 619: 661.168.2(043.3)
614.4:619(043.3)

THE LARVICIDAL EFFECT OF DIFFERENT FORMULATIONS OF DIFLUBENZURON AND PYRIPROXYFEN IN LARVAL CONTROL OF CULEX PIPIENS L. MOSQUITOES

Summary

In this doctoral dissertation the efficiency of diflubenzuron and pyriproxyfen was tested in the formulations of floating granules, pellets, tablets and sinking granules, pellets and tablets at a dose of 100 g of diflubenzuron per hectare and 50 g of pyriproxyfen per hectare. Formulations were tested in small and large field tests, and the effectiveness of active substances was confirmed in laboratory tests. The emergence inhibition effects were monitored on the 1st, 7th, 14th, 21st, 28th and 35th days after treatment in order to determine the best formulation and active substance that will show the highest efficiency for the longest time.

The weakest effects after 35 days in tests in field were shown by the sinking granule with diflubenzuron where the mortality of larvae was 34.41% and the sinking tablet with pyriproxyfen 31.88%. The best efficiency was provided by the floating formulations, namely the floating pellets, where the percentage of dead larvae was 58.20% on the 35th day after treatment.

Bearing in mind that these are new formulations that are made from substances harmless to the environment, they will ensure greater efficiency in controlling mosquito larvae in the field in the coming period. By reducing the number of mosquito larvae, there will be a better quality of life for people, and less risk to their health, taking into account diseases transmitted by mosquitoes, both in humans and in animals.

Key words: diflubenzuron, pyriproxyfen, control, mosquitoes, mosquito larvae

Major Field of Study: Veterinary Medicine

Special Field of Study: Animal hygiene

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	5
2.1. Staništa larvi komaraca	5
2.2. Biologija komaraca <i>Culex pipiens</i>	6
2.2.1. Jaja	7
2.2.2. Larva	7
2.2.3. Lutka	7
2.2.4. Adult – imago	8
2.3. Insekticidi	8
2.3.1. Menadžment izvorišta larvi	10
2.3.1.1. Menadžment životne sredine od strane lokalne zajednice	11
2.3.1.2. Menadžment životne sredine u širem smislu	11
2.3.1.3. Larvicidni tretmani svih potencijalnih staništa za larve komaraca	11
2.3.1.4. Strategija neuvođenja LSM	12
2.3.1.5. Generalna strategija suzbijanja komaraca	12
2.3.2. Larvicidi	13
2.3.2.1. Diflubenzuron	14
2.3.2.1.1. Mehanizam dejstva diflubenzurona	15
2.3.2.1.2. Efikasnost različitih formulacija diflubenzurona	16
2.3.2.2. Piriproksifen	17
2.3.2.2.1. Mehanizam dejstva piriproksifena	18
2.3.2.2.2. Efikasnost različitih formulacija piriproksifena	18
2.4. Formulacije larvicidnih preparata	19
2.4.1. Formulacije za suzbijanje larvi komaraca	21
3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA	25
4. MATERIJAL I METODE	26
4.1. Mapiranje vodenih površina pogodnih za razvoj larvi komaraca na teritoriji Beograda	26
4.2. Detekcija prisustva larvi komaraca <i>Culex pipiens</i> u staništima, transport i gajenje u laboratoriji	26
4.3. Odabir lokaliteta na kojima će se vršiti ispitivanje	27
4.4. Priprema larvicida sa aktivnim supstancama diflubenzuron i piriproksifen	28
4.4.1. Priprema peleta	28
4.4.2. Priprema tableta	28
4.4.3. Priprema plivajućih granula	29
4.4.4. Priprema tonućih granula	29
4.5. Hemijska provera pripremljenih formulacija	30
4.6. Laboratorijsko ispitivanje	30
4.6.1. Priprema vode	30
4.6.2. Laboratorijsko ispitivanje	31
4.7. Mala terenska ispitivanja	31
4.7.1. Doziranje formulacija	32
4.7.2. Praćenje rezultata	33
4.8. Velika terenska ispitivanja	33
4.8.1. Opisi lokaliteta	33
4.8.2. Aplikacija formulacija i doziranje	37
4.8.3. Praćenje brojnosti larvi komaraca	38
4.9. Statistička obrada rezultata	38
5. REZULTATI	41
5.1. Analiza laboratorijskih ispitivanja efikasnosti diflubenzurona i piriproksifena	41
5.2. Analiza efekata različitih formulacija diflubenzurona na larve komaraca – mala terenska ispitivanja	42
5.3. Analiza efekata različitih formulacija piriproksifena na larve komaraca – mala terenska ispitivanja	50

5.4. Analiza varijanse i prikaz p – vrednosti za mala terenska ispitivanja.....	58
5.5. Analiza efekata različitih formulacija diflubenzurona na larve komaraca – velika terenska ispitivanja.....	60
5.6. Analiza efekata različitih formulacija piriproksifena na larve komaraca – velika terenska ispitivanja.....	68
5.7. Analiza varijanse i prikaz p – vrednosti za velika terenska ispitivanja.....	76
5.8. GIS prikaz kanalske mreže na teritoriji Grada Beograda	79
6. DISKUSIJA	80
7. ZAKLJUČCI.....	89
8. LITERATURA.....	91

1. UVOD

Komarci su mali povremeni paraziti koji se hrane krvlju domaćina i predstavljaju molestante za sve sisare. Tako naziv *Anopheles species complex* (glavni prenosioci malarije) vodi poreklo od grčkih reči *an*-ne i *opheléo*-upotrebljiv, koristan. Takođe latinski naziv za komarca - *culex*, *culicis* je dao naziv jednom rodu i celoj familiji Culicidae.

Komarci pripadaju familiji Culicidae, podred Nematocera, red Diptera, klasa Insecta (Hexapoda) i tip Arthropoda. Podred Nematocera, je brojna i široko rasprostranjena grupa insekata, prisutna u umerenim i tropskim regionima sveta, kao i duboko unutar Arktičkog kruga. Podred Nematocera uključuje mnoge leteće insekte od ekonomskog značaja za čoveka, bilo kao štetočine ili kao vektore različitih oboljenja. Većina Nematocera su mali, vitki i dugonogi insekti koji liče na mušice ili komarce i mogu se prepoznati po mnogobrojnim dugim segmentiranim antenama.

U okviru familije Culicidae opisane su dve podfamilije Anophelinae i Culicinae. Podfamilija Anophelinae ima 3 plemena i to: *Anopheles*, *Bironella* i *Chagasia* sa ukupno 482 vrste. Podfamilija Culicinae ima 11 plemena i to: *Aedeomyiini*, *Aedini*, *Culicini*, *Culisetini*, *Ficalbiini*, *Hodgesiini*, *Mansoniini*, *Orthopodomyiini*, *Sabethini*, *Toxorhynchitini* i *Uranotaeniini* sa ukupno 3.119 vrsta (Wilkerson, 2015).

Tek je u poslednjim dekadama 19. veka otkriveno da komarci mogu da prenose patogene što je otvorilo novu dimenziju u odnosima između komaraca i čoveka. Do 1871. godine ni u jednom medicinskom udžbeniku nije bila identifikovana nijedna bolest koja se može prenositi insektima (Smith, 1904). Tokom narednih 30 godina identifikovana je uloga komaraca u prenosu različitih oboljenja Patrick Manson (filarijaza), Carlos Finlay (žuta groznica), Roland Ross (malarija), Giovanni Grassi (malarija), the Reed Commission (žuta groznica) i Harris Graham (denga groznica) (Pampiglione i sar. 2015, Patterson, 2016). Pored pobrojanih oboljenja čije uzročnike prenose komarci na našim prostorima značajna je i Groznica Zapadnog Nila koju uzrokuje RNK virus iz familije Flaviviridae, a čiji je glavni vektor upravo komarac *Culex pipiens* (Hayes i sar. 2005, Dickinson i sar. 2012).

I pre spoznaje da insekti mogu da prenose uzročnike bolesti čovek je vodio bitku sa njima iz razloga što su svojim ubodima i zujanjem narušavali mir i značajno ometali obavljanje normalnih aktivnosti u prirodi. Orlob (1973) je napravio istorijski pregled kontrole štetočina i po njemu prvi dokumentovani zapisi o hemijskoj kontroli insekata vode poreklo od 2500 godine pre nove ere gde je zabeleženo da su ljudi koristili sumpor za kontrolu insekata. Sledeći pisani dokument koji se odnosi na kontrolu insekata datira 950 godine p.n.e. kada su ljudi počeli da pale travu kako bi odbili štetočine. Oko 500 godina p.n.e. u Kini su koristili jedinjenja žive i arsena kako bi rešili problem vaški kod ljudi. Postoje zapisi da su ljudi na teritoriji današnje Kine i Egipta 200 godina p.n.e. koristili ulja i biljke za kontrolu štetočina, ali ne postoje zapisi da li su bili efikasni. Prva zabeležena upotreba biološke kontrole insekata se beleži u Kini oko 300 godine nove ere gde se u voćnjacima citrusa za suzbijanje gusenica korise kolonije mrava *predator* (*Oecophylla smaragdina*). Između 1100 i 1200 godine Ibn al Avam je napisao prvu knjigu o poljoprivredi (arb. *Kitāb al-Filāḥa*) koja je sadržala delove koji su se odnosili na kontrolu insekata. Početkom 1800 - ih pojavljuju se prve knjige i radovi posvećeni isključivo kontroli štetočina. Tokom devedesetih godina XIX veka uvodi se olovo arsenat za kontrolu insekata, jer je 1896. godine otkriveno da artropode mogu biti vektori bolesti čoveka. Tokom 1915. godine suzbijanje komaraca je omogućilo završetak izgradnje Panamskog kanala. Prvi tretman insekata iz aviona je sproveden 1921. godine. 1939. godine su uočena insekticidna svojstva DDT-a.

Nakon malarije, žute groznice i druge bolesti koje se prenose komarcima su definitivno povezane sa svojim vektorima iz familije *Culicidae* i sve mere kontrole njihovih populacija su fokusirane na staništa i modele njihovog ponašanja (Simmons i Upholt, 1951; Russell, 1955; Bradley, 1966). Mrežice protiv komaraca su postavljane kako bi se sprečio ulazak komaraca u domove, a izolacijom obolelih je sprečavana lokalna transmisija uzročnika bolesti, takođe značajan napredak u borbi protiv malarije je postignut upotrebom baldahina na krevetima u cilju zaštite od uboda tokom noći. Uklanjanje vodenih recipijenata i redovno košenje trave su bile metode modifikacija staništa u cilju smanjenja populacije komaraca (Schleissmann, 1964; Schleissmann and Calheiros, 1974; Güereña-Burgueño, 2002; Stapleton, 2004).

Najveći uspeh u suzbijanju odraslih formi komaraca širom sveta je postignut pronalaskom hemijskih supstanci za njihovo suzbijanje. Na prvom mestu ovde je DDT (dihlor-difenil-trihloretnan) kao jedan od najznačajnijih adulticida koji je zauvek promenio način suzbijanja komaraca (Killeen i sar., 2002, Walker i sar., 2007). Iako je ovaj hlorovani ugljovodonik prvobitno sintetisan 1800 - tih godina, njegova insekticidna svojstva su otkrivena tek u ranim tridesetim godinama XIX veka (Berry-Cabán, 2011; Prato et al., 2013). Prvobitno je korišćen kao potentni pedikulocid početkom četrdesetih godina XIX veka, a nedugo zatim i za kontrolu komaraca (Stapleton, 2004).

Prema dostupnim podacima (Adamović i sar., 1980, Srđić i sar., 1986), na području Republike Srbije do sada je registrovano 40 vrsta komaraca, ali je taj broj verovatno veći, jer njime nisu obuhvaćene i invazivne vrste komaraca koje se detektuju poslednjih godina na teritoriji Republike Srbije (Petrić i sar., 2001; Vujić i sar., 2010;). Imajući u vidu globalne klimatske promene, broj novointrodotovanih vrsta komaraca na teritoriji republike Srbije je verovatno i veći (Petrić i sar. 2012). Veliki reproduktivni potencijal, raznolikost u odabiru staništa za polaganje jaja, velike vodene površine koje srećemo na teritoriji Srbije zajedno sa relativno neuređenom komunalnom infrastrukturom stvaraju idealne uslove za rast i razmnožavanje ovih insekata. Pored ovoga ne postoji sistemski pristup rešavanju problema komaraca na teritoriji republike Srbije, jer su poslovi njihovog suzbijanja dodeljeni lokalnim samoupravama, pri čemu se često javlja da se sa akcijama suzbijanja kasni zbog kasno raspisanih postupaka javnih nabavki, a nije retka pojava i da se ni ne sprovode zbog manjka novca u siromašnijim opštinama.

Vrsta *Culex pipiens* L. je na teritoriji Republike Srbije najzastupljenija i prisutna je od juna do septembra u jako visokom broju. Imajući u vidu da mogu naseliti praktično bilo koje stanište gde se voda zadržava, često se sreću upravo u samim naseljima čoveka gde pronalaze idealne uslove za razvoj i razmnožavanje u septičkim jamama, poplavljenim podrumima, podstanicama, baštenskim jezerima, saksijama za cveće, kao i u kanalima, slivnicima, šahtama itd. Bliska kohabitacija ovog komarca sa čovekom pored njegovog molestantnog dejstva na čoveka, dovodi u rizik i njegovo zdravlje, kao i zdravlje životinja koje žive u blizini. Imajući u vidu

da se radi o ornitofilnoj vrsti komaraca, koja se primarno hrani krvlju ptica, usled prenamnoženja i bliske kohabitacije mogu prenositi bolesti sa ptica na čoveka. Jedan od ovih primera je i groznica zapadnog Nila koja je prvi put detektovana 2012. godine, a nakon toga se javlja svake godine sa manjim ili većim brojem zaraženih ljudi.

U prošlosti se borba sa ovim insektima sprovodila uglavnom adulticidnim preparatima, dok se malo pažnje posvećivalo tretmanu larvi (Stajković i sar. 1991). Pa se tako prema Patterson-u (2016) borba sa komarcima u Americi gledano kroz istoriju može podeliti u 3 različite faze i to: era mehaničke kontrole (1900. - 1942. godine), era hemijske kontrole (1942. - 1972. godine) i era integrisanog menadžmenta kontrole komaraca (1972. - danas). Unapređenje poznavanja biologije komaraca i njihovih staništa, kao i načina ishrane, dovelo je do toga da se pažnja u suzbijanju komaraca sa adulticidnih tretmana preusmerava na larvicidne tretmane i modifikaciju njihovih staništa u smislu isušivanja močvarnih predela i uređenju kanala i komunalne infrastrukture, kako bi im se onemogućilo razmnožavanje. Daljim napretkom nauke napravljeni su larvicidni preparati koji nisu u velikoj meri štetni za životnu sredinu (preparati na bazi *Bacillus thuringiensis israelensis*), ali se postavlja pitanje njihovog efekta u zagađenim vodama, kao i dužine trajanja njihovog rezidualnog dejstva u uslovima spoljašnje sredine (Tomlin, 2006). Iz ovog razloga primena hemijskih sredstava u suzbijanju larvi komaraca ne može biti isključena, ali je potrebno što boljim formulacijama omogućiti što bliži i što duži kontakt larvi komaraca sa aktivnom supstancom (Busvine 1967, Paul i sar., 2005, Marcombe i sar. 2011).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Staništa larvi komaraca

Medicinski značaj komaraca kao vektora ozbiljnih oboljenja poput malarije, limfatične filarioze i virusnih bolesti kako ljudi tako i životinja koji se ogleda u morbiditetu, mortalitetu i socio - ekonomskim problemima je opšte poznat (Becker i sar., 2003). Komarci ne predstavljaju samo problem sa aspekta neprijatnosti za ljude i životinje, već u velikoj meri predstavljaju i zdravstveni problem za potencijalno veliki broj ljudi i životinja.

Culex pipiens komarac živi u bliskoj kohabitaciji sa čovekom, jer u njegovoj blizini nalazi idelne uslove za svoj rast i razmnožavanje. Ovaj komarac prezimljava u formi oplođene ženke koja se obično ne hrani pre ulaska u dijavauzu. Primećeno je da ukoliko ženka uzme krvni obrok pre ulaska u zimsku dijavauzu njene šanse za preživljavanje zime su znatno smanjene (Mitchell i Briegel, 1989). Kada dođe proleće, ženke izlaze iz svojih zimskih skloništa u potrazi za krvnim obrokom kako bi položile prvu generaciju jaja. Za 1-2 dana iz jaja izlaze larve prvog razvojnog stadijuma (L_1) i u zavisnosti od temperature vodene sredine za kompletan razvoj do adulta im je potrebno oko 2 nedelje (Becker i sar., 2003).

Larve mogu nastaniti gotovo sva staništa u kojima ima vode i ona se mogu podeliti u nekoliko kategorija koje obuhvataju:

1. Kanalizacione sisteme: Visoko zagađena staništa za larve komaraca koja obiluju organskom materijom mogu biti u vidu kišne kanalizacije, fekalne kanalizacije i mešovite kišnofekalne kanalizacije. U ovaj tip staništa spadaju i septičke jame, fekalni kanali, osočni recipijenti, zapušeni kanali sa prelivnim cevima iz septičkih jama i slično.

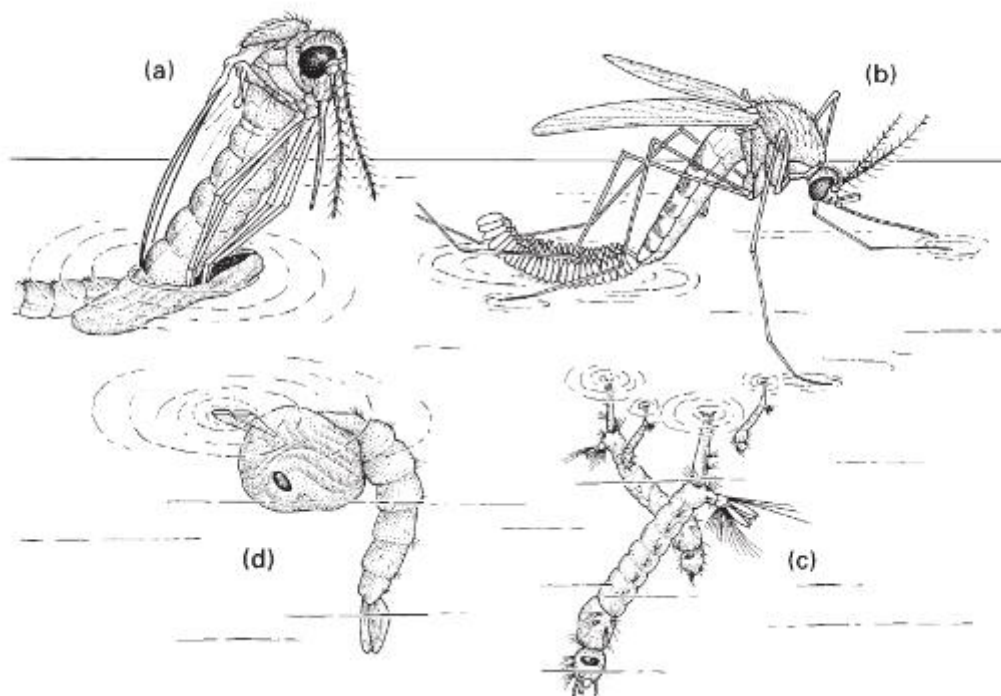
2. Kontejneri: U ovaj tip staništa spadaju uglavnom staništa koja je stvorio čovek u kojima se nakuplja i zadržava voda. To su na primer nepravilno skladištene automobilske gume, burad, kante, bačve, kanisteri, saksije, posebno saksije na grobljima, rezervoari za kišnicu, zapušeni oluci i drugo.

3. Drenažni sistemi: Ovi habitati obuhvataju slivnike kišne kanalizacije, drenažne kanale, jarke pored puta, podzemne sisteme za odvodnjavanje i slično.

4. Otvoreni vodeni sistemi: Ova staništa su uglavnom stajaće ili slabo protočne vode, a u kojima se nalazi dovoljno organske materije da omogući rast i razvoj larvi *Culex pipiens* komaraca poput jezera, močvara, utrina, razliva, kubika, mrtvaja i slično.

2.2. Biologija komaraca *Culex pipiens*

Životni ciklus svih komaraca, pa i vrste *Culex pipiens* započinje polaganjem jaja od strane odrasle ženke. Iz položenih jaja izlaze larve koje se tri puta presvlače kao posledica njihovog rasta. Kada se larva 4. razvojnog stadijuma (L₄) presvuče nastaje lutka koja je izrazito pokretna i ne hrani se. Iz lutke se razvija odrasli komarac, koji nakon završenog razvoja izlazi pucanjem kutikule lutke sa dorzalne strane. Odrasli komarac se hrani, pari, ženke polažu jaja čime se zatvara razvojni ciklus i započinje nova generacija.



Slika 1. Razvojni ciklus komarca: (a) izlazak odraslog komarca iz lutke, (b) polaganje jaja, (c) larveni stadijum, (d) stadijum lutke (Izvor: <https://cursa.ihmc.us>)

2.2.1. Jaja

Ženke jaja polažu na površinu vode. Voda se kao što je ranije rečeno može nalaziti bilo gde, bitno je samo da je mirna ili slabo protočna i da obiluje organskom materijom. Ženke za polaganje jaja biraju mesta koja su osenčena i zaštićena od vetra, najčešće u vodenom rastinju koje izlazi na površinu vode, kao što su trska i rogoz. Ženke *Culex pipiens* komaraca jaja najčešće polažu tokom noći lepeći ih jedno za drugo čime se formira splav ili čunić koji pluta po površini vode, a koji je zbog voštanog omotača izrazito hidrofoban i ne može da se skvasi i/ili potone. Čunić je oko 1 cm dužine i oko 5 mm širine i u njemu se najčešće nalazi 150-250 jaja. Prvi razvojni stadijum larve (L₁) izlazi kroz otvor sa ventralne strane jaja najčešće 24-48h od polaganja.

2.2.2. Larva

Larva komarca *Culex pipiens* je građena iz tri segmenta: glaveni segment (caput), grudni segment (torax) i abdominalni segment (abdomen).

Glaveni segment je širi nego duži i antene su kraće od glave. Na glavi se nalaze dva oka, dve antene i veliki broj seta (dlačica) i njihov broj, dužina i grananje služe za determinaciju. Oči su male i proste.

Torakalni segment je eliptičnog oblika i širi je od glave. Brojne sete na toraksu su organizovane u 3 reda što je u vezi sa tri dela toraksa *prothorax*, *mesothorax* i *metathorax*. Sa glavenim delom je povezan pomoću vrata (*cervix*), a na njega se nastavlja abdominalni deo.

Abdomen je izdužen, cilindričan i sastoji se iz 10 segmenata. Segmenti od 1 – 7 su dosta uniformni u veličini i obliku. Osmi segment je manji i na njemu se nalazi respiratorni sifon. Deveti segment nije uočljiv kod larvi komaraca, dok se na 10. odnosno analnom segmentu nalaze analne papile, sedlo i ventralna četkica. Analne papile imaju primarnu ulogu u osmoregulaciji.

2.2.3. Lutka

Za razliku od lutki drugih insekata, lutke komaraca su izuzetno pokretne i brzo se kreću ukoliko su uznemirene. Lutka se sastoji od velikog cefalotoraksa (glaveni i

grudni deo) i abdomena. Na cefalotoraksu se dorzolateralno nalazi par dodataka na kojima se nalaze mezotorakalne spirakule preko kojih lutka diše. Abdomen se sastoji od 9 segmenata, pri čemu je poslednji deveti redukovani i na kraju se nalazi par lopatica koje omogućavaju lutki da pliva karakterističnom putanjom savijajući abdomen.

2.2.4. Adult – imago

Ženke odraslog *Culex pipiens* komarca su žućkasto braon boje i srednje su veličine. Antene i palpe su tamne. Skutum je pokriven zlatno braon ljuspicama koje lateralno postaju svetlije. Skutelum je uzan pokriven svetlo žutim ljuspicama i tamnim dlakama. Postspirakularne i prealarne dlačice nedostaju ili retko može da se vidi nekoliko. Kuk (coxa) ima malo tamnih ljuspica, femur ima žućkastu apikalnu granicu, dok je ostatak taman kao i tibia i tarsus.

2.3. Insekticidi

Insekticidi predstavljaju pesticide koji se koriste za suzbijanje populacije insekata. Na osnovu razvojnog stadijuma na koji deluju insekticidi se mogu podeliti na ovicide (deluju na jaja), larvicide (deluju na larve), pupicide (deluju na lutke) i adulticide (deluju na odrasle).

Insekticidi se mogu podeliti i na osnovu načina delovanja, pa tako postoje kontaktni insekticidi koji deluju preko spoljašnjeg omotača insekta (kutikule), digestivni insekticidi (unose se hranom) i respiratorni insekticidi koji se unose preko disajnih organa.

Na osnovu načina delovanja insekticidi se prema IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) mogu podeliti u 31 glavnu grupu (IRAC Mode of Action Classification Scheme, 2020).

1. Acetilholin esteraza inhibitori – karbamati i organofosfati.
2. Blokatori GABA vezanih hlornih kanala – organohlorati i fenilpirazolini.

3. Modulatori natrijumovih kanala – piretroidi, piretrini, DDT, metoksihlor.
4. Kompetitivni modulatori nikotinacetilholinskih receptora – neonikotionoidi, nikotin, sulfoksimini, butenoidi i molsodimin.
5. Alosterni modulatori nikotinacetilholinskih receptora – spinosini.
6. Alosterni modulatori glutamat vezanih hlornih kanala – avermektini i milbemicin.
7. Imitatori juvenilnog hormona – Analози juvenilnog hormona, fenoksikarb i piriproksifen.
8. Ostali nespecifični inhibitori – alkil halogenidi, hloropikrin, fluoridi, borati, tartar emetik, generatori metil izotiocijanata.
9. Kordotonalni organ TRPV kanal modulatori – derivati piridin azometina, piropeni.
10. Inhibitori rasta grinja koji deluju na CHS1 – klofentezin, diflovidazin, heksitiazoks, etoksazol.
11. Mikrobnі razarači membrane srednjeg creva - *Bacillus thuringiensis* i svi insekticidni proteini koje proizvode i *Bacillus sphaericus*.
12. Inhibitori mitohondrijalne ATP sintetaze – diafentiuron, organotin miticidi, propargit, tetradifon.
13. Blokatori oksidativne fosforilacije preko remećenja protonskog gradijenta – piroli, dinitrofenoli, sulforamid.
14. Blokatori kanala nikotinacetilholinskih receptora – analози nereistoksina.
15. Inhibitori biosinteze hitina preko CHS1 – benzoilurea.
16. Inhibitor biosinteze hitina tip 1 – buprofezin.
17. Remećenje presvlačenja – ciromazin.
18. Agonist ekdizonskog receptora – diacilhidrazini.
19. Agonista oktopaminskih receptora – amitraz.
20. Inhibitori elektronskog transporta mitohondrijalnog kompleksa III – hidrometilnon, acehinocil, fluakripitim, bifenazat.

21. Inhibitori elektronskog transporta mitohondrijalnog kompleksa I – METI akaricidi i insekticidi, rotenon.
22. Blokatori voltažno zavisnih natrijumovih kanala – oksadiazini, semikarbazoni.
23. Inhibitori acetil CoA karboksilaze – derivati tetronske i tetramske kiseline.
24. Inhibitori elektronskog transporta mitohondrijalnog kompleksa IV – fosfidi, cijanidi.
25. Inhibitori elektronskog transporta mitohondrijalnog kompleksa II – derivati beta ketonitrila, karboksanilidi.
26. Modulatori receptora rianodina – diamidi.
27. Modulatori hondrotonalnog organa sa nedefinisanim mestom delovanja – flonicamid.
28. Alosterni modulatori GABA vezanih hlornih kanala – meta-diamid izoksazolini.
29. Bakulovirusi – granulovirusi i nukleopolihedrovirusi.
30. Alosterni modulatori nikotin acetilholin receptora (mesto 2) – GS omega/kapa HXTX-Hv1a peptid.
31. Jedinjenja nepoznatog ili nejasnog načina delovanja – azadiraktin, benzoksimat, bromopropilat, hinometionat, dikofol, sumporni kreč, menkozeb, piridalil i sumpor.

2.3.1. Menadžment izvorišta larvi

Postoje različiti pristupi u borbi sa larvama komaraca koji su svi objedinjeni u tzv. menadžment izvorišta larvi komaraca (*Larval Source Management* - LSM) (Tusting i sar., 2013). Najčešće se menadžment izvorišta larvi komaraca sastoji od više različitih strategija pristupa rešavanju problema i te strategije su:

1. Menadžment životne sredine od strane lokalne zajednice;
2. Menadžment životne sredine u širem smislu;
3. Larvicidni tretmani svih potencijalnih staništa za larve komaraca;
4. Strategija neuvođenja LSM;

5. Generalna strategija suzbijanja komaraca.

2.3.1.1. Menadžment životne sredine od strane lokalne zajednice

Ovo predstavlja glavnu kariku uspešnog sprovođenja LSM. Odnosi se na manipulaciju i modifikaciju izvorišta larvi komaraca od strane lokalne zajednice. Vrlo često se dešava da su velika staništa komaraca vezana upravo za individualne stambene zajednice ili se nalaze u njihovoj neposrednoj blizini. Takva staništa predstavljaju drenažno melioracioni kanali koji prolaze kroz naselja, septičke jame, burad i kante sa vodom, jezerca, napuštena gradilišta i druge stajaće vodene površine koje se zadržavaju duže od nedelju dana. Rešavanje ovakvog problema sastoji se pre svega u edukaciji građana na različite načine počev od edukacije dece u predškolskom i školskom uzrastu, do edukacije odraslih kroz deljenje brošura ili preko sredstava javnog informisanja o načinu razmnožavanja komaraca i njihovim staništima i kako građani sami mogu da smanje njihovu brojnost.

2.3.1.2. Menadžment životne sredine u širem smislu

Često se dešava da lokalne zajednice ne mogu da reše problem sa komarcima samostalno, naročito ukoliko su staništa velika i kada su potrebni veliki infrastrukturni projekti kako bi se smanjila staništa komaraca. Pod ovim se podrazumeva uređivanje priobalja reka tj. kubika, forlanda i razliva u neposrednoj blizini naselja, zatim uvođenje kišne i fekalne kanalizacije kako bi se eliminisale septičke jame i drenažni kanali uz puteve. Sve ovo su veliki infrastrukturni projekti koji iziskuju ogromna finansijska sredstva, koja lokalne zajednice često ne mogu same da reše.

2.3.1.3. Larvicidni tretmani svih potencijalnih staništa za larve komaraca

Kako nikada nije moguće u potpunosti eliminisati sva staništa komaraca, neophodno je kontinuirano sprovoditi mere suzbijanja larvi komaraca u svim vodenim sredinama. Ovo je veoma mukotrpan posao i praktično je nemoguće sprovesti ga u potpunosti, ali je bitno mapirati sva velika potencijalna izvorista

komaraca i pristupiti sistematskom suzbijanju larvi komaraca u njima. Nakon mapiranja svih potencijalnih staništa izrađuje se strategija koja obuhvata dinamiku monitoringa, a na osnovu monitoringa i dinamiku suzbijanja larvi komaraca. Kada se ovo završi radi se odabir larvicidnog preparata i odgovarajućih formulacija preparata iz razloga što je neophodno formulaciju preparata prilagoditi staništu kako si se ostvarili najbolji mogući efekti primenjenog preparata.

2.3.1.4. Strategija neuvođenja LSM

Strategija neuvođenja LSM je često opravdana kada su kao izvorišta larvi komaraca definisana velika plavna područja pored reka ili velika nepristupačna močvarna područja i kada nije moguće na kvalitetan način odraditi larvicidne tretmane. Ovakva odluka se mora revidirati svake godine i mora se uticati na institucije da ukoliko je moguće reše problem na odgovarajući način uz uvažavanje ekoloških principa i očuvanje živog sveta na tom području.

2.3.1.5. Generalna strategija suzbijanja komaraca

Strategiju suzbijanja komaraca na nekom području ne treba praviti targetiranjem samo jedne vrste komaraca i njenih staništa, potrebno je sagledati širu sliku, utvrditi sve prisutne vrste komaraca na tom području, njihova staništa i na taj način pristupiti pravljenju najbolje strategije kako bi se broj komaraca spustio na prihvatljivu meru, odnosno na biološki minimum. Na ovaj način se i terenskim radnicima olakšava posao, jer ne moraju da obraćaju pažnju na detaljnu determinaciju rodova. Takođe se suzbijanjem svih vrsta komaraca u svim staništima onemogućava prenošenje uzročnika bolesti poput Groznice Zapadnog Nila, limfatične filarioze, malarije itd., čiji su vektori komarci. Time se pored toga što se poboljšava kvalitet života deluje i preventivno na zdravlje građana.

2.3.2. Larvicidi

Imajući u vidu da su programi isušivanja staništa larvi komaraca, kao i programi njihovog uređivanja izuzetno skupi i komplikovani za spovođenje, najefikasniji načini za suzbijanje larvi komaraca su larvicidni tretmani (Rozendaal, 1997, (Killeen i sar., 2002a). Svetska zdravstvena organizacija je dala preporuku koji bi larvicidni preparati trebali da se koriste za suzbijanje larvi komaraca (WHO, 2013).

Tabela 1. WHOPES preporuka jedinjenja i formulacija za suzbijanje larvi komaraca

Insekticid i formulacija ^a	Grupa larvicida ^b	Doza (aktivne supstance)	
		Generalno (g/ha)	Staništa kontejnerskog tipa (mg/l)
<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> , strain AM65-52, WG (3000 ITU/mg)	BL	125-750 ^c	1-5 ^c
<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> , strain AM65-52, GR (200 ITU/mg)	BL	5.000-20.000 ^c	-
Chlorpyrifos EC	OP	11-25	-
Diflubenzuron DT, GR, WP	BU	25-100	0,02-0,25
Novaluron EC	BU	10-100	0,01-0,05
Pyriproxyfen GR	JH	10-50	0,01
Fenthion EC	OP	22-112	-
Pirimiphos-methyl EC	OP	50-500	1,0
Temephos EC, GR	OP	56-112	1,0
Spinosad DT, EC, GR, SC	SP	20-500	0,1-0,5

^a DT- tablete za direktnu aplikaciju, GR- granule, EC- emulzioni koncentrat, WG- vodo rastvorljive granule, WP- vodo rastvorljivi prah, SC- suspenziji koncentrat, AC- vodeni koncentrat

^b BL- bakterijski larvicid, BU- benzoilurea, JH- imitator juvenilnog hormona, OP- organofosfat, SP- spinozidi

^c formulisani preparat

Treba napomenuti da su ovo preporuke Svetske zdravstvene organizacije i da su u nekim zemljama pojedine preporučene aktivne supstance zabranjene za upotrebu, kao što je slučaj sa organofosfatima u zemljama Evropske unije.

Ulja predstavljaju naftne derivate i ranije su se koristili kao neselektivni larvicidi koji su se u velikim količinama aplicirali na vodene površine gde su kao specifično lakši od vode bili na površini i onemogućavali larvama da dišu. Najčešće

su se koristili tečni parafin ili dizel u dozama od 150-200 l/ha, ali uz dodatak aditiva (surfaktanta) omogućeni su efekti i pri dozama od 20-50 l/ha.

Veliki broj insekticida se nalazi u upotrebi. Na teritoriji Beograda je od uvođenja programa suzbijanja komaraca sedamdesetih godina prošlog veka bio u upotrebi temefos u formulaciji granula. Od 2012. godine uveden je diflubenzuron, a od 2017. piriproksifen. Nisu nikada detaljno rađene studije ispitivanja rezistencije, ali se na osnovu iskustava sa terena moglo zaključiti da uvođenjem nove aktivne supstance na neko područje dolazi do znatne redukcije brojnosti larvi, a time i posledično manjeg broja odraslih stadijuma komaraca. Imajući u vidu regulative Evropske unije, a koje se primenjuju i u Republici Srbiji isključena je upotreba organofosfata. Kako kompletna komunalna infrastruktura nije uređena i većina izvorišta komaraca predstavlja ujedno i fekalne recipijente sa velikom količinom organske materije u njima upotreba bioloških larvicida je bez ikakvog rezidualnog efekta dužeg od 2 dana. Ovim su na raspolaganju ostali samo regulatori rasta i spinosadi.

U narednom delu biće iznete bitne karakteristike dve ispitivane aktivne supstance diflubenzuron i piriproksifen.

2.3.2.1. Diflubenzuron

IUPAC naziv: N-[(4-chlorophenyl)carbamoyl]-2,6-difluorobenzamide

Molekularna formula: $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$

CAS broj: 35367-38-5

European Community (EC) broj: 252-529-3

Fizičko hemijska svojstva:

- Molekularna težina: 310,68 g/mol
- Boja i forma: bezbojni kristal
- Tačka topljenja: 239 °C
- Rastvorljivost: voda 0,08 mg/L na 25 °C
n-hexane 0,063 g/l na 20 °C
dihlor metan 1,8 g/l na 20 °C

etil acetat 4,26 g/l na 20 °C

- Gustina: 1,57 na 20 °C

Diflubenzuron je prvi put registrovan u Sjedinjenim Američkim Državama 1976. godine.

Diflubenzuron predstavlja derivat benzoiluree koja je prvi derivat sa selektivnim delovanjem na insekte, jer predstavlja tzv. IGR (Insect Growth Regulator - Regulatori rasta insekata) jedinjenje. Pre pojave ovih jedinjenja osamdesetih godina prošlog veka, insekticidi su se bazirali na organohlorinim i organofosforinim jedinjenjima koja nisu imala selektivno dejstvo. Kasnije otkrivani derivati benzoiluree su specifično delovali na taloženje hitina posebno u kutikuli insekata. Benzoilurea sa diflubenzuronom, kao prvim komercijalno dostupnim predstavnikom ove grupe je otkrivena od strane Philips-Duphar B.V. ranih sedamdesetih godina prošlog veka.

2.3.2.1.1. Mehanizam dejstva diflubenzurona

Kutikula insekata pored toga što predstavlja barijeru između insekta i spoljašnje sredine ujedno predstavlja i njegov egzoskelet za koji su pričvršćeni ostali elementi lokomotornog sistema poput mišića. Kutikula insekata ima lamelarnu strukturu i nastaje kao produkt lučenja epidermalnih ćelija. Razlikujemo epikutikulu koja je veoma tanka (12 µm) i nije hitinske prirode, zatim egzo, mezo i endokutikulu. Kutikula insekata je kompozitna i sastoji se od fibroznog hitina, vode, proteina, katehola, lipida i povremeno metala i minerala koju sekretuju epidermalne ćelije (Vincent i Wegst, 2004). Imajući u vidu da je kutikula rigidna tj. ne raste sa rastom insekta, mora dolaziti do tzv. presvlačenja koje larvenim oblicima omogućava rast. Prilikom presvlačenja dolazi do razlaganja endokutikule supstancijama koje sekretuju epidermalne ćelije, koje je kasnije i resorbuju i koriste za izgradnju nove endokutikule (Douris i sar., 2016). Egzokutikula se ne razgrađuje i ne resorbuje i ona se kao takva odbacuje pri svakom presvlačenju.

Posmatranjem kutikule larvi komaraca tretiranih diflubenzuronom pod svetlosnim mikroskopom (nakon fiksacije, pripreme isečaka i bojenja) uočavaju se

poremećaji u lamelarnoj strukturi kutikule (Mulder i Gijswijt, 1973). Još uvek nije u potpunosti razjašnjen mehanizam dejstva benzoiluree, pa i diflubenzurona na proces presvlačenja. Prvo se smatralo da benzoilurea deluje na enzim hitin sintetazu, međutim on se pokazao kao neaktivan na hitin sintetazu poreklom iz gljivica (Brillinger, 1979). Najprihvaćenija hipoteza koja objašnjava delovanje benzoiluree na hitin sintetazu je u stvari delovanje na membranski transport prekursora hitina (Mitsui i sar., 1985; Matsumura F., 2010).

Diflubenzuron se često klasifikuje sa analozima i imitatorima juvenilnih hormona u grupu regulatora rasta insekata (*Insect Growth Regulators* - IGR), iako on to nije. Osnovna razlika je u tome što analozi juvenilnih hormona (*Juvenile Hormone Analogs* - JHA) i imitatori juvenilnih hormona (*Juvenile Hormone Mimics* - JHM) deluju u kratkom vremenskom rasponu prilikom preobražaja lutke u imago, dok diflubenzuron deluje na sve larvene stadijume u periodu presvlačenja. Takođe, diflubenzuron ne deluje na rast insekata, već ometa taloženje hitina u kutikuli insekata koje se upravo dešava u svim larvenim stadijumima insekata. Imajući u vidu izneto bolje je svrstavanje diflubenzurona kao inhibitora razvoja insekta (*Insect Development Inhibitors* - IDI) ili kao inhibitora hitin sintetaze (*Chitin Synthesis Inhibitors* - CSI). Sve ove klasifikacije se navode u literaturi (Msangi i sar., 2011; Porretta i sar., 2019; Fotakis i sar., 2020; Seccacini i sar., 2008).

2.3.2.1.2. Efikasnost različitih formulacija diflubenzurona

Prema istraživanju koje je sprovedeno u Indiji na *Culex quinquefasciatus* (Sadanandane i sar., 2012) sa tri različite formulacije diflubenzurona može se videti da formulacije u vidu vodorastvorljivog praha i granula daju sličnu efikasnost u pogledu inhibicije izletanja adulta, veću od 80% nakon 7 - 10 dana u septičkim jamama, 4 - 7 dana u drenažnim kanalima i 7 - 21 dan u napuštenim bunarima pri dozi od 25 - 100 g a.s./ha. Formulacija tableta samo u dozama višim od 100 g a.s./ha i/ili 1 tableta/m² za 7 - 15 dana u svim ispitivanim habitatima. Takođe isti istraživači su utvrdili da više doze (50 - 100 g a.s./ha) nisu povećale dužinu rezidualnog dejstva i odnosu na niže doze (25 g a.s./ha) čime se ističe značaj pravilnog odabira formulacije u odnosu na habitat.

Diflubenzuron je pokazao odlične efekte i u ekstremno zagađenim vodama kakve su septičke jame. U ispitivanju dve formulacije i to 25% vodorastvorljivog praha i 4% granula, postignuti su odlični kako inicijalni tako i rezidualni efekti od 100% inhibicije izletanja adulta 14 dana za formulaciju u vidu praha u dozi od 0,01 mg a.s./l, dok su granule pokazale rezidualni efekat i 21 dan nakon tretmana u istoj dozi i sa istim efektima (Cetin i sar., 2006).

Različite formulacije diflubenzurona su takođe testirane i u kišnim slivnicima pri čemu su korišćeni komercijalni preparati 2% granula i 2% tableta. Doziranje je bilo 2 g po kišnom slivniku za formulaciju u vidu granula i 1 tableta za formulaciju u vidu tablete. Rezultati su nakon 4 nedelje pokazali efikasnost od 92,77% za granule i nešto slabiju za tablete od 89,69% (Bellini i sar., 2009).

U terenskim uslovima je ispitivana efikasnost dve formulacije granula diflubenzurona od kojih je jedna bila plivajuća na bazi mlevene kočanjke i druga tonuća na bazi zeolita, a obe promera do 2 mm. Maksimalna redukcija larvi koja je postignuta sa plivajućom formulacijom je iznosila 97,4%, dok je sa tonućom formulacijom postignuta redukcija brojnosti larvi od 99,5%, sa tom razlikom da je plivajuća formulacija dala duži rezidualni efekat. Nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti obe formulacije kod nižih larvenih stadijuma (L_1 , L_2), ali je ona postojala kod starijih (L_3 , L_4) gde se plivajuća formulacija pokazala kao efikasnija (Đorđević i sar., 2015).

2.3.2.2. Piriproksifen

IUPAC naziv: 2-[1-Methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine

Molekularna formula: $C_{20}H_{19}NO_3$

CAS broj: 95737-68-1

European Community (EC) broj: 429-800-1

Firičko hemijska svojstva:

- Molekularna težina: 321.4 g/mol
- Boja i forma: bezbojni kristal
- Tačka topljenja: 46.0 °C

- Rastvorljivost: voda 0,681 mg/L na 25 °C
 n-hexane 400 g/kg na 20-25 °C
 metanol 200 g/kg na 20-25 °C
 ksilen 500 g/kg na 20-25 °C
- Gustina: 1,24 na 20 °C

Tokom osamdesetih godina prošlog veka japanski hemičari su otpočeli potragu za novim juvenoidima. Najbolji kandidat koji je predstavljen od strane Sumitomo korporacije je bio piriproksifen (Hatakoshi i sar., 1986). Piriproksifen je derivat fenoksikarba gde je deo alifatičnog lanca zamenjen sa piridiloksietilenom. Dobijeno jedinjenje (piriproksifen) se pokazao kao veoma potentan imitator juvenilnog hormona utičući na hormonalni balans insekata i rezultujući sa jakom supresijom embriogeneze, metamorfoze i formiranjem adulta (Hatakoshi i sar., 1991).

2.3.2.2.1. Mehanizam dejstva piriproksifena

Piriproksifen spada u grupu regulatora rasta insekata (IGR) i ima jedinstven način delovanja delujući prevashodno na morfogenezu, reprodukciju i embriogenezu insekata. Efekti se pojavljuju primarno tokom transformacije L₄ larvi u lutke pri čemu dolazi do uginuća lutki, nemogućnosti izlaska adulta ili smrti adulta (Moh Seng i sar., 2006, Invest i Lucas, 2008).

2.3.2.2.2 Efikasnost različitih formulacija piriproksifena

U studiji sprovedenoj na vrsti *Aedes aegypti* korišćeno je više različitih formulacija piriproksifena i to tehnički koncentrat, 10% emulzioni koncentrat, peščane granule 0,1% i rađeno je upoređivanje sa istim formulacijama diflubenzurona. Rađeni su laboratorijski bioesej i terenska ispitivanja. U laboratorijskim uslovima formulacija u vidu 10% emulzionog koncentrata je bila pet puta efikasnija od tehničkog koncentrata u istom razblaženju. Takođe, peščane granule (0.1%) su postigle inhibiciju izletanja od 100% za 150 dana i 80% za 180 dana.

Kod diflubenzurona je efikasnost pala ispod 30% između 145. i 165. dana. U terenskom ispitivanju prve nedelje nakon tretmana nije zabeležena značajna redukcija brojnosti larvi, mesec dana nakon tretmana efikasnost je bila slična, dok se nakon tri meseca beleži ponovna pojava larvi komaraca (Seccacini i sar., 2008).

Na komarcima *Aedes aegypti* je rađeno i ispitivanje formulacije piriproksifena na bazi silikatnih mrvica (čipsa). Na svakoj mrvici se nalazilo 8,4 µg (0,01%) piriproksifena, a ubacivane su u posude sa larvama zapremine 250, 500, 750 i 1000 ml. Rezultati pokazuju da su najbolji efekti postignuti u najmanjim zapreminama što je i logično imajući u vidu koncentraciju aktivne supstance. Takođe je utvrđeno da je u 1000 ml zapremine detektovana koncentracija od 10 ppb piriproksifena, dok bi da je sva naneta količina otpuštena ta koncentracija trebala da iznosi 30-40 ppb. Imajući u vidu da je doza od 1 ppb piriproksifena dovoljna da postigne visoku efikasnost, ovakve formulacije se mogu koristiti i za veće vodene basene i tamo postići odgovarajuće rezultate (Stevens i sar., 2019).

U studiji na komarcima iz roda *Culex* sa granulama 0,5% piriproksifena postignuto je preko 95% redukcije prve 4 nedelje sa koncentracijom od 0,05 mg/l. U narednim nedeljama 72,6% i 32,2% redukcije je postignuto, ali je bilo velike količine padavina i to je verovatno razlog za slabiji rezultat. Nakon 8 nedelje redukcija se vratila na 94,5% čime je potvrđeno lagano otpuštanje aktivne supstance iz granula (Lee, 2002).

2.4. Formulacije larvicidnih preparata

Hemijski insekticidi se sintetišu u laboratorijama proizvođača i nose naziv tehnički koncentrat. Tehnički koncentрати imaju često visoku čistoću (često veću od 95%). Glavni sastojak tehničkog koncentrata je u stvari aktivna supstanca (a.s.) tj. jedinjenje koje ispoljava toksični efekat na organizam. Tehnički koncentrat se retko nalazi u slobodnoj prodaji, jer on kao takav nije pogodan za upotrebu, već se mora određenim tehnološkim postupkom obezbediti adekvatna koncentracija i odgovarajući nosač ili razblaženje kako bi mogao da bude efikasan za suzbijanje štetnih organizama. Ovo znači da se tehnički koncentrat mora prevesti u efektivnu

formu tj. formulaciju kako bi njegova aplikacija bila jednostavna i efikasnost adekvatna. Te formulacije mogu biti sprej, granule, mamci, rastvori ili drugi tipovi formulacija.

Proces pravljenja formulacije insekticida uključuje različite metode kojima se samom krajnjem proizvodu poboljšava bezbednost za rukovanje, omogućava skladištenje, olakšava korišćenje sa specijalnim uređajima za aplikaciju, produžava efikasnost itd. Pravljenje insekticida se svodi uglavnom na mešanje aktivne supstance (tehničkog koncentrata) sa pomoćnim materijama. Većina pomoćnih materija je inertna i ima zadatak da služi kao nosač aktivne supstance sa malim ili bez ikakvog uticaja na ciljani organizam. Pored uloge nosača pomoćne materije mogu da imaju i druge uloge kao što je uloga adjuvansa. Adjuvans po definiciji predstavlja materiju koja pomaže i pojačava efekat. U adjuvanse kod insekticida spadaju sredstva za vlaženje, sredstva koja pospešuju raspršivanje, sredstva za lepljenje, sredstva koja sprečavaju stvaranje pene i slično (Foy i Pritchard, 1996).

Glavna uloga formulacija insekticida je:

- Minimalizacija opasnosti po ljude, životinje i neželjene organizme;
- Održavanje hemijske i fizičke stabilnosti proizvoda tokom skladištenja (stabilnost na temperaturu, oksidaciju, sunčevu svetlost itd);
- Aplikacija relativno male koncentracije aktivne supstance na ciljani organizam kako bi se postigao željeni biološki efekat i
- Lakša primena insekticida i lakše korišćenje sa dostupnom opremom.

Pri odabiru formulacije insekticida potrebno je obratiti pažnju na sledeće (Higley i sar., 1989):

- Zakonska regulativa, odnosno da li je proizvod u toj formulaciji dozvoljen za upotrebu.
- Tip staništa gde će se insekticid aplikovati, jer neke formulacije nisu pogodne za aplikaciju u urbanim sredinama, u vodenim sredinama i slično.
- Da li oštećuje biljke, životinje ili površine, jer neke formulacije mogu biti fitotoksične, da oštećuju površine i slično.
- Dostupnost i pogodnost za aplikaciju specijalizovanim uređajima.

- Opasnost od raznošenja prilikom aplikacije, jer neke formulacije mogu vrlo lako da pomoću vetra promaše ciljanu površinu.
- Bezbednost za ljude koji rade aplikaciju i neciljane organizme čime se opasnost od primene može značajno smanjiti pravilnom formulacijom proizvoda.
- Stanište i razvojni stadijumi target organizama – neke formulacije su bolje za primenu u određenim staništima i za određene razvojne stadijume.
- Cena, efikasnost i način aplikacije mogu značajno da utiču na ukupne troškove suzbijanja.

2.4.1. Formulacije za suzbijanje larvi komaraca

U sledećoj tabeli su predstavljene najčešće formulacije pesticida sa njihovim oznakama i glavnim karakteristikama (Capinera, 2008):

Tabela 2. Karakteristike formulacija larvicida

Formulacija (skraćenica)	Karakteristike
Aerosol (A)	Aktivna supstanca je rastvorena u uljanom rastvaraču ili nekoj drugoj tečnosti. Insekticid se aplikuje kroz dizne u zatvorenim ili ograničenim prostorima.
Mamak (B)	Aktivna supstanca je pomešana sa jestivom i atraktivnom materijom.
Prašak (D)	Aktivna supstanca je pomešana sa suvom inertnom materijom (npr. glina ili talk). Ovakav insekticid se može lako raspršivati.
Emulzioni koncentrat (EC)	Aktivna supstanca je rastvorena u rastvaraču na uljnoj bazi (npr. toluen) i pomešana sa emulgatorom koji omogućava da se formulacija lako meša sa vodom pri čemu se formira emulzija.
Tečna (F ili L)	Aktivna supstanca se vlažno melje sa glinom ili vodom čime se dobija masa slična gelu i može se mešati sa vodom kako bi se dobila tečna suspenzija.
Fumigant (F)	Isparljiv tečan ili čvrsti insekticid koji se ponaša kao otrovan gas koji se može koristiti u zatvorenom prostoru.
Granule (G)	Tečni insekticid koji je nanešen na grube porozne neorganske partikule poput gline ili samljevene organske materije kao što su ovsene mekinje, kočanjka i sl.
Mikroinkapsulirana formulacija	Aktivna supstanca (tečna ili čvrsta) je enkapsulirana u stabilne mikroskopske sfere ili kapsule kako bi zadržala i konstantno i lagano otpuštala aktivnu supstancu.
Vodorastvorljivi pršak (SP)	Aktivna supstanca je pomešana sa fino usitnjenom inertnom materijom (npr. glina). Ovako formulisan insekticid se može u potpunosti rastvoriti u vodi ili drugoj tečnosti i formirati pravi rastvor.
Kapi ultra male zapremine (ULV)	Insekticid se može aplikovati nerazblažen ili nakon razblazivanja u dozi od 0,6-4,7 l/ha u vidu kapi veličine ispod 50 µm
Kvašljivi pršak (WP)	Aktivna supstanca je pomešana sa odgovarajućim inertnim prahom (npr. talk) i upijajućom materijom koja obezbeđuje prahu mešanje sa vodom i formiranje suspenzije.

Za suzbijanje larvi komaraca se može koristiti čitav niz različitih formulacija, ali pri odabiru formulacije treba uzeti u obzir na prvom mestu bihevioralne karakteristike larvi komaraca, način ishrane, karakteristike staništa, aktivnu

supstancu koja se koristi i tek onda doneti odluku koja je formulacija najadekvatnija za datu situaciju (George i sar., 1987, Prasad i sar., 1997). Za suzbijanje larvi komaraca se najčešće koriste sledeće formulacije larvicida (WHO, 2013):

Emulzioni koncentrat – larvicid je rastvoren u rastvaraču, tečan je i može se koristiti nakon razblaživanja sa vodom. Aplikacija se vrši raspršivanjem iznad vodene površine korišćenjem odgovarajućih pumpi. Ovo je najčešće korišćena formulacija za organofosfate.

Suspension konzentrat – dobijena formulacija larvicida nerastvorljivog u vodi koja omogućava da proizvod bude tečan. Može se koristiti rastvoren ili nerastvoren u vodi u zavisnosti od uputstva proizvođača.

Vodorastvorljive granule – formulacija se sastoji od granula koje se koriste nakon rastvaranja u vodi. Na ovaj način se obezbeđuje duži rok trajanja i lakši transport i skladištenje proizvoda (u nekim slučajevima ova formulacija se može aplikovati i direktno na stanište larvi).

Rastvorljivi prah – suva formulacija larvicida sa dodatkom materija koje omogućavaju brzo rastvaranje u vodi i dobijanje suspenzije za aplikaciju.

Granule – čvrsta formulacija sa jasno definisanom veličinom čestica spremna odmah za upotrebu. Ovakva formulacija omogućava bolju aplikaciju kroz gustu vegetaciju za razliku od vodenih rastvora. Aplikacija se najčešće vrši ručno rasturanjem ili pomoću odgovarajućih aplikatora za formulacije u vidu granula. Specijalne forme granula mogu biti:

- Makrogranule – veličina čestica 2.000 - 6.000 mikrometara
- Fine granule – veličina čestica 300 - 2.500 mikrometara
- Mikrogranule – veličina čestica 100 – 600 mikrometara
- Inkapsulirane granule – granule sa zaštitnim omotačem koji

reguliše otpuštanje aktivne supstance.

Pelete – formulacija dobijena sabijanjem inertnog nosača sa aktivnom supstancom. Kao i kod granula i ovde je omogućeno lakše probijanje kroz vodenu vegetaciju. Uglavnom je kod peleta omogućeno kontrolisano otpuštanje aktivne supstance čime se obezbeđuje duži rezidualni efekat. U zavisnosti od nosača mogu da plutaju ili tonu.

Briketi – blokovi inertne materije impregnirani sa larvicidnom supstancom. U zavisnosti od nosača mogu da plutaju ili tonu. Razgradnjom nosača dolazi do kontrolisanog otpuštanja aktivne supstance čime se obezbeđuje duži rezidualni efekat.

3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja ove doktorske disertacije je bio utvrđivanje najefikasnije formulacije larvicida na bazi diflubenzurona i piriproksifena za suzbijanje larvi komaraca *Culex pipiens* u različitim terenskim uslovima.

Za ostvarivanje postavljenih ciljeva definisani su i zadaci istraživanja:

1. Utvrđivanje i mapiranje vodotokova na teritoriji Beograda koji mogu biti potencijalna staništa larvi komaraca.
2. Detekcija prisustva larvi komaraca vrste *Culex pipiens*.
3. Izrada posebnih tehnoloških procesa za proizvodnju formulacija na specijalizovanim postrojenjima za tu namenu u firmi Zavon DOO.
4. Proizvodnja tonućih i plivajućih formulacija u formi tableta, peleta i granula na bazi diflubenzurona i piriproksifena.
5. Hemijska provera pripremljenih formulacija u cilju određivanja količine aktivne materije HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) metodom.
6. Laboratorijsko ispitivanje aktivnih supstanci na larvama *Culex pipiens* donetih sa terena kako bi se utvrdila efikasnost aktivnih supstanci.
7. Odabir mesta gde će se vršiti terenska ispitivanja.
8. Ispitivanje efikasnosti primenjenih formulacija na bazi diflubenzurona i piriproksifena u malim terenskim istraživanjima koja simuliraju manje vodene površine pogodne za rast i razmnožavanje komaraca *Culex pipiens*.
9. Ispitivanje efikasnosti primenjenih formulacija na bazi diflubenzurona i piriproksifena u realnim velikim terenskim istraživanjima.
10. Statistička obrada dobijenih rezultata.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Mapiranje vodenih površina pogodnih za razvoj larvi komaraca na teritoriji Beograda

Mapiranje vodenih površina na teritoriji Beograda je rađeno sakupljanjem podataka od Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju iz „Izveštaja o sprovedenom monitoringu larvi komaraca na teritoriji Beograda“, uvidom u satelitske snimke sa Google Earth platforme, zatim obilascima terena i beleženjem koordinata pomoću Garmin E-Trex GPS uređaja. Mapiranje kanalskih i drugih vodenih površina je rađeno na svih 17 beogradskih opština (Čukarica, Novi Beograd, Palilula, Rakovica, Savski venac, Stari grad, Voždovac, Vračar, Zemun, Zvezdara, Barajevo, Grocka, Lazarevac, Mladenovac, Obrenovac, Sopot i Surčin). Svi ovi podaci o kanalima su zatim unošeni u SQL server i obrađeni pomoću GIS programa MapSoft® CadCorpSIS 8.0 čime je dobijen lejer odnosno slika sa preko 3.000 km kanalske mreže i drugih stalnih vodenih površina na teritoriji Beograda. Na ovaj način je omogućen uvid u sve vodene površine koje predstavljaju potencijalna staništa komaraca na teritoriji Beograda.

Na lejeru se nalaze samo stalne vodene površine, koje su se nalazile na terenu prilikom praćenja brojnosti larvi komaraca. Privremene vodene površine poput bara posle kiša, izlivanja vode iz cevi ili privremena vodena ogledala nastala usled podizanja nivoa podzemnih voda nisu prikazana na karti.

4.2. Detekcija prisustva larvi komaraca *Culex pipiens* u staništima, transport i gajenje u laboratoriji

Utvrdjivanje prisustva larvi komaraca *Culex pipiens* u staništima je vršeno pomoću standardne crpke zapremine 350 ml (pint dipper) zakačene na teleskopsku dršku dužine 2 m (WHO 2005, Mendoza i sar. 2008, Medlock i sar., 2018). Mesta za uzimanje uzoraka na kanalima su bila međusobno udaljena minimum 10 m jedno od drugog. Uzorkovanje larvi je rađeno u osenčenim delovima vodene površine, laganim pokretima, bez prethodnog talasanja površine vode. Zahvatana je puna

crpka sa vodom i larvama sa površine. Prilikom uzorkovanja pazilo se i na senku koju pravi crpka, jer ukoliko senka pređe preko larvi one se povlače sa površine u dubinu vode. Voda sa zahvaćenim larvama je sipana u belu plastičnu posudu sa ravnim dnom zapremine 4 l gde je vršeno utvrđivanje larvenog stadijuma i ukupna brojnost larvi, kao i brojnost po stadijumima. Određen broj larvi je pomoću ručne pipete prenošen u plastične posudice zapremine 50 ml sa perforiranim zatvaračem i transportovan u Entomološku laboratoriju Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju.

U laboratoriji su larve gajene u laboratorijskim uslovima pri čemu je temperatura vazduha bila 25 °C i relativna vlažnost vazduha oko 60%. Svetlosni režim je bio podešen na 12 sati svetlo – 12 sati mrak (Alto i sar., 2012, Xue i Qualls, 2013). Prilikom donošenja larvi sa terena iste su ubacivane u čiste (nekorišćene) posude zapremine 4 l sa dodata dva litra odstajale vode iz česme čija je temperatura bila oko 22°C. Dodavana im je hrana za akvarijumske ribice SERA Vipran Baby® na svaka 3 dana i po potrebi je dolivana voda koja ispari. Preko posuda je stavljan jedan sloj gaze kako bi se uhvatili odrasli komarci nakon izletanja.

Determinacija larvi komaraca L₄ razvojnog stadijuma i odraslih stadijuma komaraca je rađena na osnovu morfoloških karakteristika korišćenjem MosKeyTool (2017) ver. 1.2 programa za determinaciju (Günay i sar., 2020).

4.3. Odabir lokaliteta na kojima će se vršiti ispitivanje

Lokaliteti na kojima je vršeno terensko ispitivanje su praćeni od početka sezone u pogledu utvrđivanja brojnosti larvi i njihove zatupljenosti. Preduslov za uključivanje lokaliteta u eksperiment je bio da u prethodne tri godine nije presušivao i da na njemu nisu sprovedeni larvicidni tretmani. Podaci o ovome su dobijeni od Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju koji je radio monitoring i suzbijanje larvi komaraca na teritoriji Beograda po ugovoru sa Upravom Grada Beograda – Sekretarijat za zaštitu životne sredine. Odabrani su kanali koji se nalaze van naselja i u kojima je brojnost larvi komaraca bila veća od 50 larvi po zahvatu. Takođe odabrani su kanali koji su slabo protočni i čija je širina veća od 1 m. Na pojedinim

kanalima je ispitivano više formulacija sa tim da je razmak između dva tretirana dela kanala iznosio minimum 200 m.

4.4. Priprema larvicida sa aktivnim supstancama diflubenzuron i piriproksifen

Sve formulacije su pripremane u proizvodnom pogonu firme Zavon DOO. Formulacije u vidu peleta su pripremane na mašini za peletiranje sa dijametrom peleta 5x30 mm u koju su nakon pripreme ubacivane sve prethodno pripremljene komponente. Tablete su pravljene na mašini za tabletiranje sa maksimalnim pritiskom od 40 tona po cm². Izrada formulacija u vidu granula je rađena na specijalizovanom postrojenju za tu namenu.

4.4.1. Priprema peleta

Smeša za peletiranje je pripremana po posebnom tehnološkom postupku (Niessen, 1975; Streubel i sar., 2003; Roy i sar., 2014; OECD 2015) tako što je na 10 kg smese na nosač naneto 250 g aktivne supstance piriproksifen, a zatim su dodati vezivo i ostale komponente. Nakon mešanja dobijena smeša je ubacivana u mašinu za peletiranje koja je podešena da pravi pelete promera 5 mm i dužine oko 3 cm. Dobijene pelete su nakon peletiranja pakovane u jutani džak i skladištene do momenta aplikacije. Sadržaj aktivne supstance piriproksifen u finalnom proizvodu je iznosio 2,5%.

Priprema peleta na bazi aktivne supstance diflubenzuron je rađena po istom tehnološkom postupku sa razlikom što je na nosač nanošena aktivna supstanca diflubenzuron u količini od 500 g, a zatim su dodati vezivo i ostale komponente. Sadržaj aktivne supstance diflubenzuron u finalnom proizvodu je iznosio 5%. Prečnik pelete je iznosio 5 mm i dužina oko 2 cm.

4.4.2. Priprema tableta

Smeša za tabletiranje je pripremana po istom tehnološkom postupku kao i za peletiranje sa razlikom u količini dodate aktivne supstance na nosač. Za pripremu 10

kg smeše za tabletiranje na nosač je naneto 500 g aktivne supstance piriproksifen, odnosno 1 kg aktivne supstance diflubenzuron. Nakon mešanja smeša je ubacivana u mašinu za tabletiranje. Prečnik kalupa je 4 cm i ubacivano je po 10 kg smeše u kalup pri čemu su dobijene tablete mase 10 g sa sadržajem aktivne supstance od 5% za piriproksifen i 10% za diflubenzuron. Nakon tabletiranja tablete su pakovane u plastične posude sa zatvaračem.

4.4.3. Priprema plivajućih granula

Plivajuće granule su pravljene po posebnom tehnološkom postupku nanošenjem aktivne supstance piriproksifena na mrvljenu kočanjku dijametra do 2 mm. Nanošenje aktivne supstance je rađeno u specijalnoj mešalici izrađenoj posebno za tu namenu koja se nalazi u proizvodnom pogonu preduzeća Zavon DOO. Postupak nanošenja se ogleda u tome da se prvo rastvori potrebna količina aktivne supstance u rastvaraču po posebnom tehnološkom postupku. Rastvorena aktivna supstanca se zatim specijalnim mlaznicama pod pritiskom nanosi na kočanjku tokom mešanja. Zbog velikog kapaciteta mešalice rađene su serije od 100 kg gde je za dobijanje granula sa piriproksifenom nanošeno 500 g aktivne supstance rastvorene u rastvaraču. Nakon završenog umešavanja od oko 10 min gotov proizvod je pakovan u plastične džakove od 10 kg.

Za dobijanje plivajućih granula na bazi diflubenzurona korišćena je ista kočanjka i isti princip nanošenja sa tom razlikom što je na seriju od 100 kg kočanjke nanošeno 1 kg aktivne supstance diflubenzuron rastvorene u rastvaraču.

4.4.4. Priprema tonućih granula

Tonuće granule su pripremane u istom proizvodnom pogonu kao i plivajuće sa tom razlikom što je za pripremu tonućih granula korišćen zeolit. Sva ostala tehnologija proizvodnje je u potpunosti ista kao i za plivajuće granule.

4.5. Hemijska provera pripremljenih formulacija

Utvrđivanje koncentracije aktivne supstance diflubenzuron i piriproksifen u svih šest pripremljenih formulacija je rađeno standardnom CIPAC metodom na HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) uređaju Agilent 1200 series u hemijskoj laboratoriji Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju. Diflubenzuron je određivan standardnom metodom (Dorbat i Martin, 1998), a takođe i piriproksifen standardnom metodom (Dorbat i Martin, 2000).

4.6. Laboratorijsko ispitivanje

Laboratorijsko ispitivanje je rađeno u entomološkoj laboratoriji Zavoda za biocide i medicinsku ekologiju korišćenjem plastičnih posuda od 4 l na larvama sakupljenim sa terena u dozi od 100 g aktivne supstance po ha površine za diflubenzuron i 50 g aktivne supstance po ha površine za piriproksifen.

Laboratorijsko ispitivanje je rađeno sa tehničkim koncentratom koji je aplikovan u dozi od 100 g a.s./ha za diflubenzuron i 50 g a.s./ha za piriproksifen. Po 25 larvi L₃ i L₄ razvojnog stadijuma je ubacivano u plastične posude zapremine 4 l koje su punjene sa 2 l „tretirane“ vode.

4.6.1. Priprema vode

U bure zapremine 200 l je sipano 200 l vode iz vodovoda, nakon 3 dana je u bure ubačeno 0,04 g tehničkog koncentrata diflubenzurona, rastvorenog u 1 ml rastvarača. Iz ovog bureta je uzimana voda za punjenje plastičnih posuda u koje je ubacivano po 25 larvi L₃ i L₄. Ogled je postavljen sa „tretiranom“ vodom starom 1, 7, 14, 28 i 35 dana.

Na isti način je pripremljena voda za ogled sa piriproksifenom s'tim da je u 200 l vode ubačeno 0,02 g tehničkog koncentrata piriproksifena rastvorenog u 1 ml rastvarača. Ogled je postavljan sa „tretiranom“ vodom starom 1, 7, 14, 28 i 35 dana.

Voda za kontrolne grupe je pripremana na taj način što je u jedno bure zapremine 50 l sipano 0,25 ml rastvarača bez dodatka aktivne supstance diflubenzuron ili piriproksifen.

4.6.2. Laboratorijsko ispitivanje

Ogled je postavljen tako što je u 4 posude stavljeno po 25 larvi L₃ i L₄ razvojnog stadijuma. Larve su donošene sa terena iz netretiranog kanala i odabirane su najvitalnije larve za ogled.

Postavljene su i dve kontrolne grupe sa vodom koja nije tretirana, ali iste starosti kao i tretirana.

Beležene su uginule larve na osnovu čega je izračunat % inhibicije izletanja.

Ogled je postavljan sa „tretiranom“ vodom starom 1, 7, 14, 28 i 35 dana. Rezultati su beleženi u tabele.

4.7. Mala terenska ispitivanja

Mala terenska ispitivanja su rađena u bazenima zapremine 300 l sa pripremljenim formulacijama u dozi od 100 g aktivne supstance po ha površine za diflubenzuron i 50 g aktivne supstance po ha površine za piriproksifen. Ova ispitivanja su rađena na prostoru Fazanerije RIT (44°57'30.69"N 20°23'5.84"E). Bazeni na naduvavanje prečnika 0,9 m su postavljeni u blizini ribnjaka iz koga su punjeni vodom. Visina vodenog stuba je bila oko 50 cm što odgovara zapremini vode od oko 300 l. U bazene je jednokratno ubačen i po jedan naramak suve deteline kako bi se obezbedila hrana larvama. Bazeni su postavljeni krajem aprila i praćena je pojava larvi komaraca, a voda je dolivana na nedeljnom nivou iz istog ribnjaka po potrebi do visine vodenog stuba od 50 cm. Postavljeno je ukupno 14 bazena, od čega je 12 bilo tretiranih (6 formulacija sa diflubenzuronom i 6 formulacija sa piriproksifenom) i dva kontrolna koja su ujedno služila i za dopunjavanje larvi u druge bazene. Doziranje diflubenzurona je bilo u dozi od 100 g a.s./ha, a piriproksifena u dozi od 50 g a.s./ha. Bazeni nisu pokriveni tako da su ženke komaraca slobodno mogle da

polazu jaja u njih. Utvrđivanje brojnosti larvi u bazenima je rađeno pomoću standardnih crpki i svaki bazen je imao svoju crpku kako ne bi dolazilo do međusobne kontaminacije (WHO, 2005).

Prve larve su se pojavile sredinom maja i uglavnom se radilo o larvama anofeličnih komaraca. Pojava jaja u vidu čunića je primećena sredinom juna, a najveći broj larvi komaraca *Culex pipiens* je bio početkom jula kada je eksperiment i postavljen.

4.7.1. Doziranje formulacija

Tableta koja je sadržala 10% diflubenzurona je sečena i deo od 0,06 g je ubacivan u bazen. Masa od 0,06 g tablete odgovara dozi od 100 g a.s./ha. Isti princip je rađen i za plutajuće i za tonuće tablete.

Tableta koja je sadržala 5% piriproksifena je sečena i deo od 0,03 g je ubacivan u bazen. Masa od 0,03 g odgovara dozi od 50 g a.s./ha. Isti princip je rađen i za plutajuće i za tonuće tablete.

Pelete u kojima je koncentracija diflubenzurona iznosila 5% mase od 1,2 g su ubacivane u bazen. Masa od 1,2 g peleta odgovara dozi od 100 g a.s./ha. Na isti način su razmeravane i plutajuće i tonuće pelete.

Pelete u kojima je koncentracija priproksifena iznosila 2,5% mase od 0,6 g su ubacivane u bazen. Masa od 0,6 g peleta odgovara dozi od 50 g a.s./ha. Na isti način su razmeravane i plutajuće i tonuće pelete.

Granule koje su sadržale 1% diflubenzurona mase 6 g su ubacivane u bazen. Masa od 6 g granula odgovara dozi od 100 g a.s./ha. Na isti način su razmeravane i plutajuće i tonuće granule.

Granule koje su sadržale 0,5% piriproksifena mase 3 g su ubacivane u bazen. Masa od 3 g granula odgovara dozi od 50 g a.s./ha. Na isti način su razmeravane i plutajuće i tonuće granule.

4.7.2. Praćenje rezultata

Rezultati ispitivanja larvicidne efikasnosti peleta, tableta i granula sa diflubenzuronom i piriproksifenom praćeni su tako što su se uzimala po četiri zahvata vode sa crpkom sa larvama 1., 7., 14., 21., 28. i 35. dana i presipane su u plastične posude zapremine 4 litra i praćeni su efekti u vidu uginuća ili izletanja u zahvaćenom uzorku samo larvi L₃ i L₄ razvojnog stadijuma, dok su mlađe larve izbacivane. Efekti su se pratili do uginuća larvi ili izletanja odraslih komaraca.

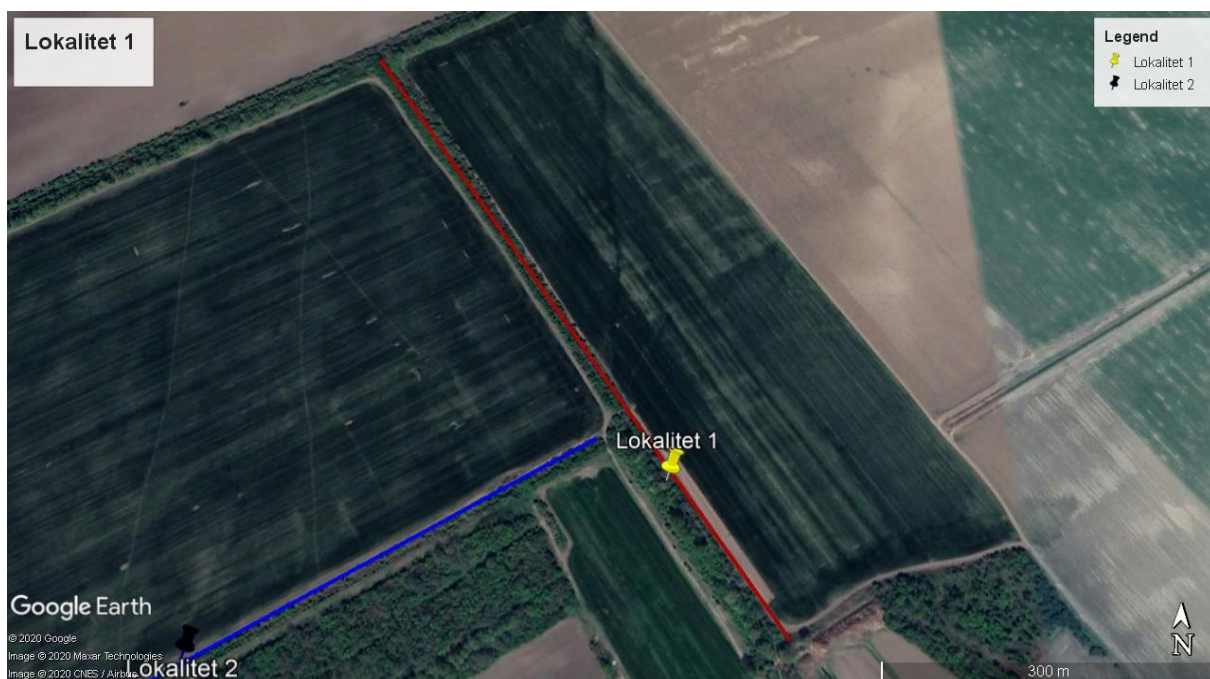
4.8. Velika terenska ispitivanja

Za ispitivanje pripremljenih formulacija su izabrani kanali koji u prethodne tri godine nisu tretirani nikakvim larvicidnim materijama i koju u istom periodu nisu presušivali, tj. stalno su imali vode. Na jednom kanalu je ispitivano više formulacija, sa tim da je razmak između ispitivanih formulacija na istom kanalu iznosio minimum 200 m i na taj način je onemogućen međusoban uticaj tretiranih površina.

4.8.1. Opisi lokaliteta

Lokalitet 1 – se nalazi u blizini fazanerije RIT na levoj obali Dunava, opština Palilula (Slika 2). U pitanju je slabo protočan kanal u dužini od 850 m i prosečne širine 3 m. Sa obe obale je obrastao barskim rastinjem. Na jednom kraju se uliva u ribnjak gde postoji brana koja je sve vreme ispitivanja bila zatvorena. Na drugom kraju kanal se uliva u poprečni kanal. GPS koordinate ovog lokaliteta su 44°57'45.96"N i 20°22'52.51"E. U blizini kanala se nalaze obradive površine PKB korporacije i nema stambenih i drugih objekata.

Na ovom lokalitetu je izvršen tretman sledećim formulacijama i u sledećem rasporedu: diflubenzuron plutajuće tablete 100 m, 200 m razmak, diflubenzuron tonuće tablete 100 m, 200 m razmak, diflubenzuron plutajuće pelete 100 m.



Slika 2. Lokalitet 1

Lokalitet 2 - se nalazi u blizini fazanerije RIT na levoj obali Dunava, opština Palilula (Slika 3). U pitanju je slabo protočan kanal u dužini od 730 m i prosečne širine 3 m. Sa obe obale je obrastao barskim rastinjem i visokim ševarom tako da je zaštićen od direktnog sunčevog zračenja. Na jednom kraju se slepo završava (napravljen je put preko njega, a cev je zapušena), a na drugom kraju je povezan sa drugim kanalom. Gotovo je neprotočan. GPS koordinate ovog lokaliteta su 44°57'34.73"N 20°22'37.04"E. U blizini kanala se nalaze obradive površine PKB korporacije i u blizini kanala nema stambenih i drugih objekata.

Na ovom lokalitetu je izvršen tretman sledećim formulacijama i u sledećem rasporedu: diflubenzuron tonuće pelete 100 m, 200 m razmak, diflubenzuron plivajuće granule 100 m, 200 m razmak, diflubenzuron tonuće granule 100 m.



Slika 3. Lokalitet 2

Lokalitet 3 - se nalazi na levoj obali Dunava, opština Palilula (Slika 4). U pitanju je slabo protočan kanal u dužini od 1100 m i prosečne širine 3 m. Sa obe strane je obrastao barskim rastinjem, ali bez visokog rastinja koje bi ga u potpunosti štitilo od sunčevog zračenja. Na jednom kraju se slepo završava, a na drugom kraju je povezan sa drugim kanalom. Slabe je protočnosti. GPS koordinate ovog lokaliteta su 44°57'21.71"N 20°21'57.00"E. U blizini kanala se nalaze obradive površine PKB korporacije i u blizini kanala nema stambenih i drugih objekata.

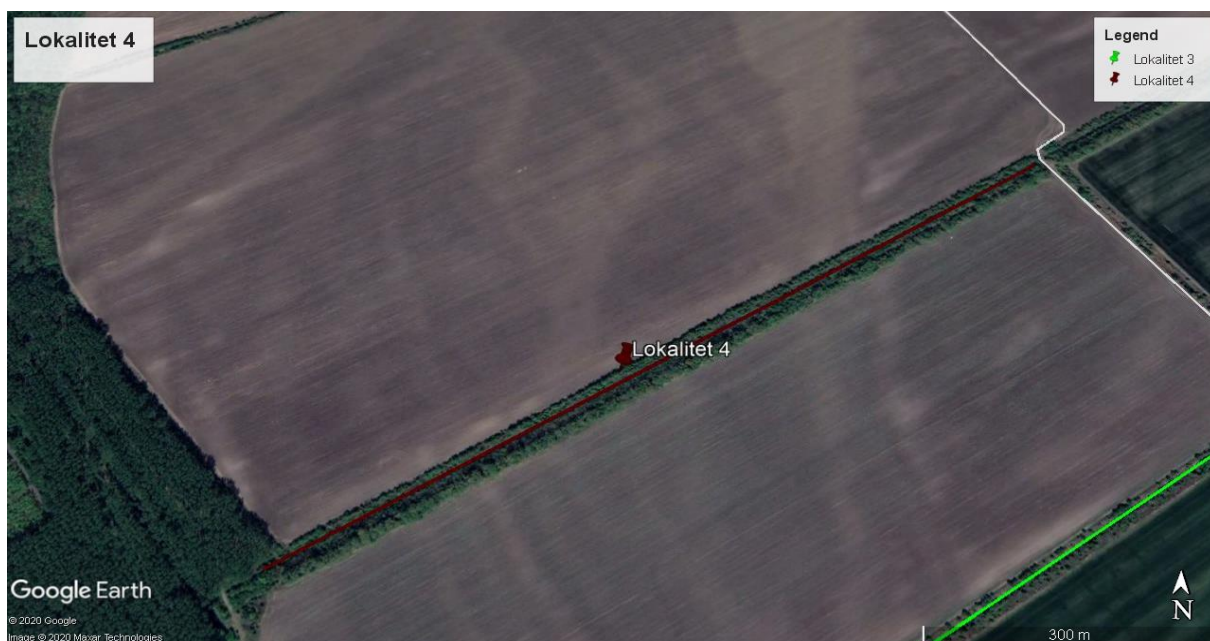
Na ovom lokalitetu je izvršen tretman sledećim formulacijama i u sledećem rasporedu: piriproksifen tonuće tablete 100 m, razmak 200 m, piriproksifen plutajuće tablete 100 m, razmak 200 m, piriproksifen tonuće pelete 100 m.



Slika 4. Lokalitet 3

Lokalitet 4 - se nalazi na levoj obali Dunava, opština Palilula (Slika 5). U pitanju je slabo protočan kanal u dužini od 1100 m i prosečne širine 3 m i paralelan je sa lokalitetom 3. Sa obe strane je obrastao barskim rastinjem. Slabe je protočnosti. GPS koordinate ovog lokaliteta su 44°57'33.26"N 20°21'45.63"E. U blizini kanala se nalaze obradive površine PKB korporacije i u blizini kanala nema stambenih i drugih objekata.

Na ovom lokalitetu je izvršen tretman sledećim formulacijama i u sledećem rasporedu: piriproksifen plivajuće pelete 100 m, 200 m razmak, piriproksifen plivajuće granule 100 m, 200 m razmak, piriproksifen tonuće granule 100 m.



Slika 5. Lokalitet 4

4.8.2. Aplikacija formulacija i doziranje

Doziranje formulacija je rađeno 100 g a.s./ha za formulacije na bazi diflubenzurona i 50 a.s./ha za formulacije na bazi piriproksifena. Imajući u vidu da je prosečna širina svih lokaliteta 3 m, a da je tretirana dužina od 100 m, tretirana površina za sve formulacije iznosi 300 m² tj. 0,03 ha. Preračunavanjem doza po jedinici površine za tretman su korišćene sledeće količine pripremljenih formulacija:

Formulacije na bazi diflubenzurona:

Tonuće tablete – 3 tablete (30 g)

Plivajuće tablete – 3 tablete (30 g)

Tonuće pelete – 60 g

Plivajuće pelete – 60 g

Tonuće granule – 300 g

Plivajuće granule – 300 g

Formulacije na bazi piriproksifena:

Tonuće tablete – 3 tablete (30 g)

Plivajuće tablete – 3 tablete (30 g)

Tonuće pelete – 60 g

Plivajuće pelete – 60 g

Tonuće granule – 300 g

Plivajuće granule – 300 g

Aplikacija pripremljenih formulacija je rađena ručno rasturanjem uz ravnomernu aplikaciju predviđene količine na celu dužinu ispitivane kanalske površine. Pre aplikacije su gde je bilo potrebno ručnim trimmerom napravljene proseke kako bi se pristupilo vodenoj površini. Takođe su obeležena mesta na svakih 10 m na kojima će se kasnije raditi provera brojnosti larvi.

4.8.3. Praćenje brojnosti larvi komaraca

Na svakom delu gde su ispitivane pripremljene formulacije je obeleženo 10 mesta za uzorkovanje i uvek je uzorkovanje vršeno sa istog mesta. Uzorkovanje je rađeno pomoću standardne crpke po metodologiji Svetske zdravstvene organizacije (WHO, 2005). Rezultati su praćeni uzimanjem po jednog zahvata vode crpkom sa larvama 1., 7., 14., 28. i 35. dana i presipane su u plastične posude zapremine 4 litra i praćeni su efekti u vidu uginuća ili izletanja u zahvaćenom uzorku. Efekti su se pratili do uginuća larvi ili izletanja odraslih komaraca.

4.9. Statistička obrada rezultata

Za statističku obradu podataka korišćen je **R** Core Team (2020 - **R** Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org>). Prilikom poređenja formulacija izračunat je procenat efikasnosti za svako ponavljanje u svim testiranim vodenim površinama. Za transformaciju je korišćen "Tidyverse" paket. Sva poređenja su se zasnivala na efikasnosti svake od

formulacija. U svim eksperimentima, laboratorijskim, malim i velikim terenskim ispitivanjima praćeni su isti parametri analize.

Prevashodno smo želeli da utvrdimo da li postoji razlika u efikasnosti formulacija u svakom eksperimentu. Za tu svrhu procenat efikasnosti za sve kontrolne dane je grupisan i izveden je nezavisni student T-test. Za upoređivanja u svakom kontrolnom danu laboratorijskih i malih i velikih terenskih ispitivanja ponovo je korišćen nezavisni student T-test.

Rađeno je poređenje efikasnosti svake od formulacija u odnosu na kontrolne dane. Kako bi se to uradilo korišćena je analiza varijanse (ANOVA) između svakog od kontrolnih dana. Da bi se utvrdilo koji kontrolni dan ima najveću razliku u srednjoj vrednosti izvršen je test opsega značajnosti Post hock korišćenjem Tukey HSD osnovne funkcije u R koja istovremeno izračunava i 95% interval pouzdanosti.

Da bi smo uporedili razlike između različitih formulacija upoređivani su svi kontrolni dani za svaki dan odvojeno. Korišćena je One-way ANOVA, a zatim test opsega značajnosti Post hock kako bi se identifikovale individualne razlike između formulacija.

Sve deskriptivne analize, minimalne, maksimalne i srednje vrednosti, zatim srednje vrednosti kvantila pri 5%, 25%, 75% i 95%, kao i standardne devijacije i intervali pouzdanosti izračunavani su agregatnom funkcijom (osnovne analize) u R.

Grafici su rađeni pomoću Ggplot paketa (Wickham, 2016) i Excel 2013.

Procenat inhibicije izletanja adulta (%IE) je izračunavan prema WHO vodiču (WHO, 2005) tako što su sva ponavljanja kombinovana. Ukupna i srednja vrednost procenta inhibicije izletanja je računata na osnovu brojnosti izloženih larvi L₃ i L₄ stadijuma. Ukupno izletanje adulta pokazuje aktivnost. Procenat inhibicije izletanja je izračunavan pomoću formule:

$$IE(\%) = 100 - \left(\frac{T \times 100}{C} \right)$$

gde je T- procenat preživelih ili izletelih jedinki iz tretirane grupe, a C- procenat preživelih ili izletelih jedinki iz kontrolne grupe.

Ukoliko bi procenat izletelih u kontrolnoj grupi bio manji od 80%, test bi bio ponovljen, a ukoliko bi iznosio između 80% i 95% test je korigovan pomoću Abbotove formule.

Abbot-ova formula (Abbott, 1925) se koristi za korekciju mortaliteta u tretiranim i kontrolnim ponavljanjima kako bi se utvrdilo da nema dodatnog delovanja nekog faktora na ispitivane larve osim delovanja aplikovane aktivne supstance sa kojom se radilo ispitivanje. Ukoliko je mortalitet u kontrolnoj grupi iznosio između 5% i 20%, mortalitet tretiranih grupa je korigovan po sledećoj formuli:

$$\text{Mortalitet (\%)} = \frac{X - Y}{X} 100$$

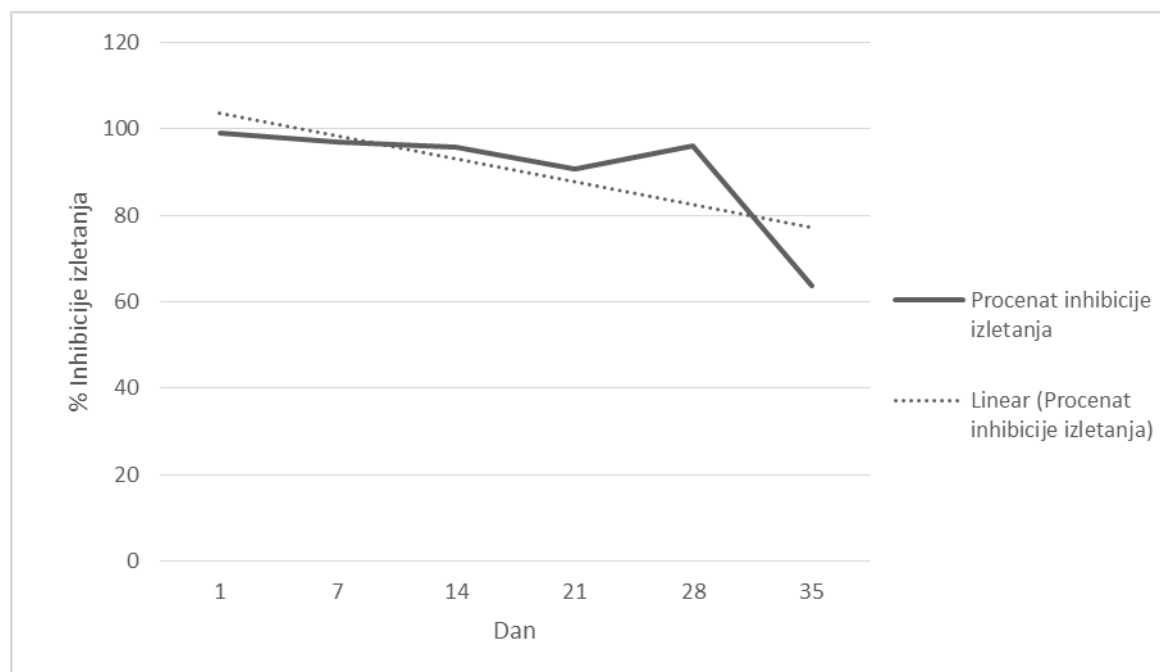
gde je X- procenat preživelih u netretiranoj kontrolnoj grupi, a Y- procenat preživelih u tretiranoj grupi.

5. REZULTATI

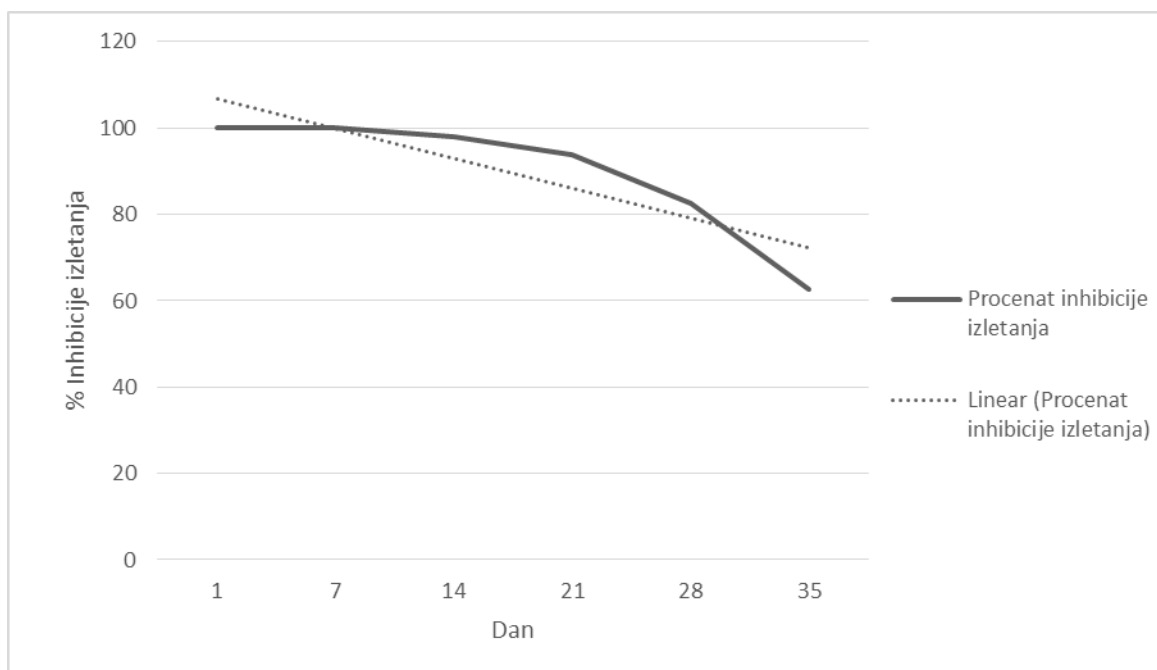
5.1. Analiza laboratorijskih ispitivanja efikasnosti diflubenzurona i piriproksifena

Tabela 3. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom i piriproksifenom u laboratorijskim uslovima

Dan	Aktivna materija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
1	Diflubenzuron	96	96,6	99,0	100,0	100,0	100,0	100,0	99,0	2,00
	Piriproksifen	100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0,00
7	Diflubenzuron	92	92,6	95,0	98,0	100,0	100,0	100,0	97,0	3,83
	Piriproksifen	100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	0
14	Diflubenzuron	88	89,2	94,0	98,0	100,0	100,0	100,0	96,0	5,66
	Piriproksifen	92	93,2	98,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,0	4,00
21	Diflubenzuron	84	84,6	87,0	90,0	94,0	98,8	100,0	91,0	6,83
	Piriproksifen	88	88,6	91,0	94,0	97,0	99,4	100,0	94,0	5,16
28	Diflubenzuron	76	76,6	79,0	84,0	91,0	98,2	100,0	86,0	10,53
	Piriproksifen	72	73,8	81,0	86,0	88,0	88,0	88,0	83,0	7,51
35	Diflubenzuron	56	56,6	59,0	60,0	65,0	77,0	80,0	64,0	10,83
	Piriproksifen	56	57,2	62,0	64,0	65,0	67,4	68,0	63,0	5,03



Slika 6. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda u laboratorijskim uslovima



Slika 7. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda u laboratorijskim uslovima

5.2. Analiza efekata različitih formulacija diflubenzurona na larve komaraca – mala terenska ispitivanja

U ovom eksperimentu ispitivano je 6 različitih formulacija i to: plutajuće tablete, tonuće tablete, plutajuće pelete, tonuće pelete, plutajuće granule i tonuće granule. Doza aktivne supstance diflubenzuron je u svim ponavljanjima bila 100 g a.s./ha. Postavljeno je ukupno 7 bazena, po jedan za svaku formulaciju i jedan za kontrolu. Uzorkovanje larvi je rađeno sa 4 mesta po bazenu i efekti su praćeni narednih 35 dana. Uzorkovanje je rađeno 6 puta i to 1. dana, 7. dana, 14. dana, 21. dana, 28. dana i 35. dana. Praćen je broj izletelih adulta i izračunavan je % inhibicije izletanja adulta (%IE).

Tabela 4. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 1. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	94,59	94,99	96,57	98,61	100,00	100,00	100,00	97,96	2,60
	Tonuće granule	94,00	94,22	95,09	96,00	96,68	96,98	97,06	95,77	1,35
	Plivajuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće pelete	94,12	94,48	95,94	97,05	98,17	99,63	100,00	97,06	2,44
	Plivajuće tablete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće tablete	97,01	97,46	99,25	100,00	100,00	100,00	100,00	99,25	1,50

Tabela 5. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 7. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	93,83	94,14	95,40	96,34	97,13	97,99	98,21	96,18	1,83
	Tonuće granule	76,67	77,74	82,01	87,41	93,28	98,66	100,00	87,87	9,99
	Plivajuće pelete	92,68	93,23	95,44	96,79	97,91	99,58	100,00	96,57	3,02
	Tonuće pelete	91,80	92,07	93,16	94,88	97,11	99,42	100,00	95,39	3,55
	Plivajuće tablete	83,72	84,89	89,58	95,01	98,86	99,77	100,00	93,43	7,45
	Tonuće tablete	83,87	84,21	85,57	87,27	88,50	89,49	89,74	89,96	2,95

Tabela 6. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 14. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	89,47	89,49	89,56	89,79	90,54	91,84	92,16	90,31	1,26
	Tonuće granule	53,45	55,02	61,28	66,51	73,01	82,29	84,61	67,77	12,98
	Plivajuće pelete	89,79	89,87	90,19	92,38	95,31	97,41	97,93	93,12	3,82
	Tonuće pelete	87,67	87,93	88,96	89,85	90,58	91,22	91,38	89,69	1,57
	Plivajuće tablete	78,26	80,46	89,28	95,01	97,79	99,56	100,00	92,07	9,65
	Tonuće tablete	80,72	81,10	82,68	84,91	87,04	88,38	88,71	84,81	3,51

Tabela 7. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 21. dana u malim terenskim ispitivanjima

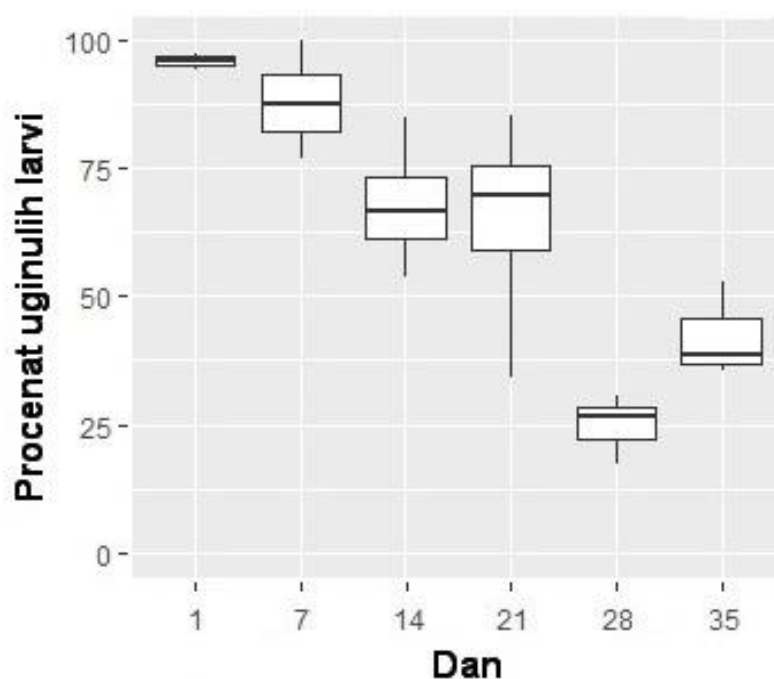
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	64,00	64,00	66,74	71,61	81,68	96,34	100,00	76,81	16,20
	Tonuće granule	34,15	34,15	58,79	69,53	75,34	83,21	85,18	64,60	21,70
	Plivajuće pelete	79,52	79,52	80,99	83,13	85,36	86,75	87,10	83,22	3,38
	Tonuće pelete	66,07	66,07	69,22	72,63	76,70	80,80	81,82	73,29	6,76
	Plivajuće tablete	52,94	52,94	70,59	83,01	90,13	91,54	91,89	77,71	17,85
	Tonuće tablete	52,78	52,78	63,60	73,08	80,49	84,19	85,11	71,01	14,24

Tabela 8. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 28. dana u malim terenskim ispitivanjima

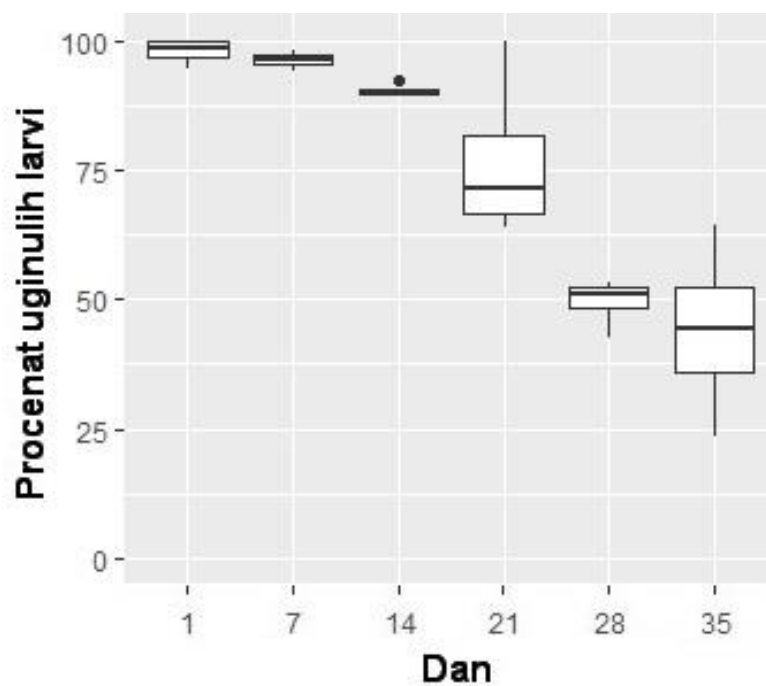
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	42,42	43,56	48,10	50,88	52,15	53,09	53,33	49,38	4,83
	Tonuće granule	17,24	18,18	21,95	26,67	28,55	30,05	30,43	24,78	6,80
	Plivajuće pelete	48,78	49,59	52,85	56,92	57,43	57,85	57,95	54,55	5,02
	Tonuće pelete	50,70	51,04	52,38	54,93	57,46	58,76	59,09	54,91	3,79
	Plivajuće tablete	54,93	55,82	59,38	62,25	65,74	70,80	72,06	62,88	7,12
	Tonuće tablete	36,84	37,25	38,91	45,16	53,45	60,00	61,64	47,20	11,34

Tabela 9. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi 35. dana u malim terenskim ispitivanjima

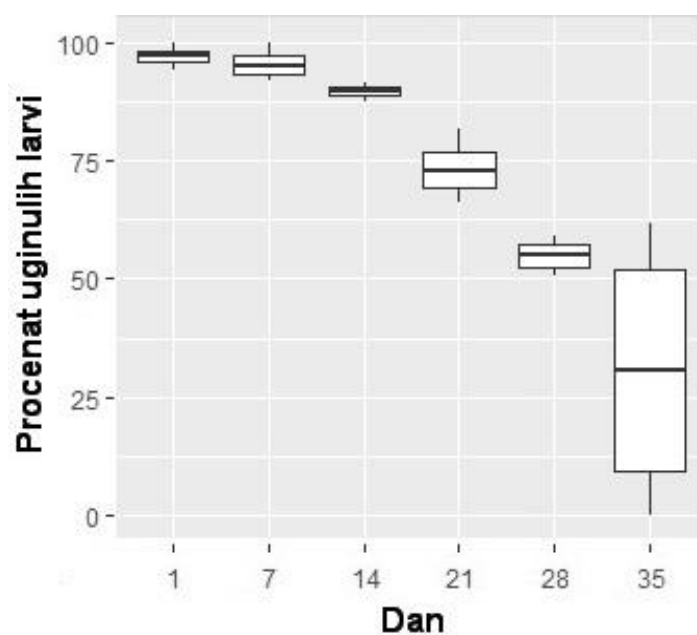
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	23,68	26,13	35,92	44,21	52,45	62,11	64,52	44,16	17,02
	Tonuće granule	35,29	35,61	36,87	38,46	45,66	51,43	52,87	42,21	9,37
	Plivajuće pelete	40,91	41,48	43,78	46,61	48,73	49,33	49,48	45,90	3,90
	Tonuće pelete	0,00	1,83	9,14	30,51	52,10	59,94	61,90	30,37	29,37
	Plivajuće tablete	31,15	34,11	45,95	54,08	61,47	71,49	74,00	53,33	17,71
	Tonuće tablete	27,45	28,64	33,40	39,36	39,47	39,56	39,58	35,46	6,94



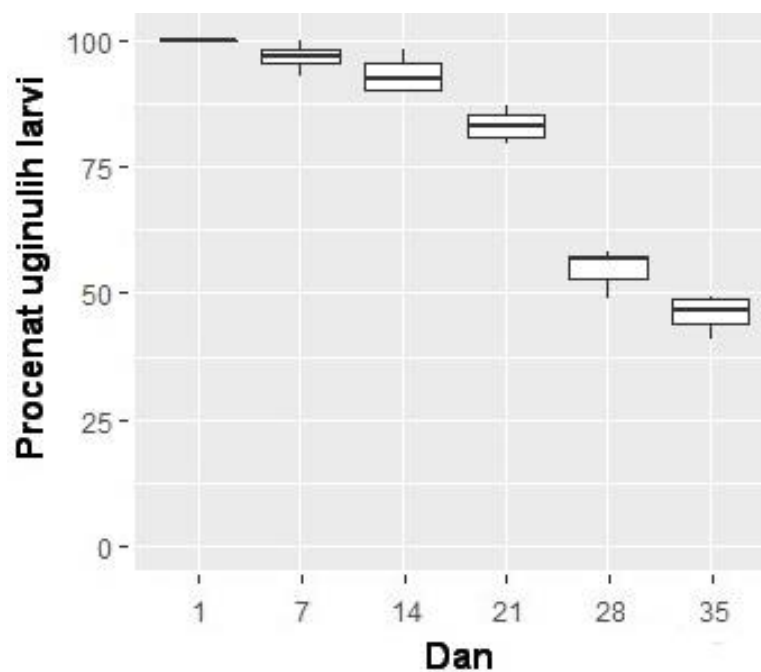
Slika 8. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonući granula sa diflubenzuronom



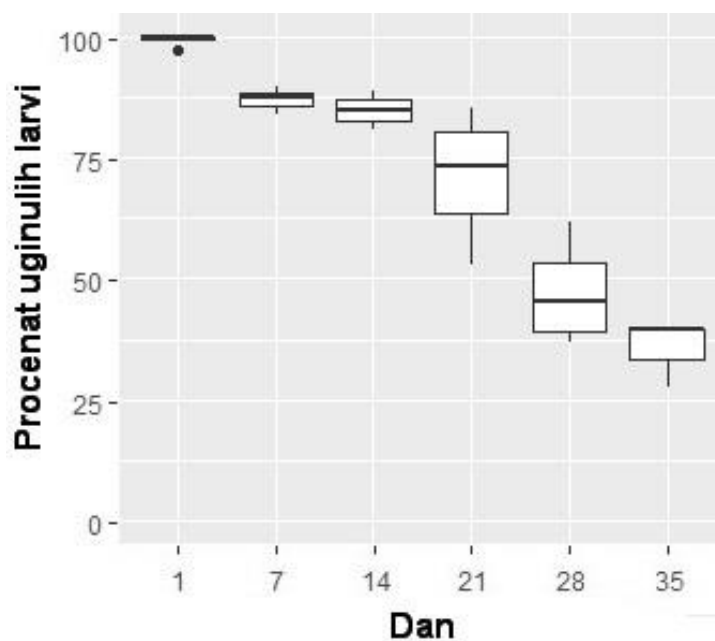
Slika 9. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih granula sa diflubenzuronom



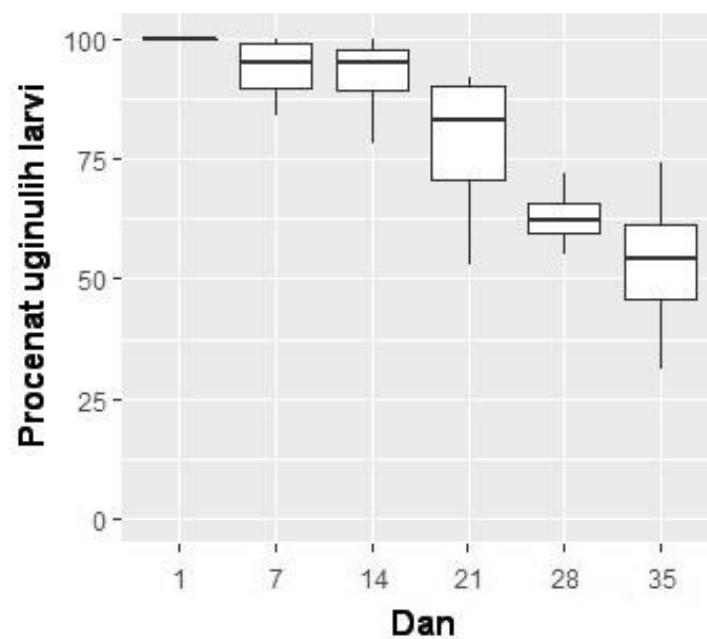
Slika 10. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih peleta sa diflubenzuronom



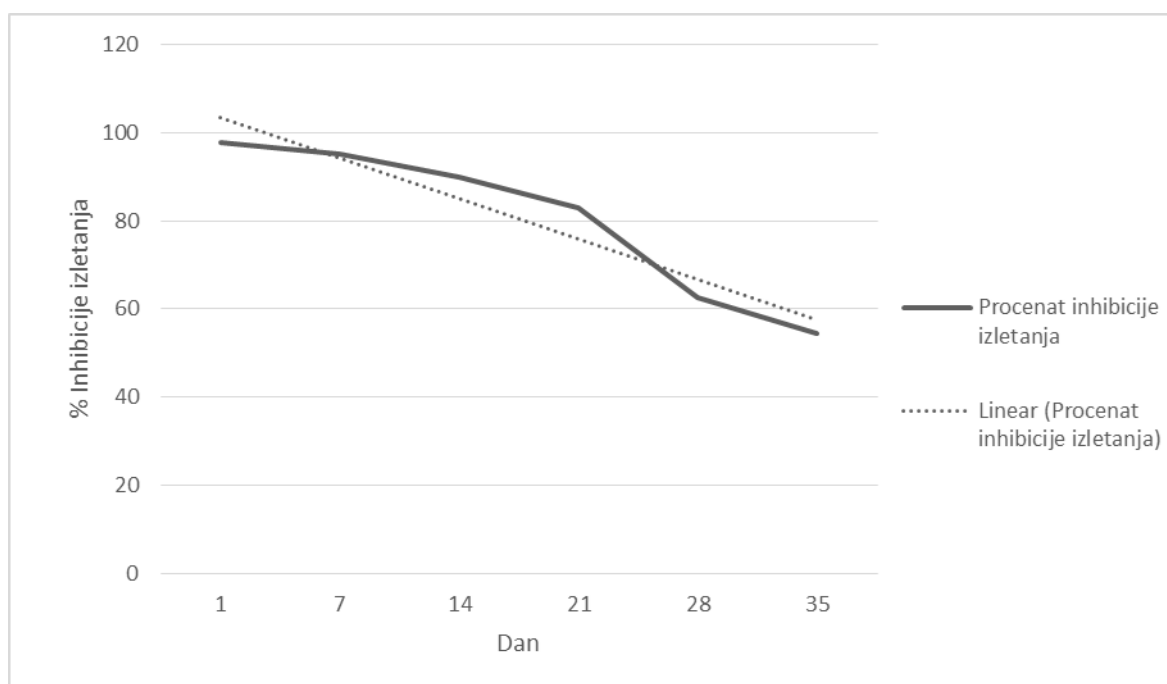
Slika 11. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih peleta sa diflubenzuronom



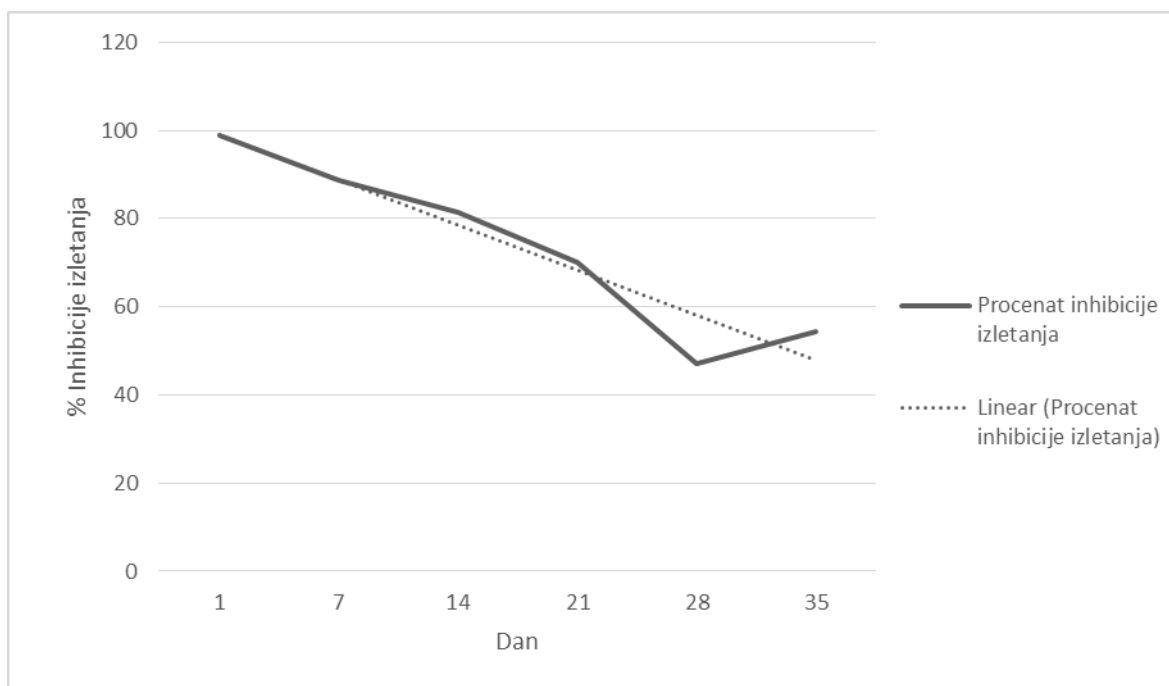
Slika 12. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonući tableta sa diflubenzuronom



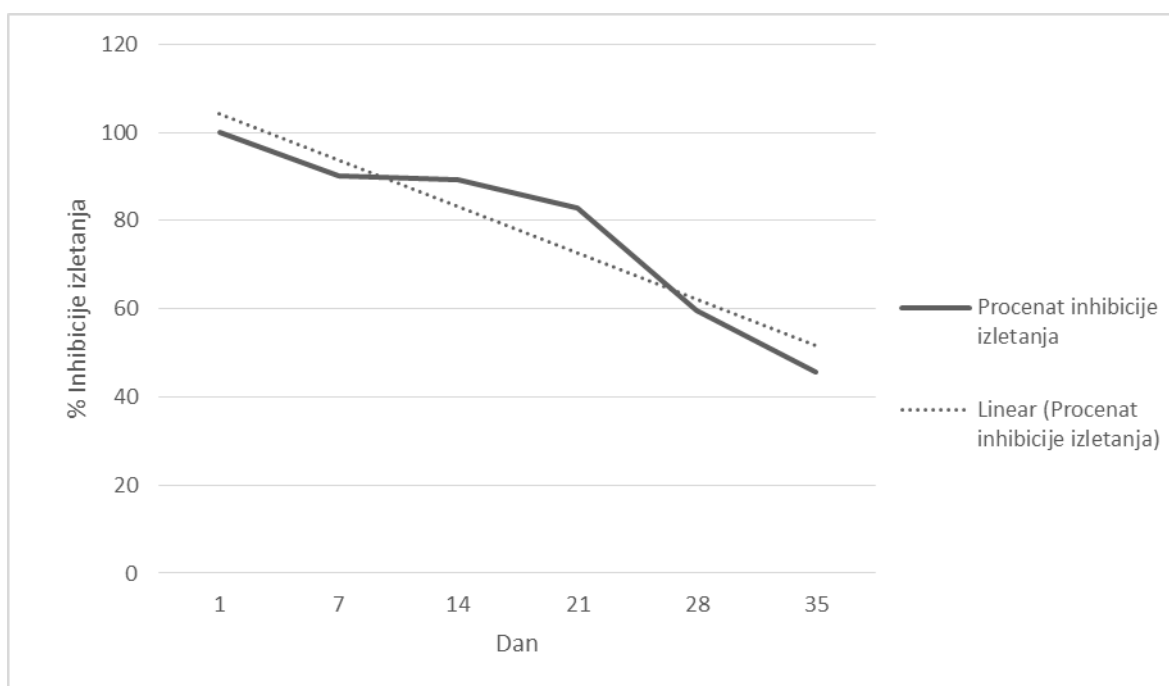
Slika 13. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih tableta sa diflubenzuronom



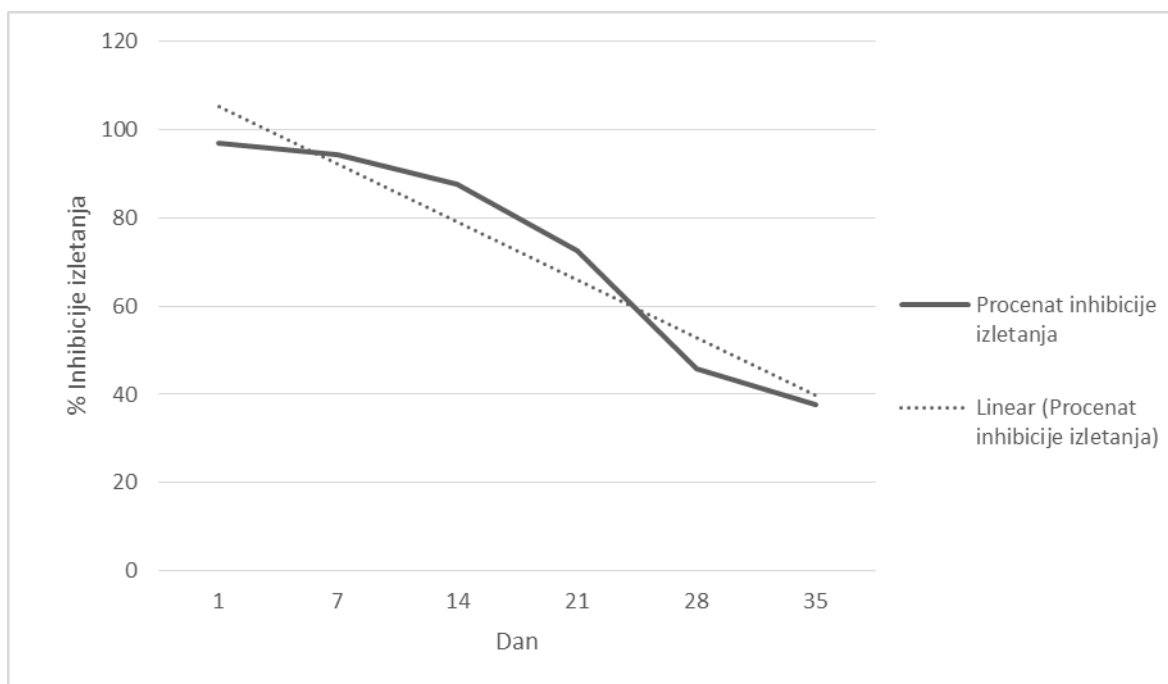
Slika 14. Procentat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih tableta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



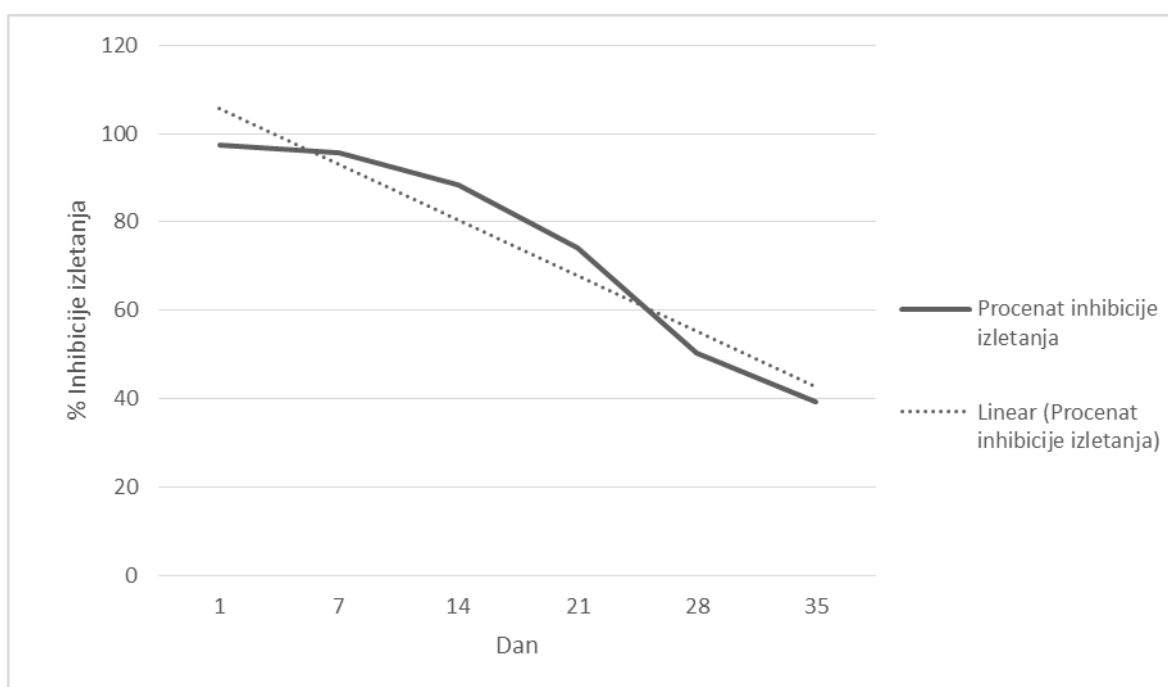
Slika 15. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih tableta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



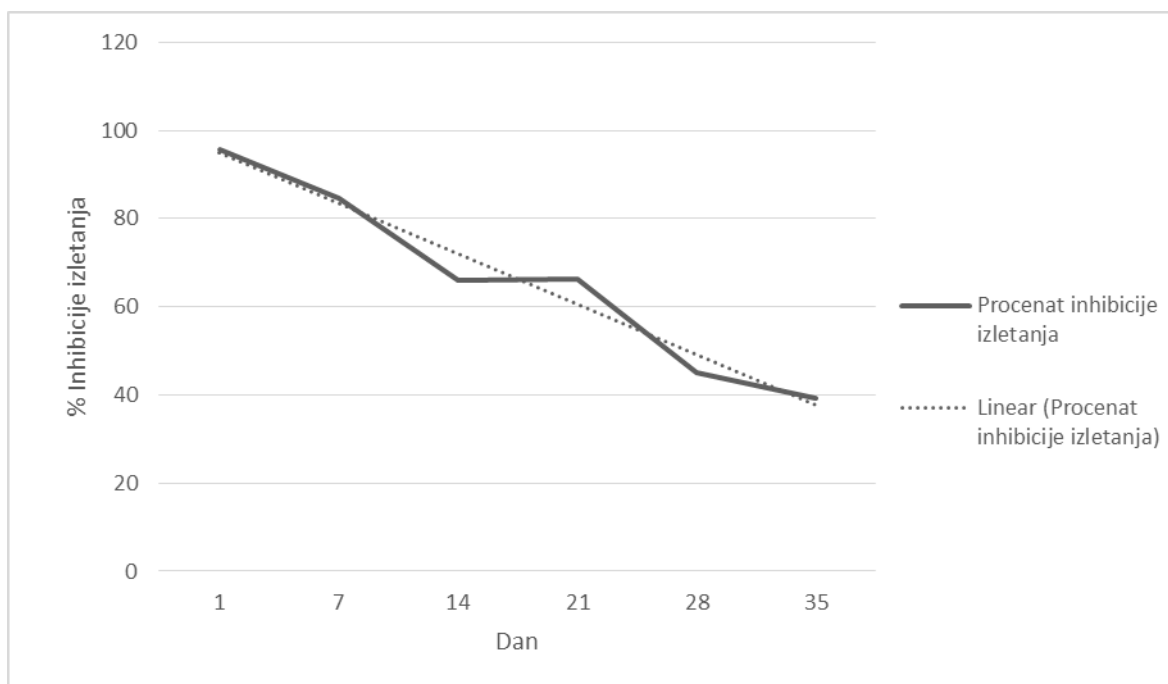
Slika 16. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih peleta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 17. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonuĉih peleta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 18. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajuĉih granula sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 19. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih granula sa diflubenzone sa prikazanom linearnom linijom trenda

5.3. Analiza efekata različitih formulacija piriproksifena na larve komaraca – mala terenska ispitivanja

U ovom eksperimentu ispitivano je 6 različitih formulacija i to: plutajuće tablete, tonuće tablete, plutajuće pelete, tonuće pelete, plutajuće granule i tonuće granule. Doza aktivne supstance piriproksifen je u svim ponavljanjima bila 50 g a.s./ha. Postavljeno je ukupno 7 bazena, po jedan za svaku formulaciju i jedan za kontrolu. Uzorkovanje larvi je rađeno sa 4 mesta po bazenu i efekti su praćeni narednih 35 dana. Uzorkovanje je rađeno 6 puta i to 1. dana, 7. dana, 14. dana, 21. dana, 28. dana i 35. dana. Praćen je broj izletelih adulta i izračunavan je % inhibicije izletanja adulta (%IE).

Tabela 10. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 1. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće granule	95,74	95,80	96,05	96,64	97,85	99,57	100,00	97,26	1,92
	Plivajuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće pelete	96,72	96,93	97,76	99,05	100,00	100,00	100,00	98,71	1,60
	Plivajuće tablete	97,83	97,92	98,29	99,22	100,00	100,00	100,00	99,07	1,11
	Tonuće tablete	93,75	93,83	94,13	94,52	94,53	94,55	94,55	94,27	0,45

Tabela 11. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 7. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	97,40	97,46	97,68	97,96	98,00	98,03	98,04	97,80	0,35
	Tonuće granule	88,24	88,85	91,29	92,74	93,49	94,25	94,44	92,04	2,68
	Plivajuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće pelete	94,12	94,40	95,53	96,27	96,82	97,43	97,62	96,07	1,47
	Plivajuće tablete	86,54	86,95	88,59	93,12	97,73	99,55	100,00	93,20	6,33
	Tonuće tablete	85,71	86,16	97,94	91,01	95,00	99,00	100,00	91,93	6,23

Tabela 12. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 14. dana u malim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	91,07	91,28	92,10	92,65	93,51	95,06	95,45	92,96	1,83
	Tonuće granule	76,19	77,03	80,41	83,50	85,55	86,45	86,67	82,47	4,65
	Plivajuće pelete	91,67	92,07	93,67	94,79	96,43	99,29	100,00	95,31	3,47
	Tonuće pelete	89,53	89,77	90,71	92,38	94,27	95,77	96,15	92,61	2,91
	Plivajuće tablete	82,35	83,57	88,45	91,58	93,97	97,06	97,83	90,84	6,44
	Tonuće tablete	84,44	84,48	84,65	89,08	94,12	95,74	96,15	89,69	6,00

Tabela 13. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 21. dana u malim terenskim ispitivanjima

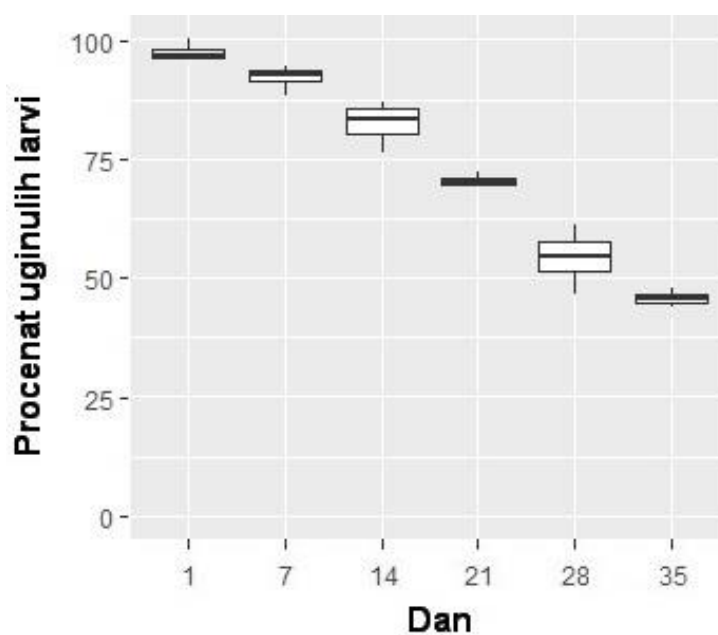
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	69,57	69,57	75,73	79,13	80,54	80,65	80,68	77,13	5,21
	Tonuće granule	69,23	69,23	69,61	70,00	71,06	71,92	72,13	70,45	1,50
	Plivajuće pelete	79,17	79,17	81,50	86,75	91,89	93,48	93,88	86,64	7,03
	Tonuće pelete	73,17	73,17	74,74	76,31	77,04	77,63	77,78	75,75	2,35
	Plivajuće tablete	64,71	64,71	77,19	82,98	86,32	90,41	91,43	80,53	11,35
	Tonuće tablete	77,27	77,27	82,02	87,95	94,22	98,84	100,00	88,29	9,94

Tabela 14. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 28. dana u malim terenskim ispitivanjima

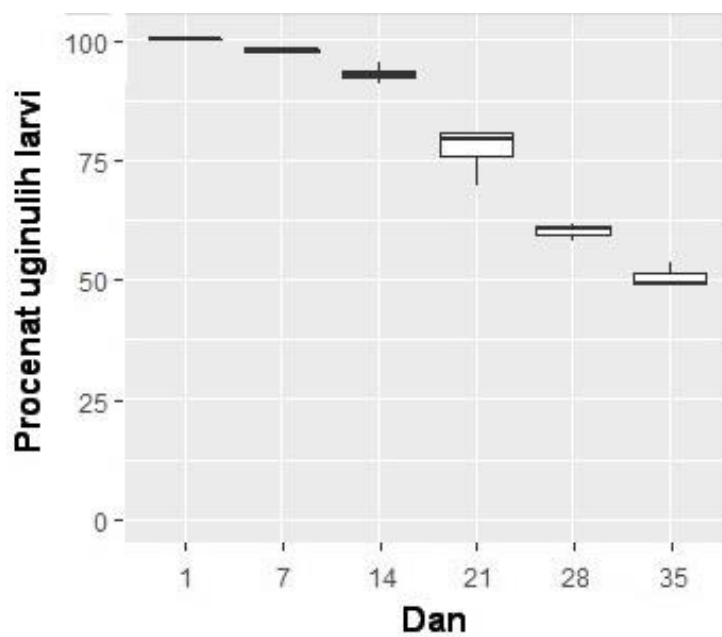
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	58,14	58,39	59,39	60,65	61,09	61,45	61,54	60,11	1,76
	Tonuće granule	46,48	47,42	51,20	54,46	57,35	60,25	60,98	54,10	6,09
	Plivajuće pelete	56,67	57,88	62,70	66,01	69,23	73,85	75,00	65,92	7,56
	Tonuće pelete	38,46	39,93	45,82	56,77	66,16	68,31	68,85	55,21	14,33
	Plivajuće tablete	50,00	51,62	58,08	64,87	73,27	83,62	86,21	66,49	15,27
	Tonuće tablete	43,94	44,85	48,48	57,22	67,19	73,79	75,44	58,46	14,22

Tabela 15. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 35. dana u malim terenskim ispitivanjima

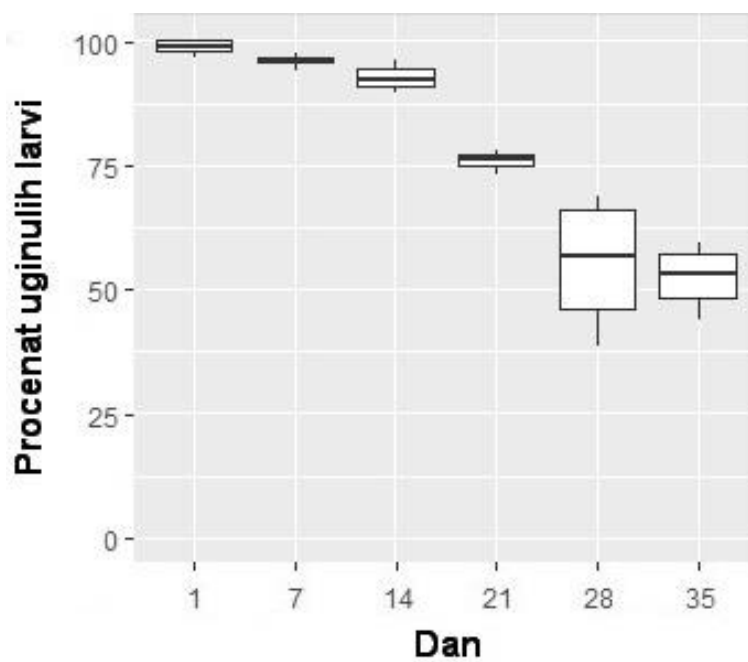
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	48,78	48,84	49,06	49,35	51,46	53,15	53,57	50,57	2,62
	Tonuće granule	44,00	44,14	44,72	45,45	46,53	47,40	47,62	45,69	1,82
	Plivajuće pelete	59,70	59,84	60,40	61,11	62,76	64,08	64,41	61,74	2,42
	Tonuće pelete	43,59	44,55	48,40	53,07	56,91	58,75	59,21	52,24	6,92
	Plivajuće tablete	41,94	43,15	47,98	54,71	59,85	60,86	61,11	53,12	8,91
	Tonuće tablete	27,27	28,37	32,77	41,94	49,62	50,46	50,67	40,46	11,40



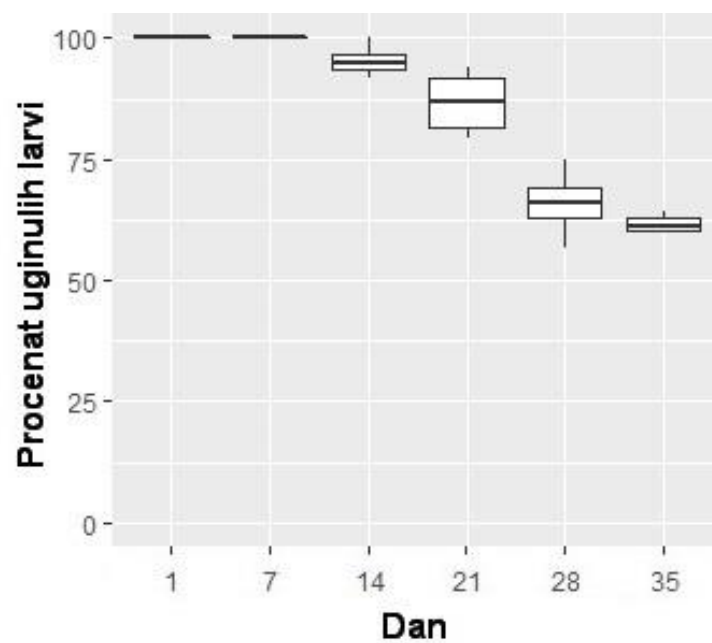
Slika 20. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih granula sa piriproksifenom



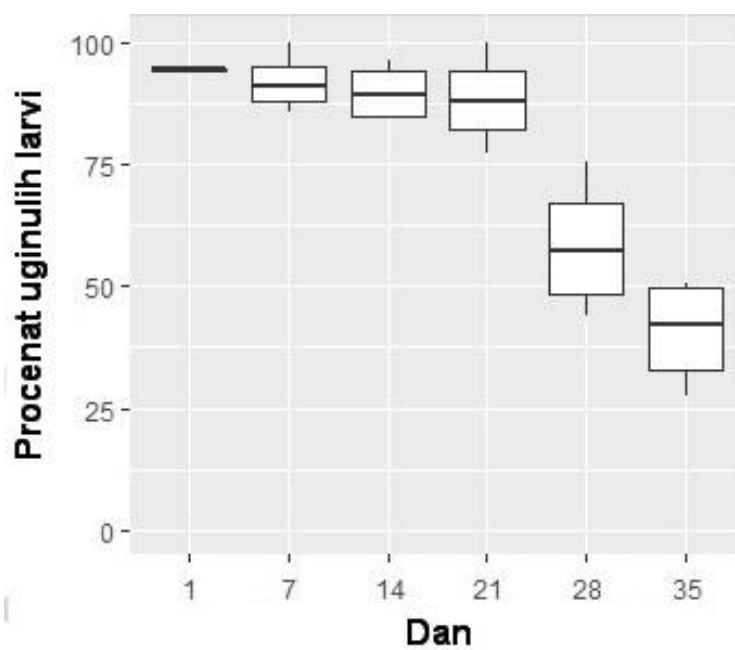
Slika 21. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih granula sa piriproksifenom



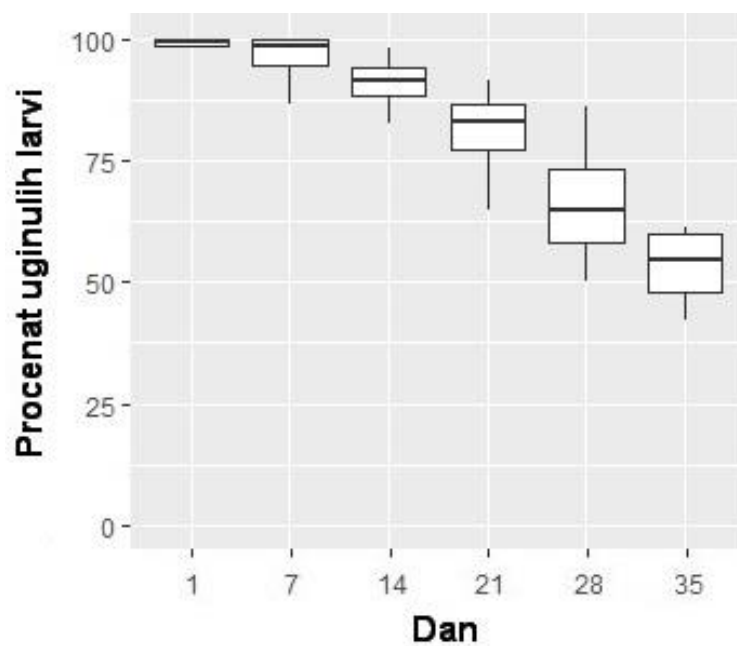
Slika 22. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih peleta sa piriproksifenom



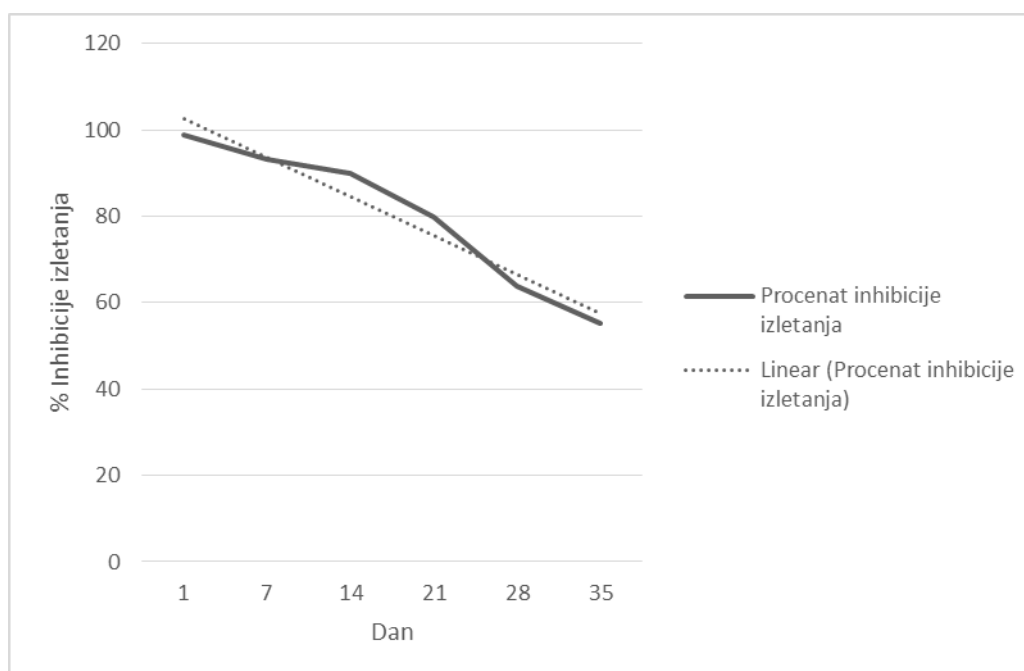
Slika 23. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih peleta sa piriproksifenom



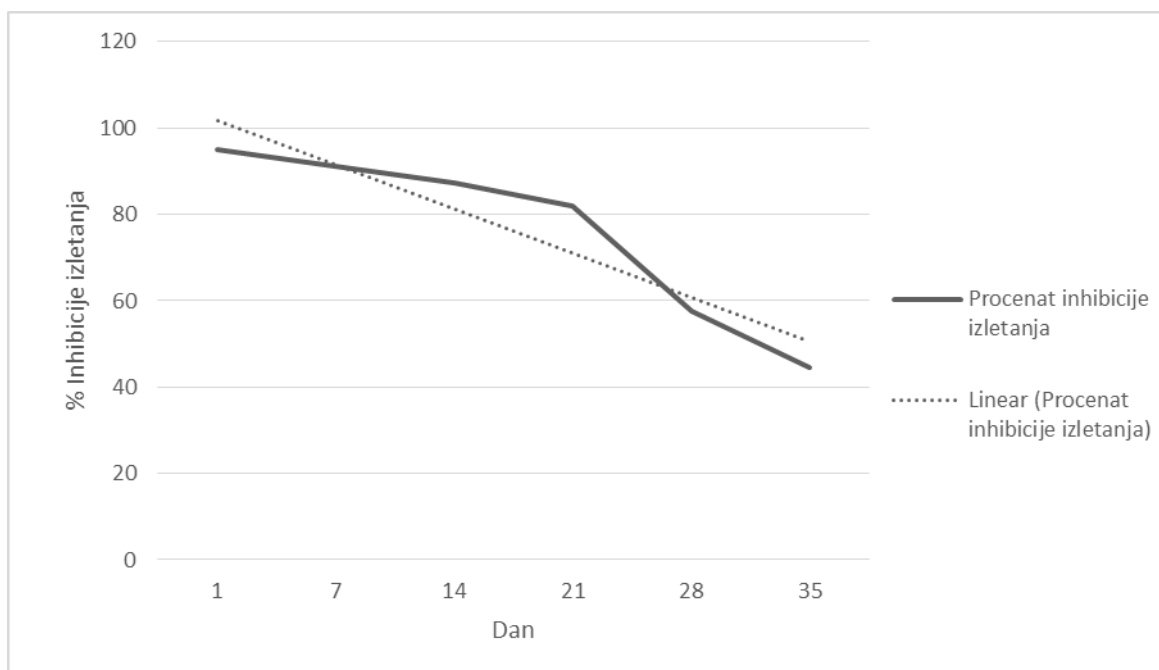
Slika 24. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih tableta sa piriproksifenom



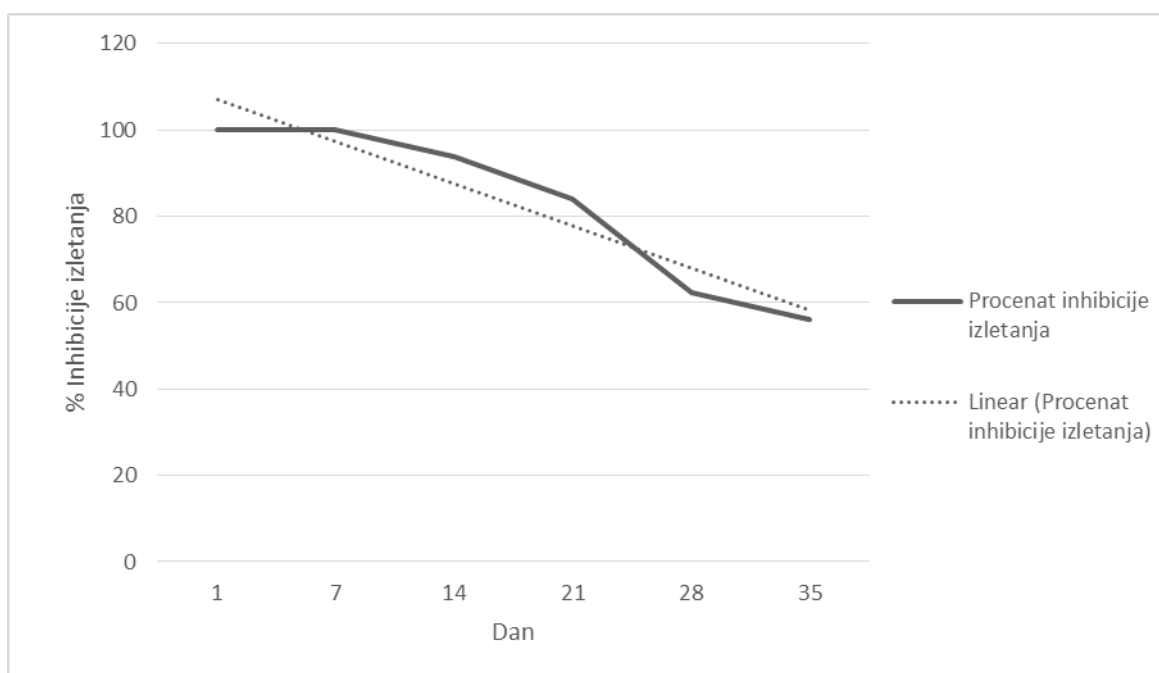
Slika 25. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih tableta sa piriproksifenom



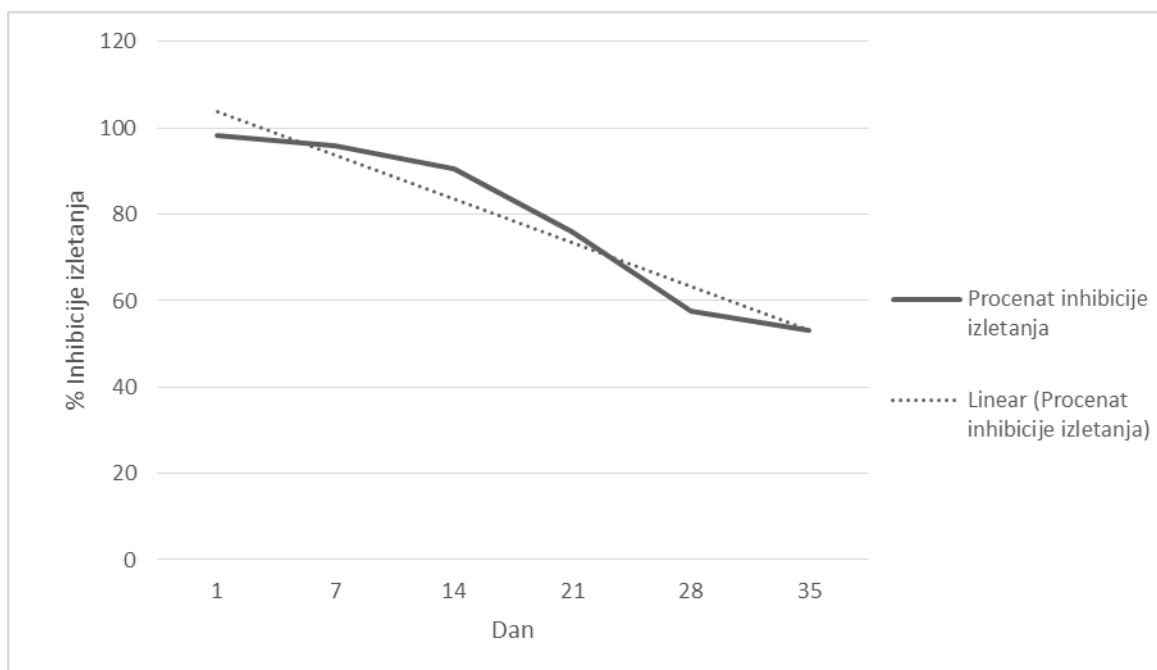
Slika 26. Procentat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih tableta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



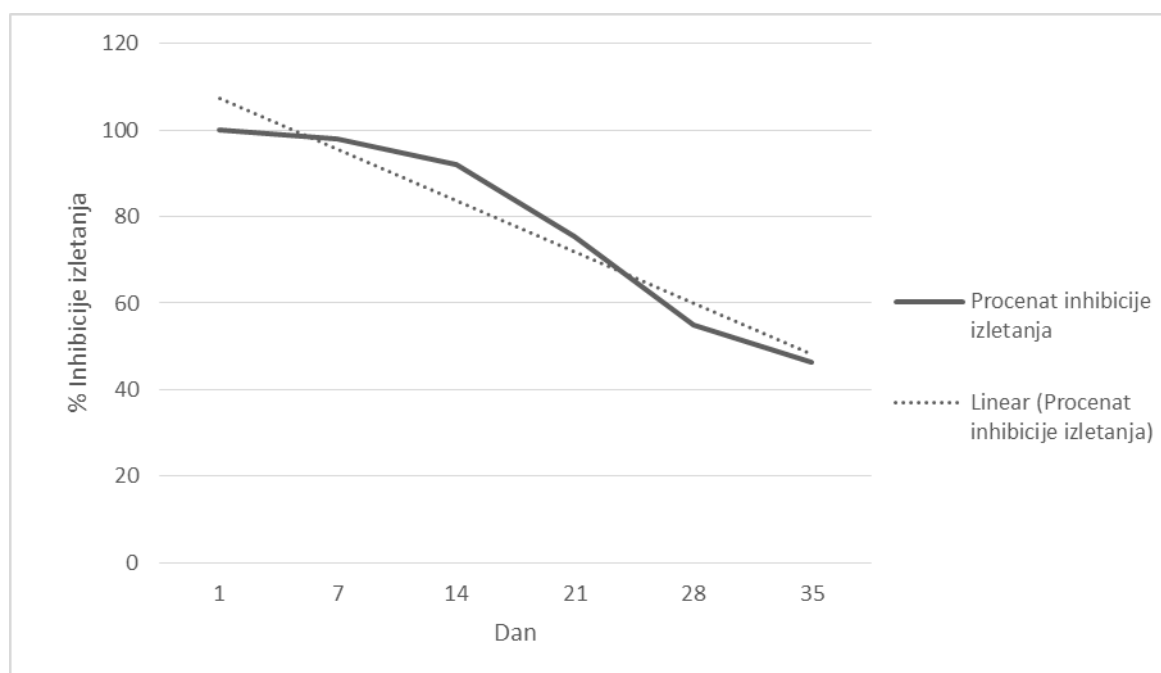
Slika 27. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih tableta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



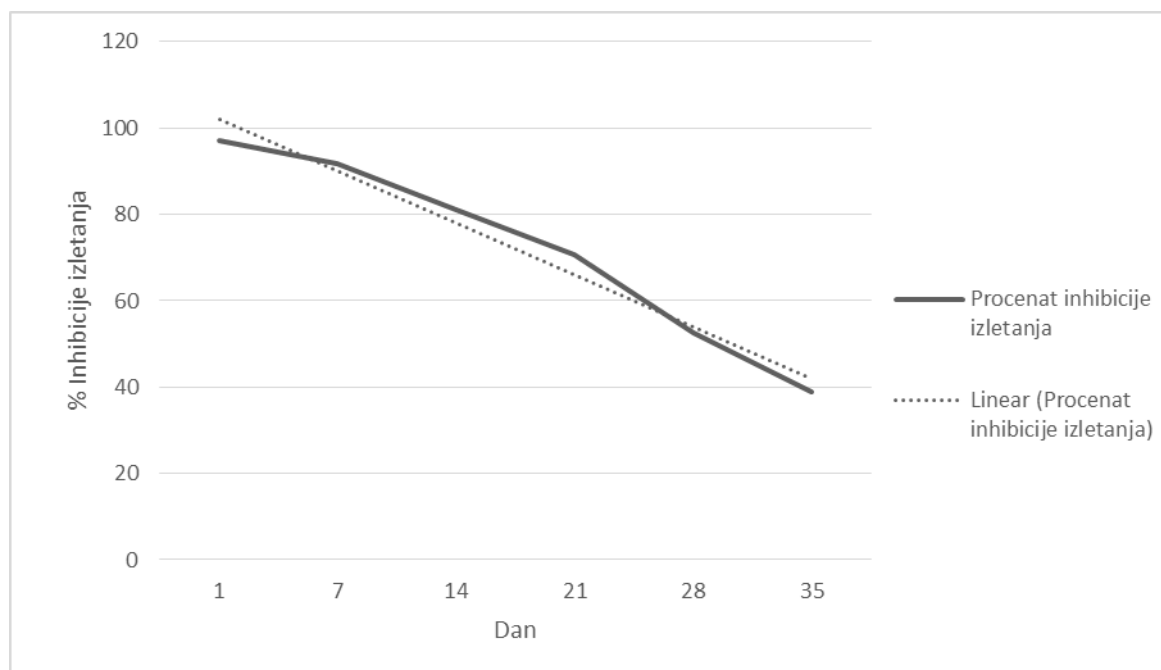
Slika 28. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih peleta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 29. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih peleta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 30. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih granula sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 31. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih granula sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda

5.4. Analiza varijanse i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja

Tabela 16. Analiza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 1. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriproksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.617										
	Plivajuće pelete	0.707	0.011									
	Tonuće pelete	0.999	0.980	0.209								
	Plivajuće tablete	0.792	0.025	0.999	0.304							
	Tonuće tablete	0.980	0.069	0.999	0.614	0.999						
Piriproksifen	Plivajuće granule	0.707	0.011	0.999	0.209	0.999	0.999					
	Tonuće granule	0.999	0.946	0.295	0.999	0.402	0.736	0.295				
	Plivajuće pelete	0.707	0.011	0.999	0.209	0.999	0.999	0.999	0.295			
	Tonuće pelete	0.999	0.209	0.980	0.900	0.989	0.999	0.980	0.956	0.980		
	Plivajuće tablete	0.994	0.103	0.999	0.727	0.999	0.999	0.999	0.834	0.999	0.999	
	Tonuće tablete	0.082	0.968	0.001	0.380	0.002	0.004	0.001	0.285	0.001	0.016	0.007

Tabela 17. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 7. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piripoksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.439										
	Plivajuće pelete	0.999	0.374									
	Tonuće pelete	0.999	0.586	0.999								
	Plivajuće tablete	0.999	0.898	0.999	0.999							
	Tonuće tablete	0.400	0.999	0.342	0.532	0.846						
Piripoksifen	Plivajuće granule	0.999	0.297	0.999	0.999	0.989	0.269					
	Tonuće granule	0.986	0.985	0.974	0.998	0.999	0.965	0.921				
	Plivajuće pelete	0.993	0.052	0.997	0.969	0.758	0.054	0.999	0.504			
	Tonuće pelete	0.999	0.459	0.999	0.999	0.999	0.418	0.999	0.989	0.991		
	Plivajuće tablete	0.999	0.921	0.997	0.999	0.999	0.874	0.983	0.999	0.718	0.999	
	Tonuće tablete	0.983	0.988	0.968	0.997	0.999	0.970	0.911	0.999	0.483	0.986	0.999

Tabela 18. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 14. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piripoksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	<0.0001										
	Plivajuće pelete	0.999	<0.0001									
	Tonuće pelete	0.999	<0.0001	0.999								
	Plivajuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999							
	Tonuće tablete	0.971	0.011	0.693	0.988	0.836						
Piripoksifen	Plivajuće granule	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.717					
	Tonuće granule	0.961	0.045	0.338	0.849	0.489	0.999	0.359				
	Plivajuće pelete	0.985	<0.0001	0.999	0.966	0.999	0.358	0.999	0.125			
	Tonuće pelete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.767	0.999	0.408	0.999		
	Plivajuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.945	0.999	0.683	0.994	0.999	
	Tonuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.988	0.999	0.839	0.965	0.999	0.999

Tabela 19. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 21. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piripoksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.946										
	Plivajuće pelete	0.999	0.560									
	Tonuće pelete	0.999	0.996	0.988								
	Plivajuće tablete	0.999	0.915	0.999	0.999							
	Tonuće tablete	0.999	0.999	0.946	0.999	0.999						
Piripoksifen	Plivajuće granule	0.999	0.936	0.999	0.999	0.999	0.999					
	Tonuće granule	0.999	0.999	0.956	0.999	0.999	0.999	0.999				
	Plivajuće pelete	0.989	0.315	0.999	0.905	0.995	0.781	0.991	0.821			
	Tonuće pelete	0.999	0.983	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.986		
	Plivajuće tablete	0.999	0.761	0.999	0.999	0.999	0.991	0.999	0.992	0.999	0.999	
	Tonuće tablete	0.964	0.224	0.999	0.820	0.980	0.663	0.970	0.719	0.999	0.961	0.998

Tabela 20. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 28. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriprosifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.068										
	Plivajuće pelete	0.999	0.023									
	Tonuće pelete	0.999	0.010	0.999								
	Plivajuće tablete	0.690	<0.0001	0.990	0.987							
	Tonuće tablete	0.999	0.131	0.996	0.990	0.481						
Piriprosifen	Plivajuće granule	0.937	0.003	0.999	0.999	0.999	0.821					
	Tonuće granule	0.999	0.014	0.999	0.999	0.973	0.996	0.999				
	Plivajuće pelete	0.402	<0.0001	0.911	0.885	0.999	0.236	0.999	0.830			
	Tonuće pelete	0.999	0.009	0.999	0.999	0.990	0.986	0.999	0.999	0.902		
	Plivajuće tablete	0.354	<0.0001	0.882	0.848	0.999	0.202	0.999	0.787	0.999	0.868	
	Tonuće tablete	0.966	0.003	0.999	0.999	0.999	0.870	0.999	0.999	0.992	0.999	0.986

Tabela 21. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za mala terenska ispitivanja 35. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriprosifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.999										
	Plivajuće pelete	0.999	0.999									
	Tonuće pelete	0.950	0.991	0.893								
	Plivajuće tablete	0.997	0.993	0.999	0.438							
	Tonuće tablete	0.999	0.999	0.996	0.999	0.830						
Piriprosifen	Plivajuće granule	0.999	0.999	0.999	0.723	0.999	0.958					
	Tonuće granule	0.999	0.999	0.999	0.938	0.999	0.998	0.999				
	Plivajuće pelete	0.843	0.810	0.912	0.144	0.999	0.428	0.996	0.937			
	Tonuće pelete	0.999	0.997	0.999	0.510	0.999	0.878	0.999	0.999	0.998		
	Plivajuće tablete	0.998	0.994	0.999	0.452	0.999	0.840	0.999	0.999	0.999	0.999	
	Tonuće tablete	0.999	0.999	0.999	0.995	0.962	0.999	0.967	0.999	0.634	0.980	0.966

5.5. Analiza efekata različitih formulacija diflubenzurona na larve komaraca – velika terenska ispitivanja

U ovom eksperimentu ispitivano je 6 različitih formulacija i to: plutajuće tablete, tonuće tablete, plutajuće pelete, tonuće pelete, plutajuće granule i tonuće granule. Doza aktivne supstance diflubenzurona je u svim ponavljanjima bila 100 g a.s./ha. Tretirano je ukupno 2 kanala u dužini od 100 m po formulaciji sa pravljjenjem razmaka od 200 m gde je na jednom kanalu ispitivano više formulacija. Sa svakog kanala uzimano je 10 uzoraka i rezultati su praćeni 1. dana, 7. dana, 14. dana, 21. dana, 28.dana i 35. dana. Praćen je broj izletelih adulta i izračunavan je % inhibicije izletanja adulta (%IE).

Tabela 22. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 1. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće granule	97,37	97,90	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,47	1,18
	Plivajuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće pelete	93,75	93,81	94,03	94,12	94,52	95,50	95,74	94,43	0,89
	Plivajuće tablete	92,31	93,19	96,06	98,38	100,00	100,00	100,00	97,49	3,13
	Tonuće tablete	88,89	89,58	92,94	98,38	100,00	100,00	100,00	96,22	4,85

Tabela 23. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 7. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	93,33	93,43	94,12	95,62	99,00	100,00	100,00	96,39	2,96
	Tonuće granule	76,66	77,58	81,25	83,33	88,46	89,95	90,32	84,00	5,52
	Plivajuće pelete	80,00	80,83	83,92	88,44	97,79	100,00	100,00	90,04	8,54
	Tonuće pelete	85,29	85,32	86,56	91,94	94,06	98,53	100,00	91,45	5,70
	Plivajuće tablete	88,46	89,30	92,68	96,55	100,00	100,00	100,00	95,54	4,98
	Tonuće tablete	81,25	81,25	81,25	82,35	85,71	87,91	88,46	93,80	3,18

Tabela 24. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 14. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	68,75	71,56	80,83	85,41	96,87	100,00	100,00	80,60	12,11
	Tonuće granule	40,00	42,00	50,00	58,33	63,64	64,15	64,28	55,25	10,27
	Plivajuće pelete	83,33	83,58	84,58	86,94	89,25	90,11	90,32	86,89	3,27
	Tonuće pelete	68,75	71,01	79,58	85,35	91,42	98,33	100,00	85,10	11,05
	Plivajuće tablete	80,00	80,67	83,33	83,33	95,24	99,05	100,00	88,38	8,71
	Tonuće tablete	78,26	78,52	79,56	81,66	83,92	85,35	85,71	81,83	3,34

Tabela 25. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 21. dana u velikim terenskim ispitivanjima

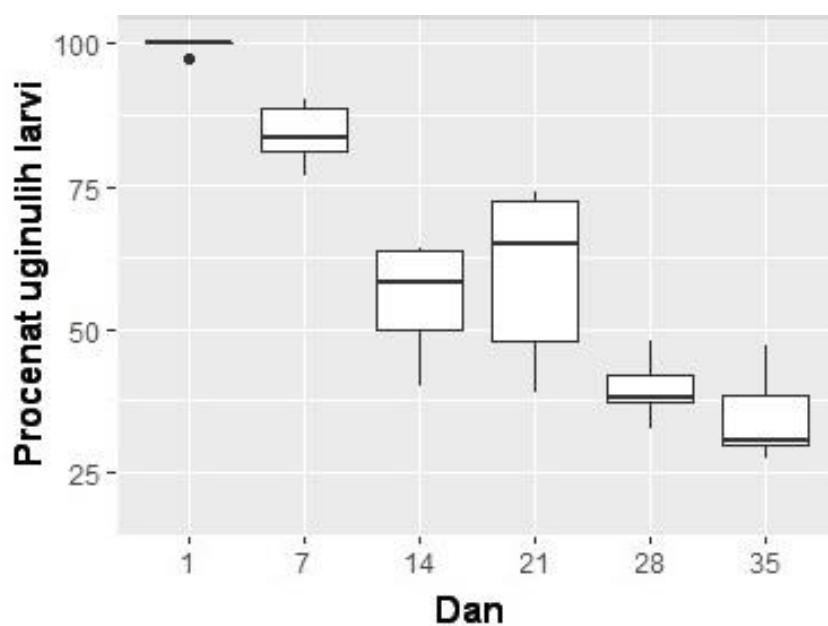
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	64,00	64,40	66,01	67,95	69,42	69,88	70,00	67,48	2,72
	Tonuće granule	38,88	40,27	48,03	64,89	72,55	73,70	73,91	60,02	15,33
	Plivajuće pelete	66,67	66,93	67,98	69,92	72,32	74,46	75,00	70,38	3,65
	Tonuće pelete	54,17	54,25	54,55	58,82	60,00	76,00	80,00	61,51	10,65
	Plivajuće tablete	76,67	77,74	81,08	87,80	98,53	100,00	100,00	88,87	10,41
	Tonuće tablete	62,50	64,12	70,59	73,33	77,27	79,45	80,00	72,74	6,76

Tabela 26. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 28. dana u velikim terenskim ispitivanjima

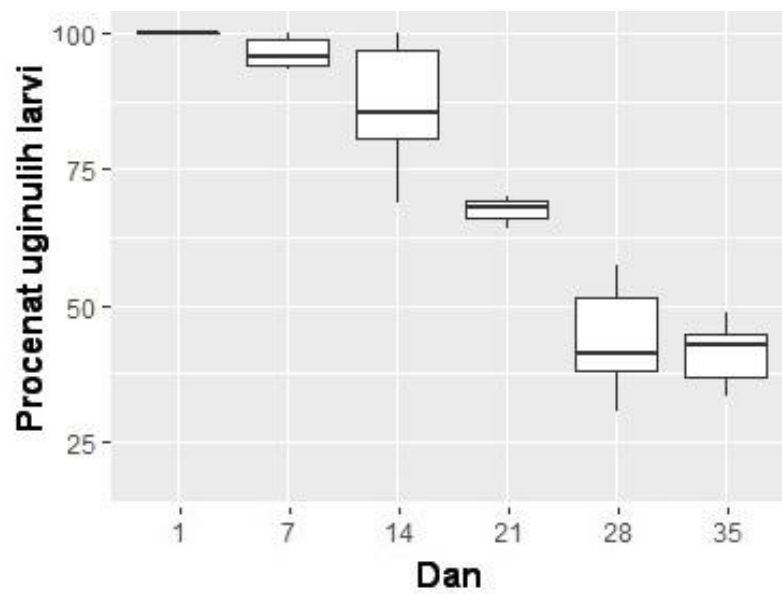
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	30,55	32,17	38,07	41,42	51,67	56,84	57,45	43,82	10,43
	Tonuće granule	32,65	33,70	37,15	38,17	41,99	46,68	47,83	39,48	5,31
	Plivajuće pelete	41,67	42,74	47,79	54,79	59,06	61,87	62,50	53,28	8,10
	Tonuće pelete	33,33	34,52	38,19	40,89	45,11	48,93	50,00	41,49	6,01
	Plivajuće tablete	56,25	57,04	60,22	64,10	66,67	66,67	66,67	62,78	4,98
	Tonuće tablete	33,33	33,33	34,37	39,34	45,12	54,46	57,14	41,49	9,15

Tabela 27. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih diflubenzuronom 35. dana u velikim terenskim ispitivanjima

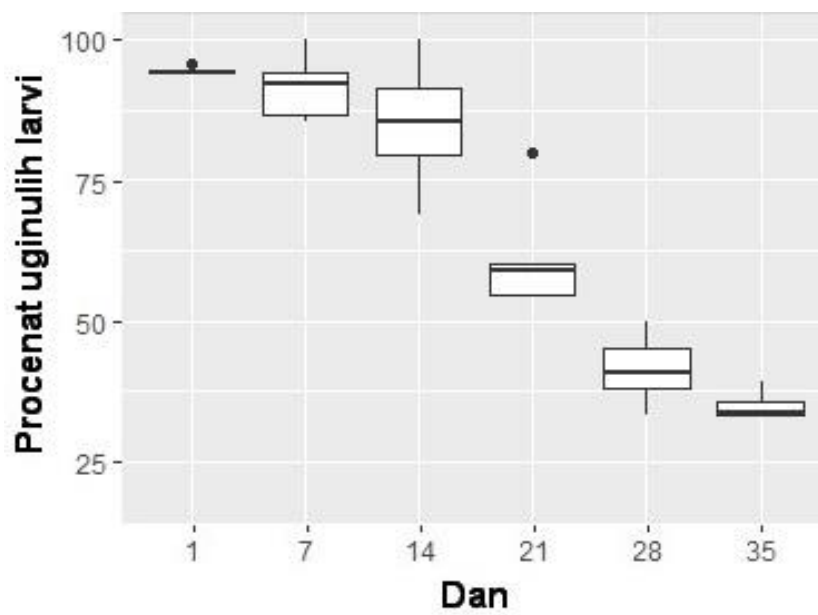
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Diflubenzuron	Plivajuće granule	33,33	33,92	36,99	42,63	44,62	47,60	48,57	41,26	5,82
	Tonuće granule	27,27	27,86	29,78	30,74	38,58	45,55	47,06	34,41	7,81
	Plivajuće pelete	33,33	34,16	37,50	39,39	41,94	42,24	42,31	38,89	3,68
	Tonuće pelete	33,33	33,33	33,33	33,80	35,84	38,44	39,13	34,96	2,36
	Plivajuće tablete	33,33	35,09	42,11	45,71	47,50	53,94	55,55	44,84	8,10
	Tonuće tablete	29,03	29,31	30,43	31,58	40,91	43,97	44,74	35,34	7,03



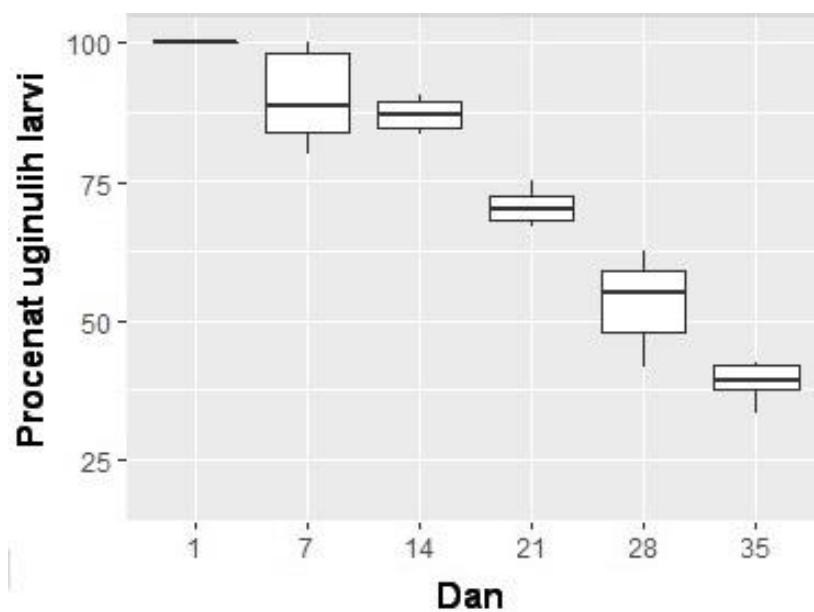
Slika 32. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonući granula sa diflubenzuronom



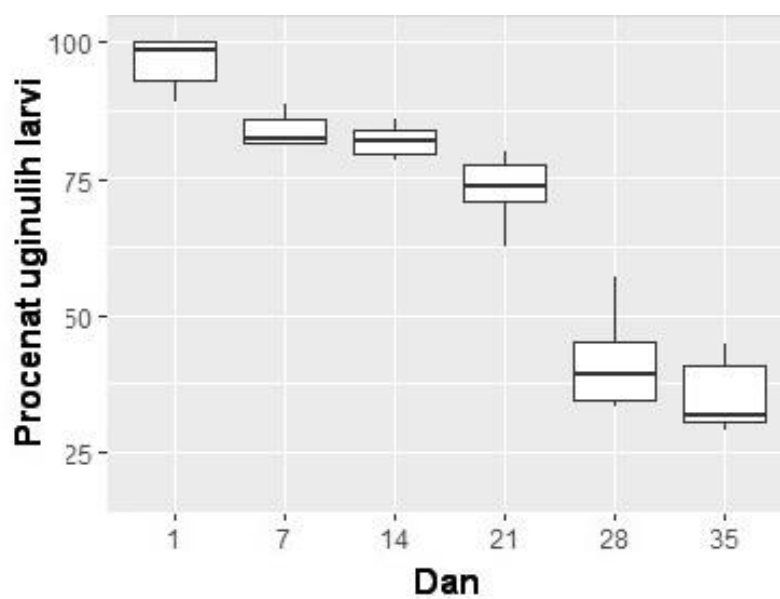
Slika 33. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih granula sa diflubenzuronom



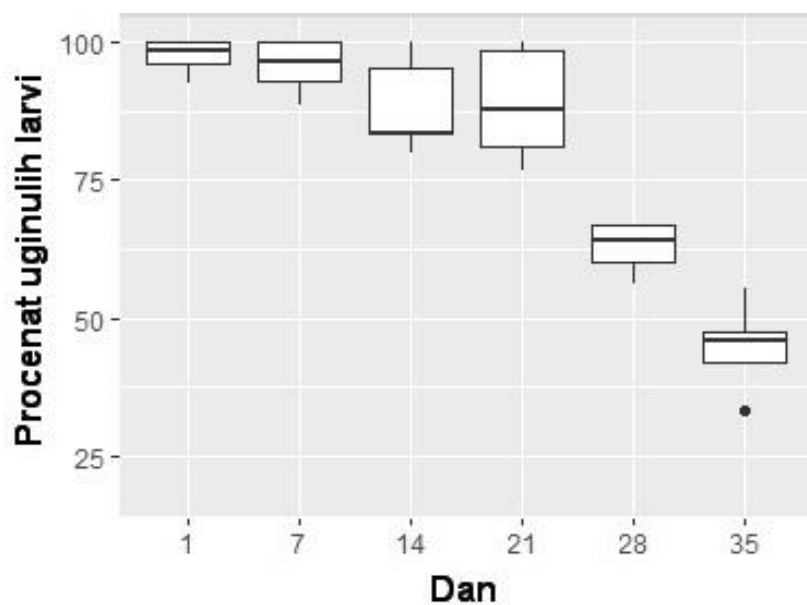
Slika 34. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih peleta sa diflubenzuronom



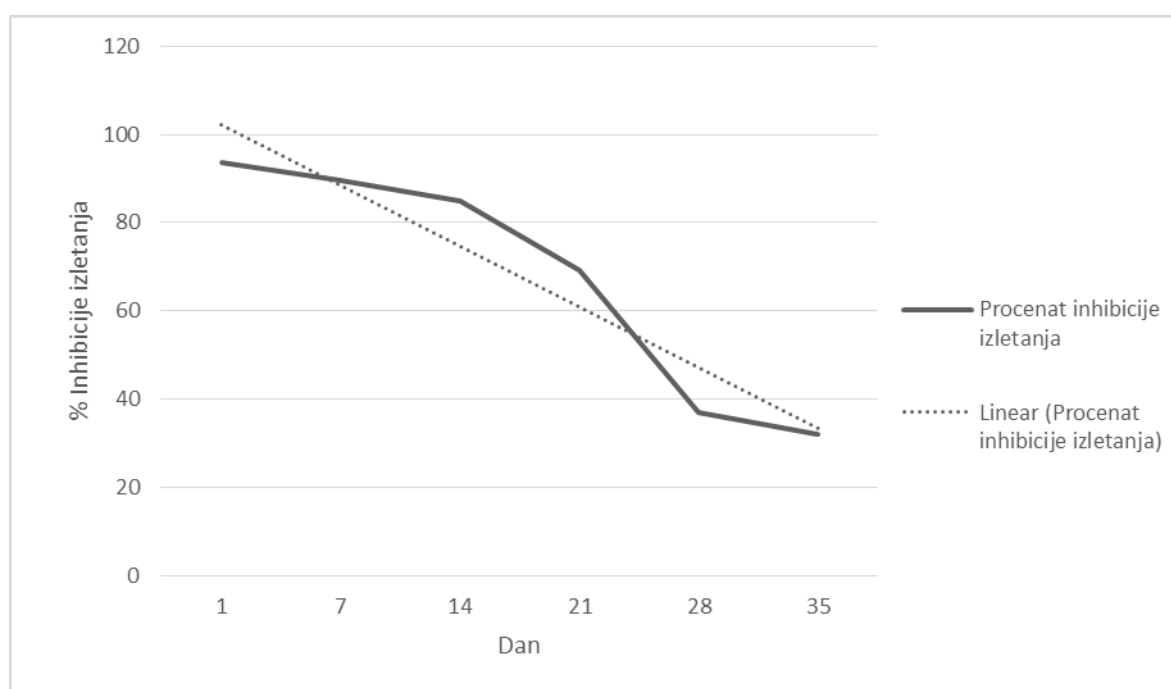
Slika 35. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih peleta sa diflubenzuronom



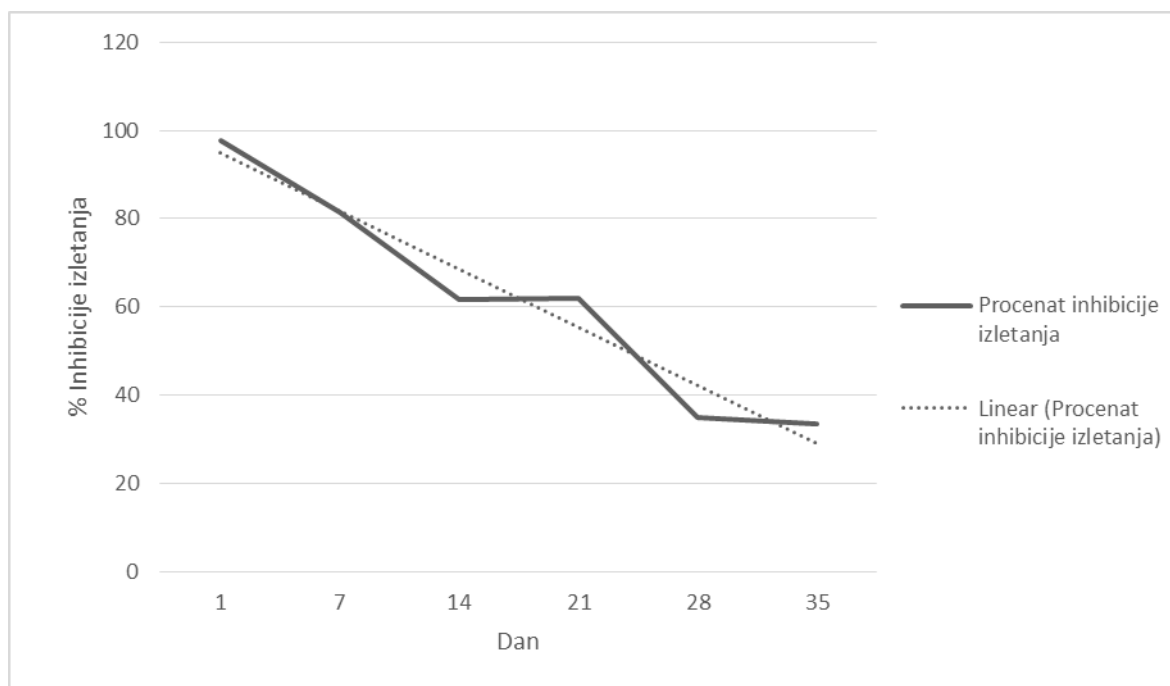
Slika 36. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonući tableta sa diflubenzuronom



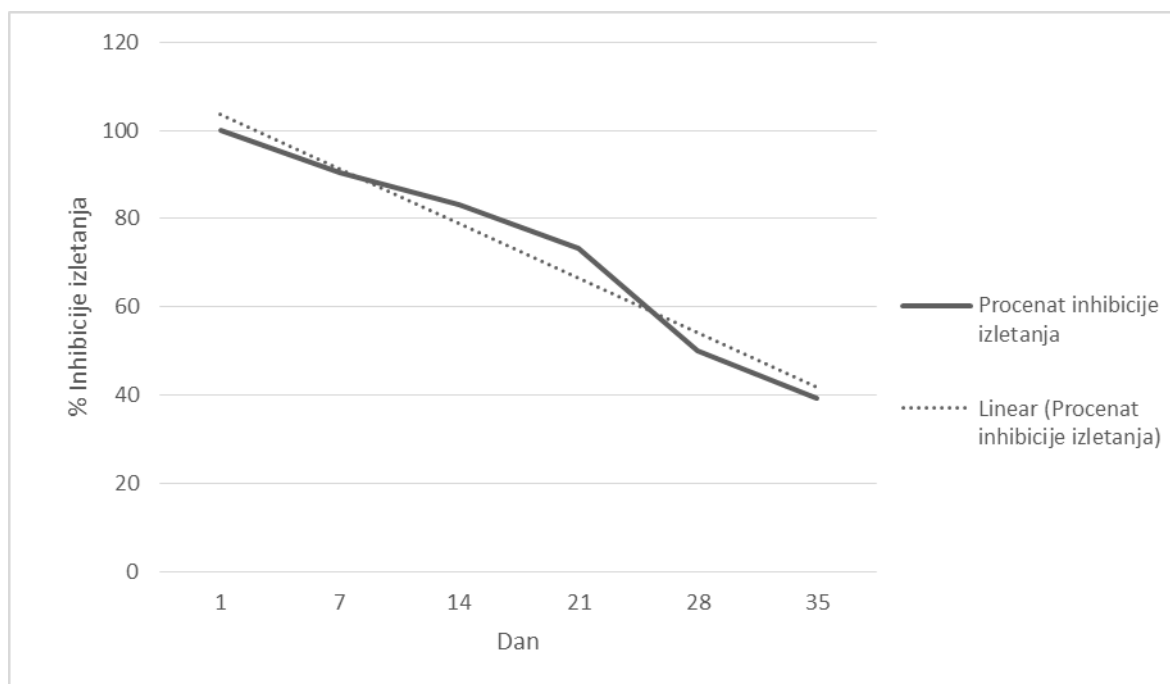
Slika 37. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih tableta sa diflubenzuronom



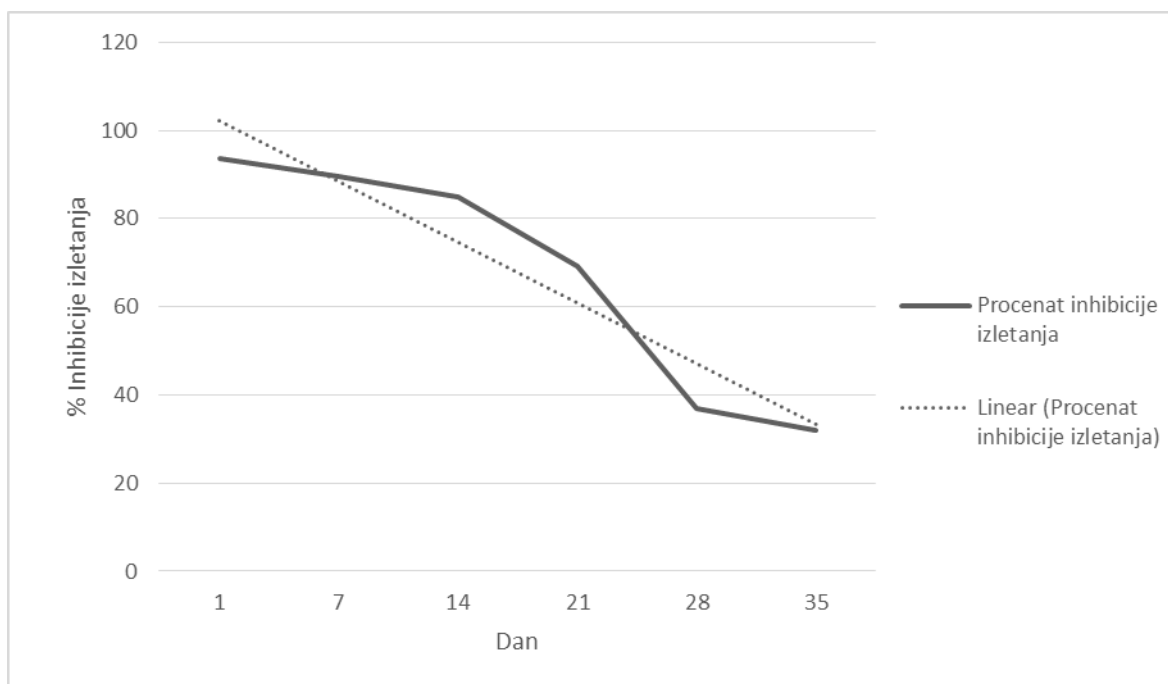
Slika 38. Procentat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih granula sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



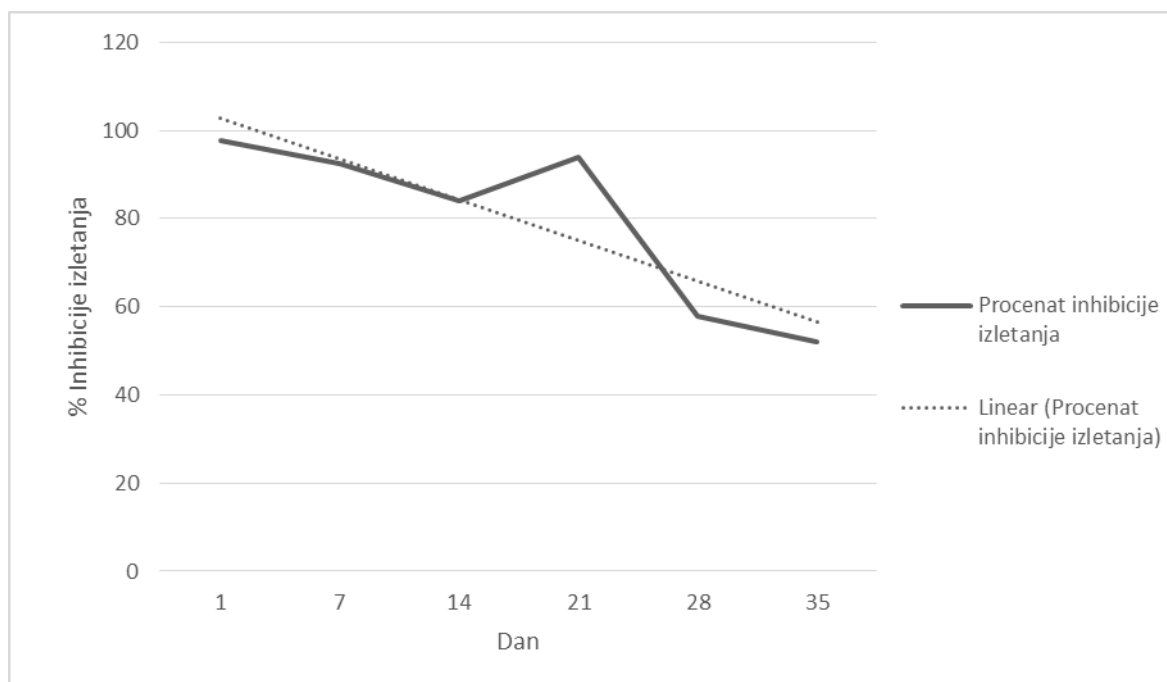
Slika 39. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih granula sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



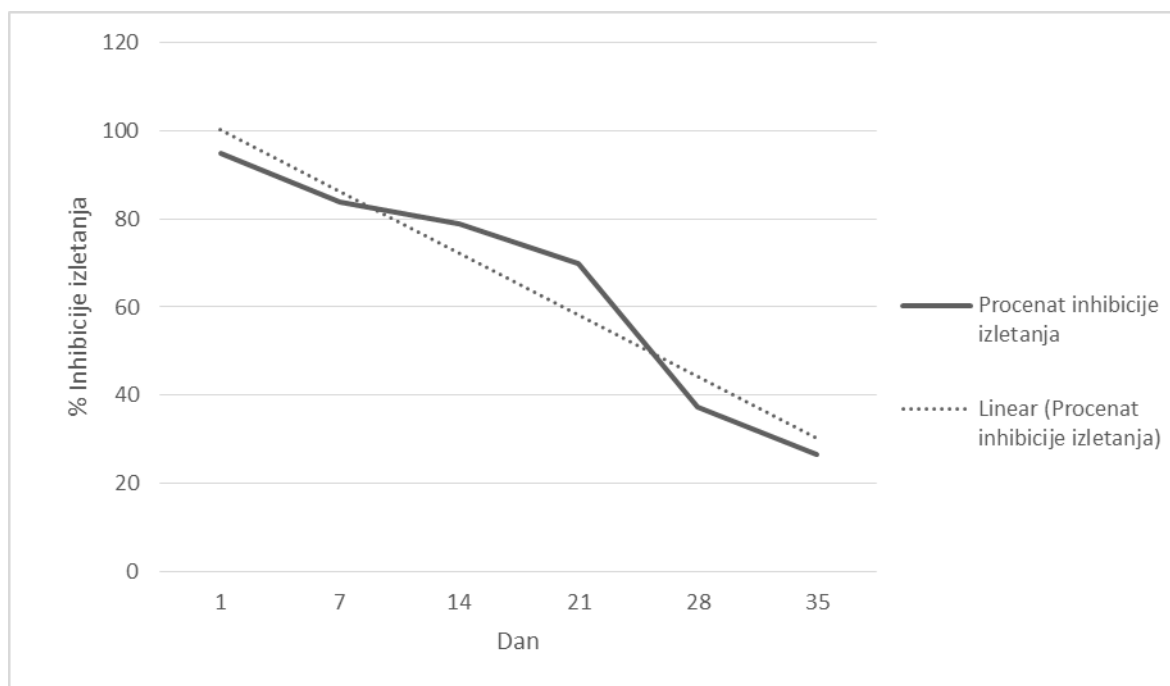
Slika 40. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih peleta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 41. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih peleta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 42. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih tableta sa diflubenzuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 43. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih tableta sa diflubenfuronom sa prikazanom linearnom linijom trenda

5.6. Analiza efekata različitih formulacija piriproksifena na larve komaraca – velika terenska ispitivanja

U ovom eksperimentu ispitivano je 6 različitih formulacija i to: plutajuće tablete, tonuće tablete, plutajuće pelete, tonuće pelete, plutajuće granule i tonuće granule. Doza aktivne supstance piriproksifen je u svim ponavljanjima bila 50 g a.s./ha. Tretirano je ukupno 2 kanala u dužini od 100 m po formulaciji sa pravljenjem razmaka od 100 m gde je na jednom kanalu ispitivano više formulacija. Sa svakog kanala uzimano je 10 uzoraka i rezultati su praćeni 1. dana, 7. dana, 14. dana, 21. dana, 28. dana i 35. dana. Praćen je broj izletelih adulta i izračunavan je % inhibicije izletanja adulta (%IE).

Tabela 28. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 1. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	97,37	97,90	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,47	1,18
	Tonuće granule	90,91	91,71	94,20	94,44	96,69	99,36	100,00	95,23	3,12
	Plivajuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće pelete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Plivajuće tablete	92,00	92,75	96,25	100,00	100,00	100,00	100,00	97,83	3,49
	Tonuće tablete	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00

Tabela 29. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 7. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	0,00
	Tonuće granule	83,33	83,55	85,66	90,45	91,48	97,92	100,00	90,02	6,03
	Plivajuće pelete	97,83	98,37	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,64	0,89
	Tonuće pelete	88,89	89,67	92,33	96,66	100,00	100,00	100,00	95,70	4,92
	Plivajuće tablete	88,00	88,52	90,62	91,67	91,67	93,17	93,55	91,10	2,03
	Tonuće tablete	86,36	87,49	92,00	93,75	95,24	99,05	100,00	93,47	4,96

Tabela 30. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 14. dana u velikim terenskim ispitivanjima

Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	81,82	83,24	87,68	91,94	98,91	100,00	100,00	92,20	7,47
	Tonuće granule	57,14	60,16	70,89	79,10	83,08	84,66	85,11	75,50	10,74
	Plivajuće pelete	90,24	90,50	92,16	95,70	99,17	100,00	100,00	95,49	4,19
	Tonuće pelete	77,27	78,78	84,56	89,12	92,66	98,39	100,00	88,73	9,91
	Plivajuće tablete	71,43	73,02	80,56	90,99	93,86	98,53	100,00	87,55	10,83
	Tonuće tablete	76,92	77,33	80,59	87,45	90,24	97,73	100,00	86,89	8,47

Tabela 31. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 21. dana u velikim terenskim ispitivanjima

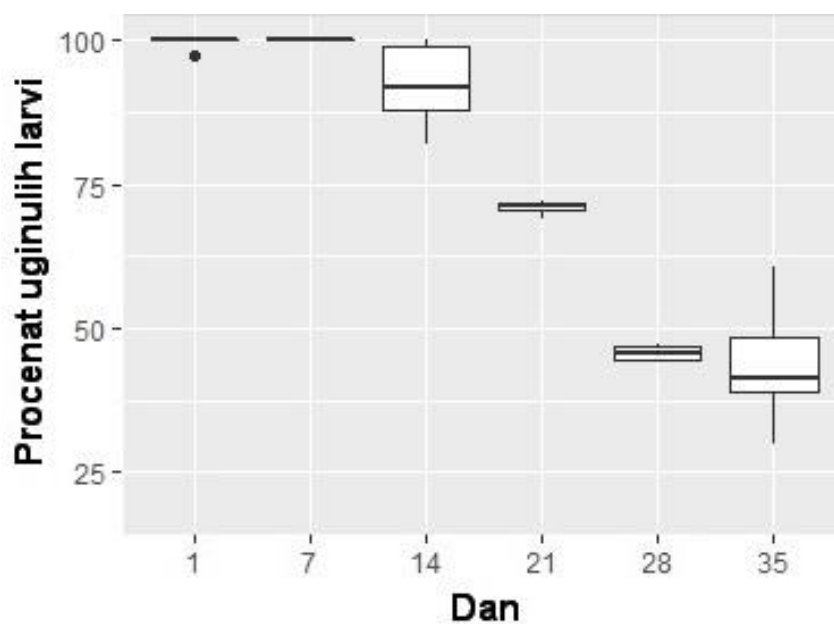
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	68,75	69,06	70,31	71,13	71,54	71,80	71,87	70,72	1,38
	Tonuće granule	62,50	63,72	67,65	70,21	76,33	78,37	78,57	71,11	6,26
	Plivajuće pelete	75,00	75,29	76,47	76,67	80,00	80,76	80,95	77,82	2,53
	Tonuće pelete	66,67	67,19	69,74	73,86	77,08	78,54	78,79	73,29	4,86
	Plivajuće tablete	66,67	67,31	69,57	71,01	78,57	85,24	86,67	74,26	7,79
	Tonuće tablete	50,00	55,71	78,57	81,48	81,82	86,96	88,24	76,02	14,97

Tabela 32. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 28. dana u velikim terenskim ispitivanjima

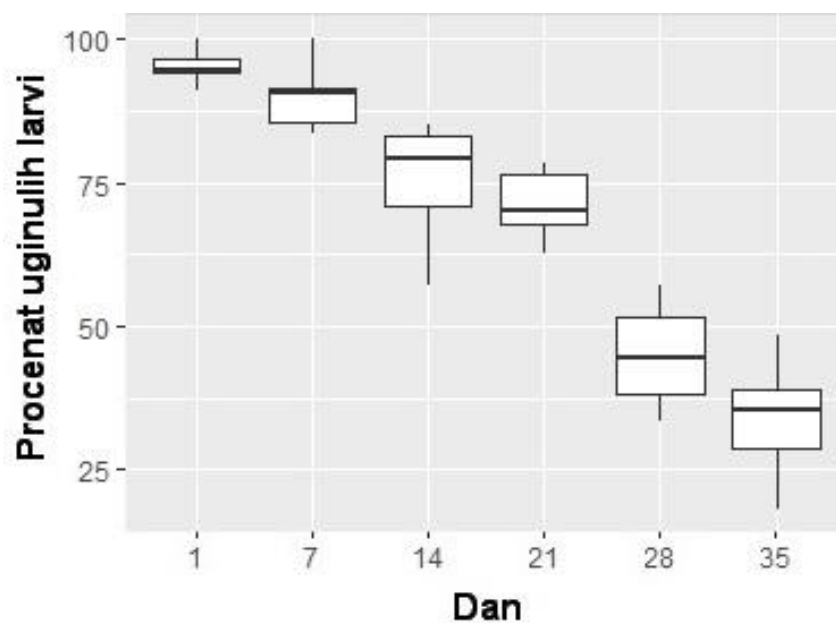
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	44,44	44,44	44,44	45,55	46,77	47,01	47,06	45,65	1,41
	Tonuće granule	33,33	34,28	38,10	44,44	51,61	56,03	57,14	44,92	9,68
	Plivajuće pelete	50,00	51,43	57,14	75,00	76,92	77,61	77,78	67,37	12,89
	Tonuće pelete	45,45	45,85	47,36	48,33	57,10	62,22	62,96	52,02	7,46
	Plivajuće tablete	60,00	60,17	60,83	72,22	87,50	97,50	100,00	76,11	19,21
	Tonuće tablete	33,33	34,72	44,16	61,82	65,91	72,92	75,00	56,25	16,47

Tabela 33. Deskriptivni statistički pokazatelji procenta uginulih larvi tretiranih piriproksifenom 35. dana u velikim terenskim ispitivanjima

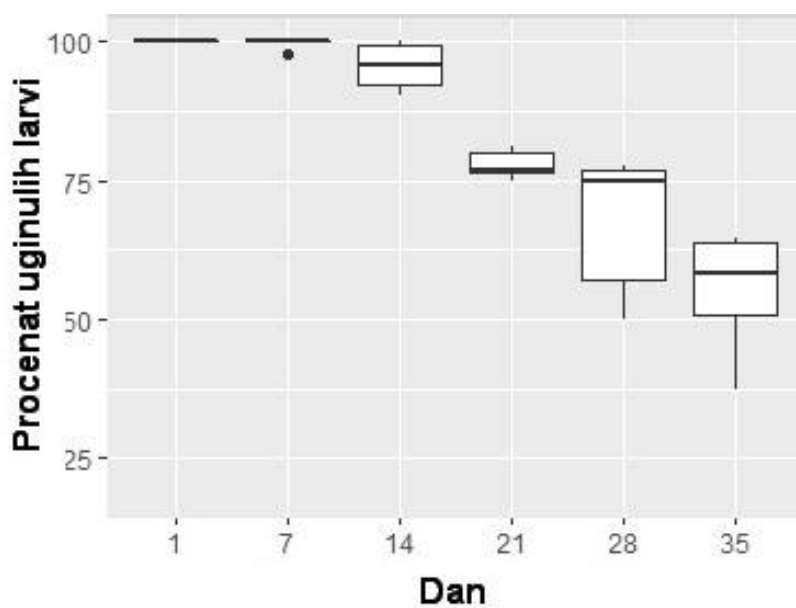
Aktivna materija	Formulacija	Minimalna vrednost	Kvantili					maksimalna vrednost	srednja vrednost	standardna devijacija
			5%	25%	50%	75%	95%			
Piriproksifen	Plivajuće granule	30,00	32,18	38,88	41,12	48,21	58,03	60,71	43,61	10,59
	Tonuće granule	18,18	20,30	28,82	35,35	38,85	46,36	48,48	34,01	10,52
	Plivajuće pelete	37,50	40,62	50,83	58,09	63,68	64,52	64,71	55,39	10,67
	Tonuće pelete	42,31	42,94	45,45	54,17	58,33	58,72	58,82	51,82	7,55
	Plivajuće tablete	47,06	47,41	49,75	56,78	62,37	73,48	76,92	58,20	11,12
	Tonuće tablete	18,75	20,71	28,57	34,78	37,93	39,10	39,39	31,88	8,44



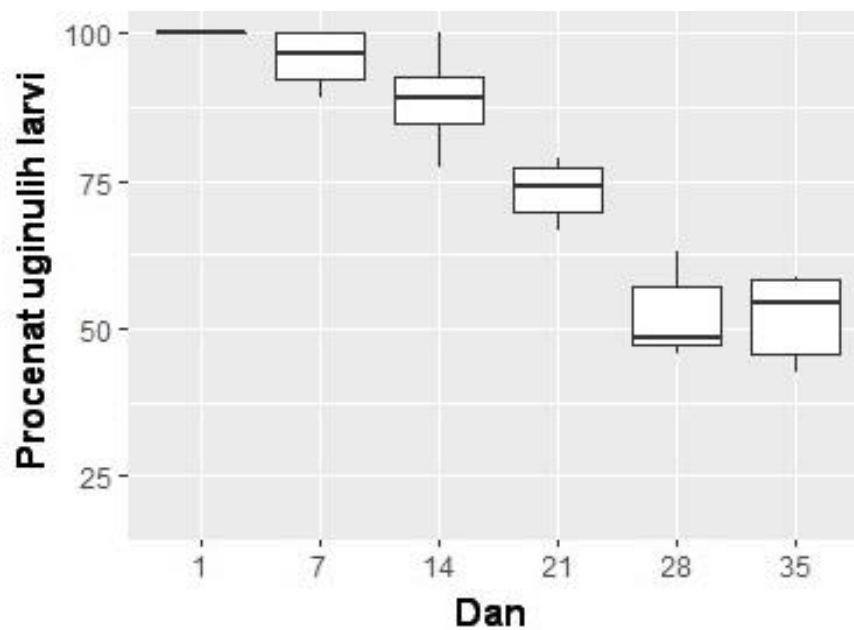
Slika 44. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih granula sa piriproksifenom



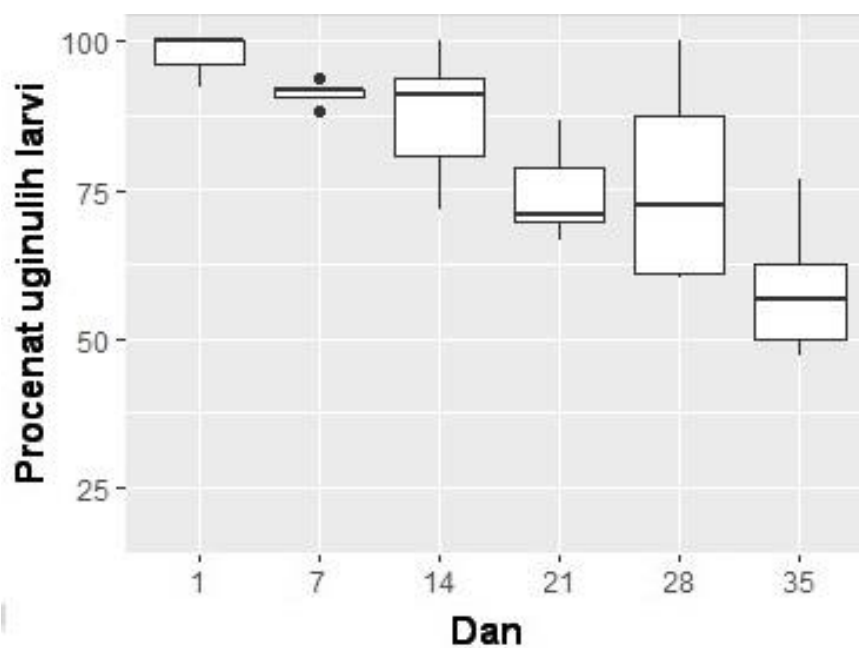
Slika 45. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih granula sa piriproksifenom



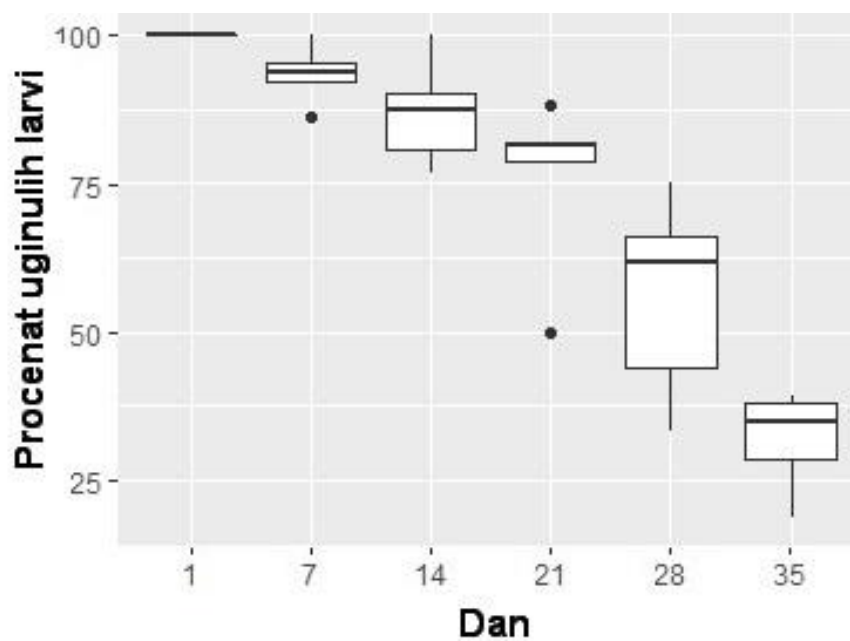
Slika 46. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih peleta sa piriproksifenom



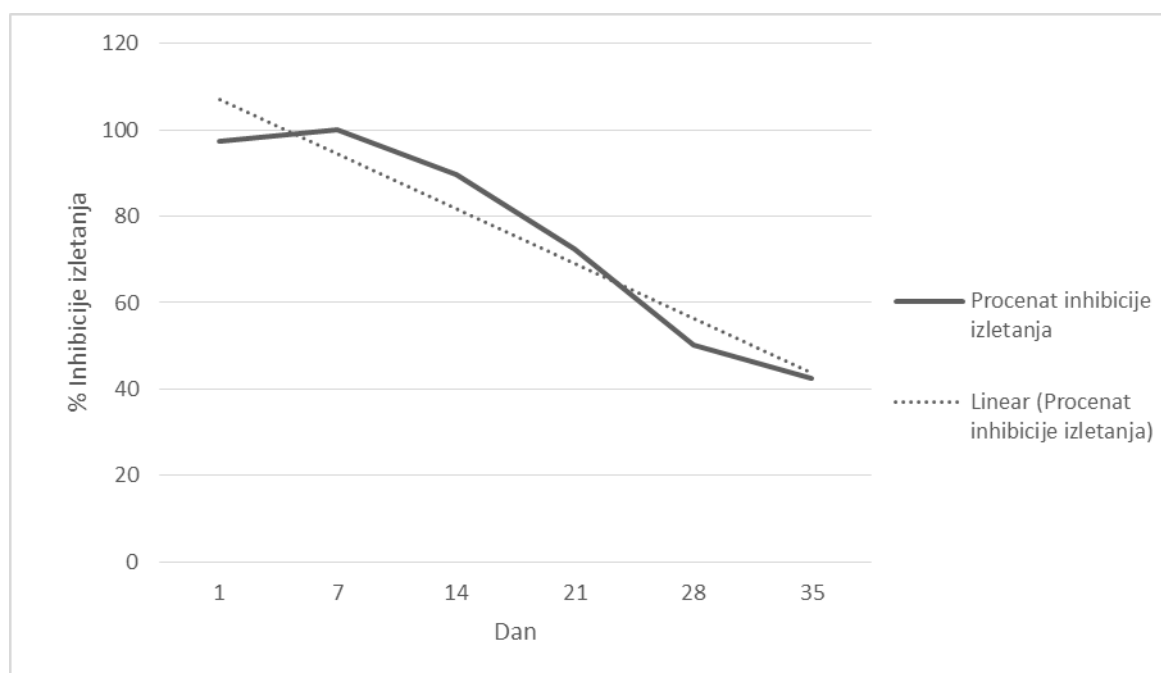
Slika 47. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonućih peleta sa piriproksifenom



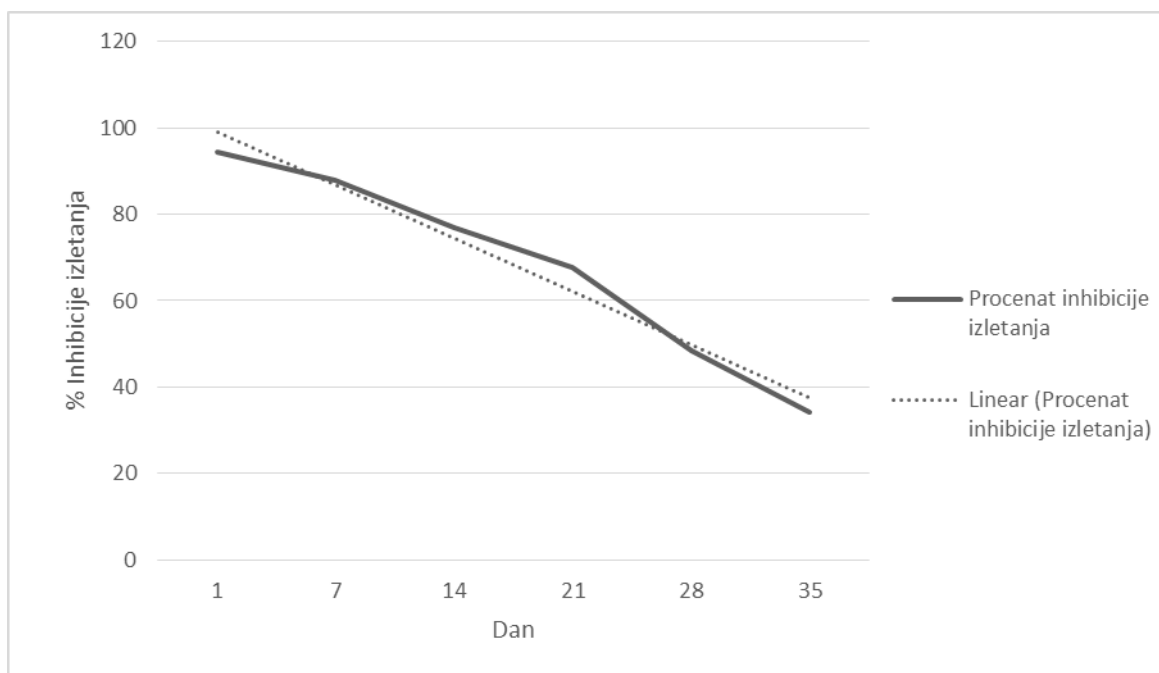
Slika 48. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji plivajućih tableta sa piriproksifenom



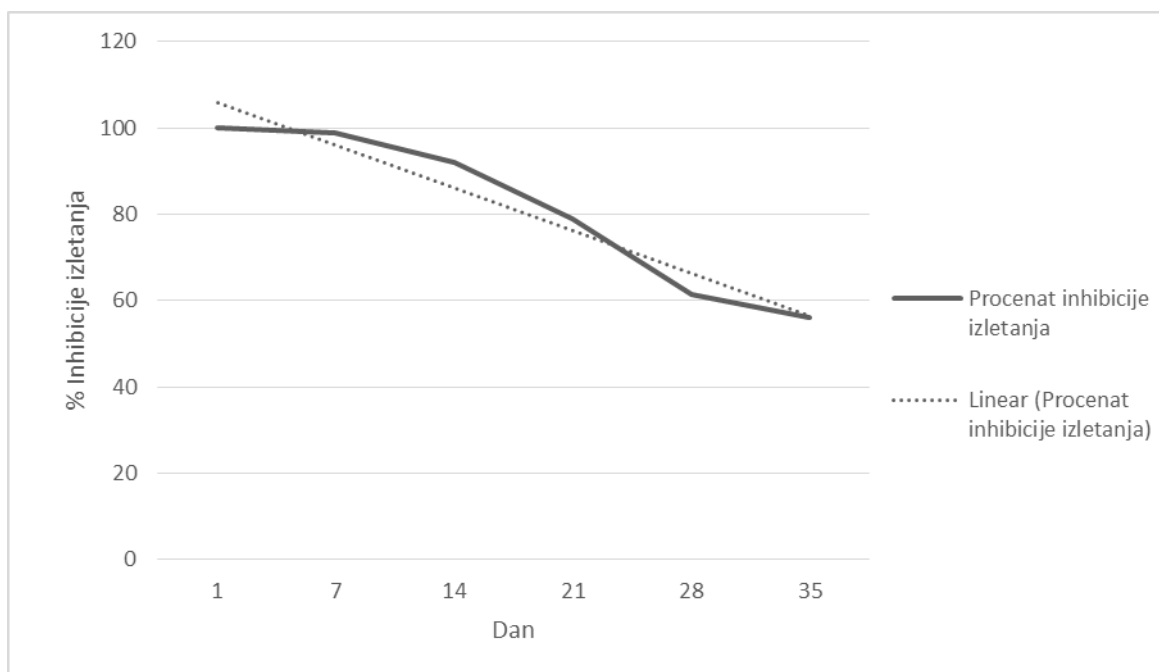
Slika 49. Dijagram procenta uginulih larvi u formulaciji tonuĉih tableta sa piriproksifenom



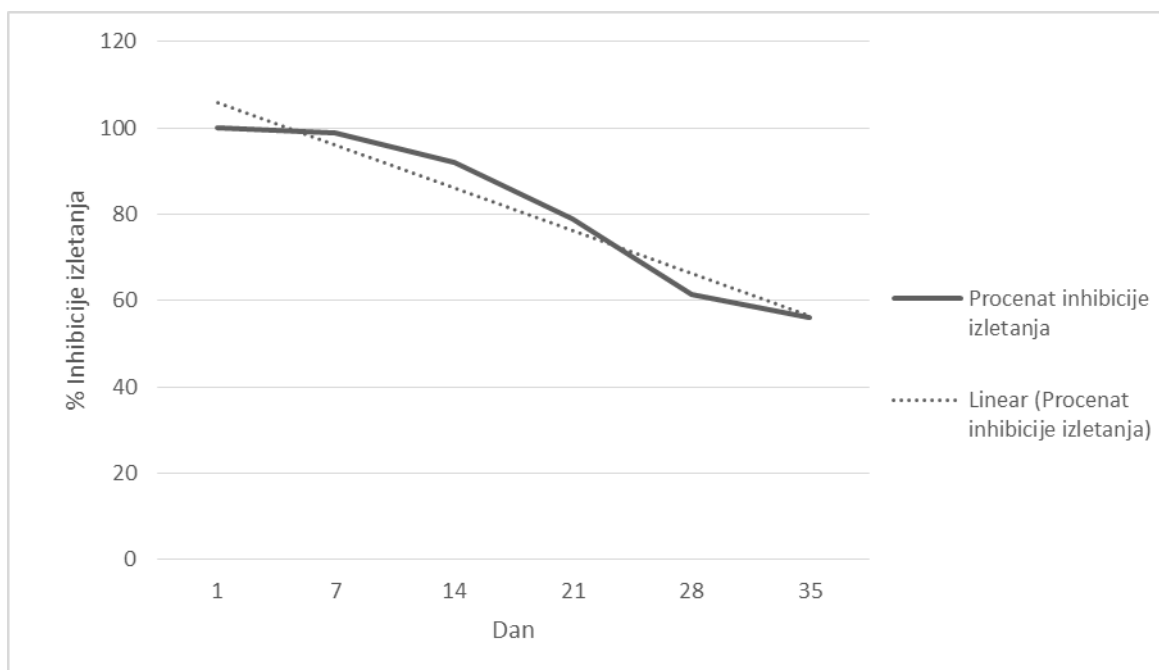
Slika 50. Procentat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajuĉih granula sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



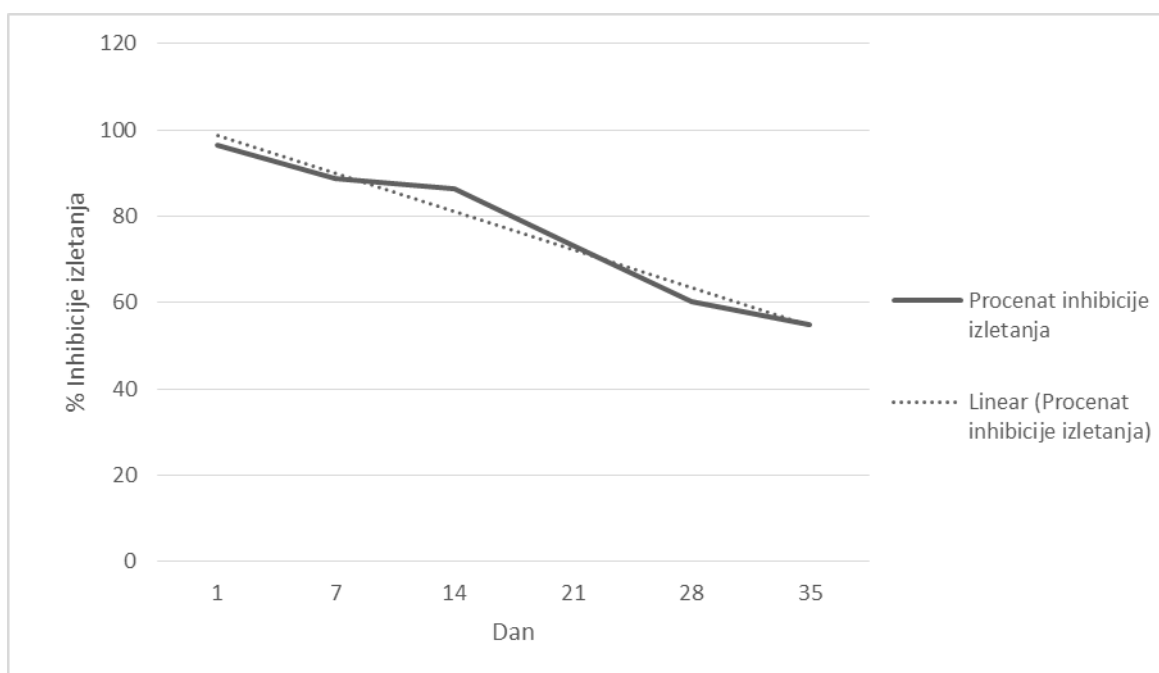
Slika 51. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih granula sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



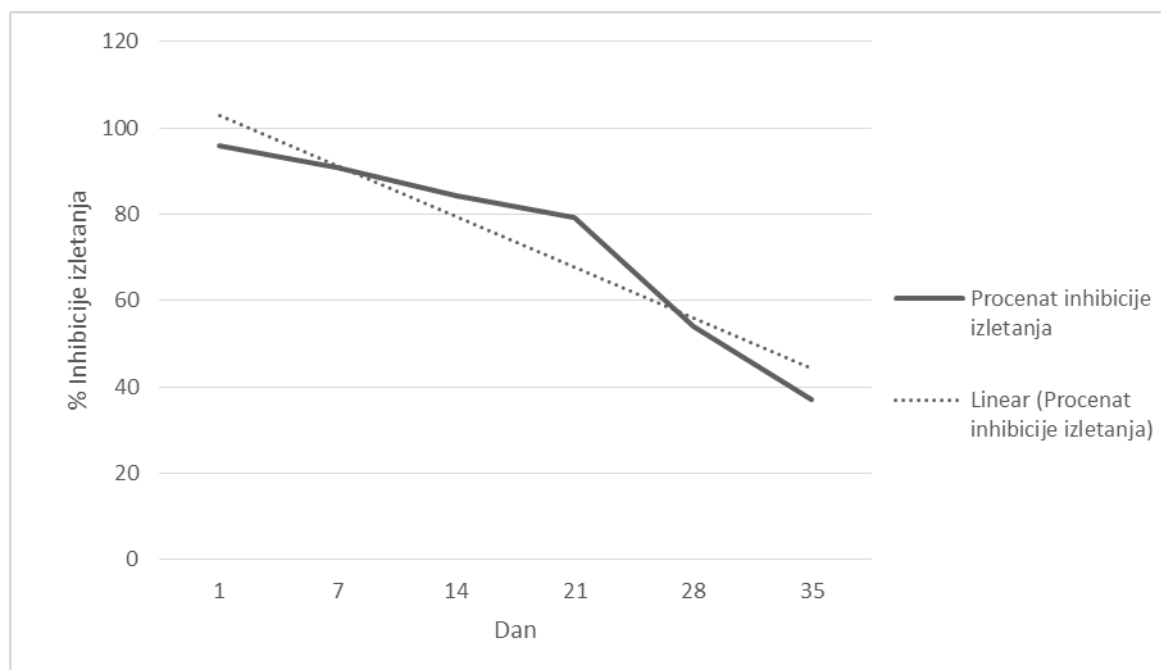
Slika 52. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih peleta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 53. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih peleta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 54. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom plivajućih tableta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda



Slika 55. Procenat inhibicije izletanja adulta iz larvi tretiranih sa formulacijom tonućih tableta sa piriproksifenom sa prikazanom linearnom linijom trenda

5.7. Analiza varijanse i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja

Tabela 34. Analiza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 1. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriproksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.999										
	Plivajuće pelete	0.999	0.999									
	Tonuće pelete	0.019	0.071	0.019								
	Plivajuće tablete	0.755	0.952	0.755	0.651							
	Tonuće tablete	0.188	0.462	0.188	0.986	0.998						
Piriproksifen	Plivajuće granule	0.999	0.999	0.999	0.071	0.952	0.462					
	Tonuće granule	0.029	0.119	0.029	0.999	0.858	0.999	0.119				
	Plivajuće pelete	0.999	0.999	0.999	0.019	0.755	0.188	0.999	0.030			
	Tonuće pelete	0.999	0.999	0.999	0.019	0.755	0.188	0.999	0.030	0.999		
	Plivajuće tablete	0.888	0.988	0.888	0.492	0.999	0.985	0.988	0.712	0.888	0.888	
	Tonuće tablete	0.999	0.999	0.999	0.029	0.806	0.245	0.999	0.047	0.999	0.999	0.916

Tabela 35. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 7. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriprosifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.004										
	Plivajuće pelete	0.486	0.634									
	Tonuće pelete	0.816	0.318	0.999								
	Plivajuće tablete	0.999	0.016	0.752	0.956							
	Tonuće tablete	0.003	0.999	0.587	0.281	0.013						
Piriprosifen	Plivajuće granule	0.974	<0.0001	0.029	0.108	0.921	<0.0001					
	Tonuće granule	0.482	0.638	0.999	0.999	0.749	0.591	0.028				
	Plivajuće pelete	0.988	<0.0001	0.041	0.146	0.955	<0.0001	0.999	0.041			
	Tonuće pelete	0.999	0.008	0.654	0.922	0.999	0.007	0.916	0.651	0.953		
	Plivajuće tablete	0.796	0.455	0.999	0.999	0.942	0.412	0.114	0.999	0.151	0.905	
	Tonuće tablete	0.997	0.099	0.988	0.999	0.999	0.085	0.517	0.987	0.602	0.999	0.999

Tabela 36. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 14. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriprosifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	<0.0001										
	Plivajuće pelete	0.999	0.0001									
	Tonuće pelete	0.999	<0.0001	0.999								
	Plivajuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999							
	Tonuće tablete	0.999	0.003	0.999	0.999	0.994						
Piriprosifen	Plivajuće granule	0.994	<0.0001	0.999	0.964	0.999	0.814					
	Tonuće granule	0.595	0.021	0.712	0.781	0.441	0.994	0.080				
	Plivajuće pelete	0.851	<0.0001	0.938	0.685	0.974	0.448	0.999	0.014			
	Tonuće pelete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.987	0.999	0.329	0.975		
	Plivajuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.997	0.999	0.469	0.924	0.999	
	Tonuće tablete	0.999	<0.0001	0.999	0.999	0.999	0.999	0.996	0.557	0.876	0.999	0.999

Tabela 37. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 21. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piriprosifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.975										
	Plivajuće pelete	0.999	0.808									
	Tonuće pelete	0.997	0.999	0.937								
	Plivajuće tablete	0.022	<0.0001	0.084	<0.0001							
	Tonuće tablete	0.999	0.450	0.999	0.694	0.141						
Piriprosifen	Plivajuće granule	0.999	0.775	0.999	0.920	0.097	0.999					
	Tonuće granule	0.999	0.585	0.999	0.820	0.046	0.999	0.999				
	Plivajuće pelete	0.844	0.068	0.982	0.173	0.658	0.999	0.987	0.982			
	Tonuće pelete	0.996	0.316	0.999	0.567	0.129	0.999	0.999	0.999	0.999		
	Plivajuće tablete	0.988	0.223	0.999	0.447	0.193	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	
	Tonuće tablete	0.951	0.148	0.998	0.319	0.435	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999

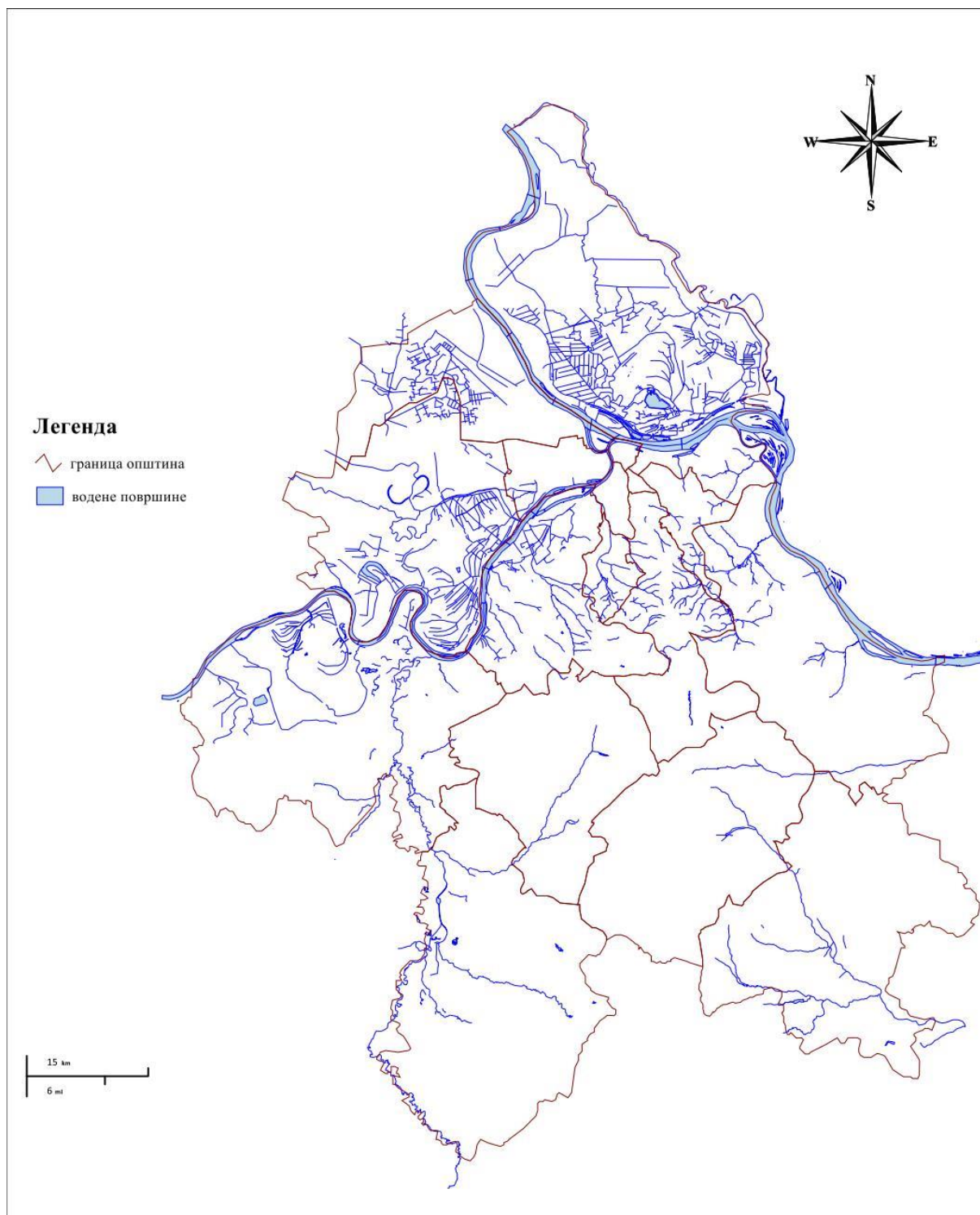
Tabela 38. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 28. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piripoksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.999										
	Plivajuće pelete	0.902	0.470									
	Tonuće pelete	0.999	0.999	0.697								
	Plivajuće tablete	0.184	0.039	0.951	0.083							
	Tonuće tablete	0.999	0.999	0.697	0.999	0.083						
Piripoksifen	Plivajuće granule	0.999	0.998	0.990	0.999	0.449	0.999					
	Tonuće granule	0.999	0.999	0.969	0.999	0.309	0.999	0.999				
	Plivajuće pelete	0.018	0.002	0.511	0.006	0.999	0.006	0.097	0.045			
	Tonuće pelete	0.961	0.613	0.999	0.822	0.892	0.821	0.998	0.991	0.381		
	Plivajuće tablete	<0.0001	<0.0001	0.046	<0.0001	0.790	<0.0001	0.005	0.002	0.979	0.028	
	Tonuće tablete	0.625	0.197	0.999	0.837	0.997	0.367	0.901	0.978	0.816	0.999	0.138

Tabela 39. Analza varijanse (ANOVA) i prikaz p - vrednosti za velika terenska ispitivanja 35. dan

Aktivna materija	Aktivna materija	Diflubenzuron						Piripoksifen				
	Formulacija	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete	Tonuće tablete	Plivajuće granule	Tonuće granule	Plivajuće pelete	Tonuće pelete	Plivajuće tablete
Diflubenzuron	Tonuće granule	0.954										
	Plivajuće pelete	0.999	0.999									
	Tonuće pelete	0.975	0.999	0.999								
	Plivajuće tablete	0.999	0.649	0.992	0.720							
	Tonuće tablete	0.989	0.999	0.999	0.999	0.811						
Piripoksifen	Plivajuće granule	0.999	0.748	0.998	0.813	0.999	0.887					
	Tonuće granule	0.932	0.999	0.998	0.999	0.595	0.999	0.696				
	Plivajuće pelete	0.158	0.003	0.073	0.004	0.633	0.010	0.395	0.002			
	Tonuće pelete	0.632	0.046	0.393	0.061	0.973	0.103	0.893	0.037	0.999		
	Plivajuće tablete	0.038	<0.0001	0.016	<0.0001	0.282	0.002	0.128	<0.0001	0.999	0.980	
	Tonuće tablete	0.780	0.999	0.971	0.999	0.389	0.999	0.475	0.999	0.001	0.018	<0.0001

5.8. GIS prikaz kanalske mreže na teritoriji Grada Beograda



Slika 56. GIS mapa kanalske mreže na teritoriji Beograda

6. DISKUSIJA

Beograd po svom geografskom položaju, klimatskim, ekološkim i socio-ekonomskim karakteristikama, kao i po svojoj veličini predstavlja vulnerabilno područje za pojavu endemskih zaraznih oboljenja, za koja su između ostalog prenosioci i komarci. Beograd kao grad koji se prostire na površini od 322.268 hektara, koji leži na dve velike reke i na oko trideset manjih vodotokova, sa neuređenim obalama, kanalima, forlandima i kubicima, predstavlja idealno stanište za razvoj komaraca. Pored navedenih vodotokova, na teritoriji Beograda je prisutan i veliki broj stajaćih vodenih površina različitog porekla, kao i brojne otvorene tekuće vodene površine. Ove vodene površine su uglavnom, u delovima grada bez kanalizacije, pretvorene u kolektore otpadnih voda. Zbog nepostojanja kanalizacione mreže, prisutan je veliki broj septičkih jama. Ove septičke jame uglavnom imaju prelivne cevi do tih vodotokova koje građani postavljaju jer se zbog visokog nivoa podzemnih voda septičke jame brzo pune i prelivaju. Pored ovoga, stalne podzemne vode i neispravne instalacije u podrumima stambenih i drugih objekata, kanalizacioni šahtovi, slivnici kišne kanalizacije, podstanice za grejanje i slični infrastrukturni objekti u kojima se može zadržavati voda su takođe idealna mesta za formiranje stalnih ili privremenih staništa komaraca. Svi navedeni problemi posmatrani sa aspekta suzbijanja komaraca daju gradu Beogradu posebnu specifičnost u odnosu na druge evropske gradove. Pored ovoga od 2012 godine je na teritoriji Beograda detektovano i prisustvo virusa Zapadnog Nila (Đorđević i sar. 2014).

Kako bi se započelo sa bilo kakvim ozbiljnim istraživanjem vezanim za komarce bilo je neophodno prvo sprovesti mapiranje svih vodenih površina na teritoriji Beograda. Mapiranjem vodenih površina obuhvaćeno je preko 3.000 km vodotokova (Slika 56). Pravljenje ovakvog kartografskog prikaza vodenih površina umnogome će olakšati monitoring larvi komaraca i detekciju njihovih glavnih izvorišta. Kada se znaju izvorišta larvi komaraca lakše je odabrati adekvatnu aktivnu supstancu koja će se koristiti, kao i formulaciju preparata za njihovo suzbijanje

imajući u vidu način aplikacije, pristupačnost terene i karakteristike same vodene površine u pogledu rastinja, dubine i protočnosti.

Na teritoriji Beograda dugi niz godina za tretman larvi na otvorenim vodenim površinama je korišćen temefos. Zbog pojave rezistencije (Ayesa i sar., 2006; Kioulos i sar., 2013), regulative EU i zabrane korišćenja organofosfata, uvedene su nove aktivne supstance za suzbijanje larvi komaraca i to prvo diflubenzuron, a za njim i piriproksifen. Kako je sve manje dozvoljenih aktivnih supstanci za upotrebu, neophodno je na najefikasniji način primeniti postojeće. Piriproksifen je pokazao visoku efikasnost protiv velikog broja insekata koji imaju medicinski značaj (Hargrove i sar., 1993; Hirano i sar., 1998; Ayesa i sar., 2006). Nešto slabiju, ali prihvatljivu efikasnost u suzbijanju larvi komaraca ima i diflubenzuron (Bellini i sar., 2009; Đorđević i sar., 2015; Yiğit i sar., 2019).

Pre terenskih ispitivanja sprovedena su laboratorijska ispitivanja pri čemu su korišćene preporučene koncentracije aktivnih supstanci (WHOPES, 2013) koje su korišćene i na terenu za suzbijanje larvi komaraca kako bi se potvrdila efikasnost ispitivanih aktivnih supstanci. Visok procenat inhibicije izletanja adulta (%IE) od preko 90 je beležen do 28. dana, kada pada na 86,00% kod larvi tretiranih diflubenzuronom i na 82,65% kod larvi tretiranih piriproksifenom. Poslednjeg 35. dana ispitivanja, procenat inhibicije izletanja je za diflubenzuron 64,00%, a za piriproksifen 63,00%. Ovakvi rezultati u pogledu slabijeg rezidualnog efekta za obe aktivne supstance u odnosu na druga istraživanja (Mulla i sar., 1988; Ali i sar., 1999; Nayar i sar., 2002; Cetin i sar., 2006) se mogu objasniti time što su obe aktivne supstance duže vremena u upotrebi na teritoriji Beograda što ukazuje na moguću pojavu rezistencije na njih. Laboratorijska ispitivanja su nam potvrdila osetljivost larvi komaraca donetih sa terena na obe korišćene aktivne supstance i opravdale nastavak istraživanja u malim i velikim terenskim uslovima.

U daljem toku istraživanja pripremom plivajućih i tonućih formulacija želeli smo da utvrdimo efikasnost ovih formulacija na larve komaraca *Culex pipiens* u terenskim uslovima, kao i to da li postoji razlika u efikasnosti između plivajućih i tonućih formulacija. Mala terenska ispitivanja su dizajnirana tako da imitiraju uslove slične uslovima koji se javljaju u manjim vodenim recipientima gde ženke komaraca

vrste *Culex pipiens* nalaze pogodne uslove za polaganje jaja. Dodatkom suve deteline u bazene sa vodom stvoreni su idealni uslovi i visoka atraktivnost za ženke komaraca da tu polažu jaja. Čim je sezona *Culex* komaraca krenula zapažen je veliki broj čunića sa položenim jajima, čime je u eksperimentu uvek bilo dovoljno larvi za ispitivanje.

Mala terenska ispitivanja u bazenima su pokazala da sve formulacije sa diflubenzuronom imaju dobru efikasnost preko 80% prve dve nedelje, osim tonućih granula gde je taj procenat ispod 80% (Slika 7). Efikasnost formulacija sa diflubenzuronom pada 21. dana ispod 75% za sve formulacije, osim plivajućih peleta i tableta (Slika 10 i 12) koje zadržavaju efikasnost preko 80%. Tokom 28. i 35. dana sve tonuće formulacije pokazuju znatan pad efikasnosti ispod 50%, osim kod tonućih peleta gde je efikasnost 28. dana malo preko 50% (Slika 9). Jedino plivajuće tablete sa diflubenzuronom su nakon 35 dana pokazale efikasnost preko 50% (Slika 13). U istraživanju Sadanandane i sar. (2012), tri formulacije diflubenzurona i to WP, GR i T pokazale su najbolju efikasnost u koncentracijama koje smo i mi koristili i to 100 g a.s./ha. Gledano po formulacijama WP i GR formulacije su dale preko 80% efikasnosti od 7. do 21. dana. Tablete su pokazale značajno nižu efikasnost. Rezidualni efekat od preko 50% koji je postignut sa ispitivanim formulacijama se kretao za tablete oko 17 dana, za WP formulaciju oko 28 dana i za granule i do 35 dana.

Formulacije sa piriproksifenom su u malim terenskim ispitivanjima u prvih 14 dana pokazale visoku efikasnost, preko 80%, osim u slučaju tonućih granula (Slika 20), što je takođe bio slučaj i kod ove formulacije sa diflubenzuronom. Nakon tri nedelje utvrđeno je da sve formulacije zadržavaju efikasnost preko 75%, osim tonućih granula (Slika 20) gde efikasnost pada na 70,45%. Posmatrajući 28. i 35. dan, najbolju efikasnost pokazuju plivajuće pelete čija je efikasnost bila 65,92% odnosno 61,74% (Slika 23). Najlošije u istom vremenskom periodu su se pokazale tonuće granule, gde je efikasnost bila svega 54,10% 28. dana i 45,69% 35. dan (Slika 20). Ukupno gledano najlošiji rezidualni efekat 35. dana imaju tonuće tablete sa efikasnošću od 40,46% (Slika 24). U sličnom istraživanju u septičkim jamama i drenažnim kanalima sa višim primenjivanim koncentracijama od onih koje smo mi

koristili, Jambulingam i sar. (2008) sa granulama piriproksifena u koncentraciji od 100 g a.s./ha nisu postigli zadovoljavajući efekat tj. posle 2 nedelje efikasnost je bila ispod 30%. Viša efikasnost u pogledu procenta inhibicije izletanja je postignuta sa koncentracijama od 250 g i 500 g a.s./ha i ona je iznosila preko 80% u narednih 20 nedelja. Nešto drugačije rezultate su dobili u sepričkim jamama gde je koncentracija od 100 g a.s./ha imala efikasnost preko 80% šest nedelja nakon tretmana, ali napominjemo da je to duplo veća doza od one koje smo mi koristili, a koja je kao maksimalna preporučena od strane WHO (WHOPES, 2013).

Gledajući procenat inhibicije izletanja komaraca za obe aktivne supstance u svim formulacijama 28 i 35 dana od tretmana najlošiji efekat pokazuju tonuće pelete sa diflubenzuronom (Slika 17) i tonuće granule sa piriproksifenom (Slika 31) gde je procenat inhibicije izletanja ispod 40. Najbolje se pokazala plivajuća peleta sa piriproksifenom gde je procenat inhibicije izletanja iznosio 56,2 (Slika 28).

Kada uporedimo sve formulacije tokom malih terenskih ispitivanja, analiza varijanse (ANOVA), pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika u njihovoj efikasnosti ($p = 0,298$). *Post hoc* multiplom analizom je utvrđeno da 14. dana tonuće granule sa diflubenzuronom imaju statistički značajnu razliku u efikasnosti u odnosu na sve ostale formulacije (Tabela 18). Ista situacija se javlja i 28. dana kada nema statističke značajnosti ($p=0,131$) samo između tonućih granula i tableta sa diflubenzuronom. Ovakvi rezultati pokazuju jako nisku efikasnost tonućih granula sa diflubenzuronom u odnosu na ostale formulacije u malim terenskim ispitivanjima.

Imajući u vidu da se radi o malim terenskim ispitivanjima koja simuliraju stanje na terenu, u manjim vodenim recipijentima, a koji predstavljaju izvorište komaraca poput bara, kanti, buradi, neuređenih fontana i jezeraca, kišnih kanizacionih otvora i slično za suzbijanje komarca na ovim staništima mogu se preporučiti formulacije sa piriproksifenom, ali ne treba isključiti ni upotrebu formulacija sa diflubenzuronom. Ono što nikako ne treba raditi je upotreba obe aktivne supstance u isto vreme, već je najbolje na 5-6 godina vršiti smenu aktivnih supstanci koje se koriste na terenu, kako bi se prevenirala pojava rezistencije na primenjene insekticide (Berticat i sar., 2008; WHO, 2010). Postoje slučajevi kada se

mogu kombinovati dve ili više aktivnih supstanci, ali se tada radi o supstancama koje imaju različit mehanizam dejstva i zajedno imaju sinergistički efekat. Najbolji rezultati u kombinaciji više aktivnih supstanci se postižu sa juvenilnim hormonima i *Bacillus thuringiensis israelensis* (Receveur i sar., 2018). Imajući u vidu da diflubenzuron i piriproksifen imaju sličan način delovanja (Caixeta i sar., 2016; Porretta i sar., 2019) rezultati naših istraživanja su pokazali da za efikasne tretmane komaraca treba koristiti plivajuće formulacije i to najbolje pelete ili tablete, dok formulacije u vidu granula treba koristiti samo u sličajevima nemogućnosti primene peleta i tableta. Tonuće formulacije takođe ne treba isključivati i pored slabijih efekata, jer njihova prednost se ogleda u tome da njihovom aplikacijom slabije dolazi do drifta tj. pomeranja sa mesta aplikacije. Ovo je naročito slučaj pri tretmanu slivnika kišne kanalizacije gde primenom plivajućih formulacija može doći do oticanja formulacije pri kiši ili prilikom pranja ulica, što nije sličaj sa tonućim formulacijama koje će se zadržati na mestu aplikacije.

Velika terenska ispitivanja su rađena u realnim uslovima na kanalima koji uglavnom reprezentuju većinu vodenih površina na teritoriji Beograda. Čest je slučaj kao i na ovim kanalima da im je priobalje neuređeno sa nepokošenom travom koju uglavnom čini barsko rastinje u vidu šaše (*Carex spp.*, fam. *Cyperaceae*) i rogoza (*Typha angustifolia*, fam. *Typhaceae*). Često se u kanalima na površini vode može sresti i sočivica (*Lemna spp.* fam. *Lemnaceae*) koja čak može prekriti i celu površinu kanala pa je potrebno obratiti pažnju na barsko rastinje pri odabiru formulacije kojom će se sprovesti larvicidni tretman. Teže i kompaktnije formulacije poput peleta će se lakše probiti kroz barsko rastinje i doći do vode pri ručnom rasturanju. Takođe plivajuće formulacije mogu da se „zaglave“ uz barsko rastinje čime im se pojačava efekat, jer su to mesta gde larve komaraca najčešće borave.

Velika terenska ispitivanja formulacija sa diflubenzuronom na kanalima su pokazala da nakon dve nedelje od tretmana, najslabiju efikasnost imaju tonuće granule gde je efikasnost bila svega 55,25% (Slika 32), dok je najviša efikasnost postignuta sa plivajućim peletama od 86,89% (Slika 35) i plivajućim tabletama 88,38% (Slika 37). Formulacija plivajućih tableta sa diflubenzuronom je nakon 21. dana pokazala jednako dobru efikasnost, kao i u prethodnim merenjima koja je

iznosila 88,87% (Slika 37), dok se kod ostalih formulacija efikasnost kretala između 60,00% i 72,00%. Tokom 28. i 35. dana od tretmana tonuće granule pokazuju najslabiju efikasnost od 39,48, odnosno 34,41% (Slika 32). Jedino plivajuće pelete i plivajuće tablete 28. dana imaju efikasnost preko 50% i ona za plivajuće pelete iznosi 53,28% (Slika 35), a za plivajuće tablete iznosi 62,78% (Slika 37). Ni jedna fomulacija sa diflubenzuronom 35. dana nakon tretmana nije postigla efikasnost preko 50%.

Ansari i sar. (2005) su aplikovali dve doze koje odgovaraju 40 g i 80 g a.s./ha rastvorenog diflubenzurona na različitim vodenim površinama između ostalog i na irigacionim kanalima. Do pada efikasnosti ispod 80% dolazi tek nakon 5 nedelja. Msangi i sar. (2011) su ispitivali 3 formulacije diflubenzurona u terenskim uslovima. Ispitivane su tablete, rastvorljivi prah i granule. Ispitivanja su vršena u terenskim uslovima gde su najprisutnije bile larve *Anopheles gambiae* i *Culex quinquefasciatus*. Sa sve tri formulacije su postignuti dobri rezultati i rezidualna efikasnost je iznosila oko 3-4 nedelje. Nakon tog vremena je opet dolazilo da pada efikasnosti.

Formulacije sa piriproksifenom su nakon 14. dana od tretmana pokazale solidnu efikasnost. Najslabije se pokazala formulacija tonućih granula sa efikasnošću od 75,5% (Slika 45). Treće nedelje od tretmana sve formulacije sa piriproksifenom pokazuju ujednačenu efikasnost između 70,72% i 77,82% (Tabela 31). Četvrte nedelje od tretmana najlošiju efikasnost imaju tonuće granule sa 44,92% (Slika 45), dok najvišu efikasnost pokazuju plivajuće tablete sa 76,11% (Slika 48). Ispod 50% efikasnosti pored tonućih granula, dale su i plivajuće granule sa efikasnošću od 45,65% (Slika 44). Nakon 35 dana od tretmana formulacijama sa piriproksifenom efikasnost preko 50% imaju plivajuće tablete sa 58,20% (Slika 48), zatim plivajuće pelete sa 55,38% (Slika 46) i tonuće pelete sa 51,82% (Slika. 47) Najslabiju efikasnost su pokazale tonuće granule sa efikasnošću od 34,01%.

Najviši procenat inhibicije izletanja nakon 35 dana od tretmana od formulacija sa diflbenzuronom imale su plivajuće tablete sa 51,98 (Slika 54), dok je najmanji %IE bio kod tonućih tableta sa 26,42 (Slika 55). Kod formulacija sa piriproksifenom 35. dana od tretmana najniži procenat inhibicije izletanja pokazala je formulacija tonućih granula sa 34,13 (Slika 51), dok je najviši procenat inhibicije izletanja imala formulacija plivajućih peleta sa 55,97 (Slika 52).

U terenskom istraživanju sprovedenom od strane Mian i sar. (2017) sa granulama piriproksifena (0,5%) postignut je procenat inhibicije izletanja od 100% za prve tri nedelje na larve *Culex quinquefasciatus*. Nakon tog vremena procenat inhibicije izletanja pada i četvrte nedelje od tretmana iznosi 69-85%, a pete nedelje 55-85%. Terensko ispitivanje je rađeno u slivnicima kišne kanalizacije na relativno ograničenom prostoru bez ikakvog protoka vode pa je to za rezultat imalo visoku (100%) inhibiciju izletanja u prve 3 nedelje. Kamimura i Arakawa (1991) su takođe sa granulama piriproksifena postigli odlične rezultate u tretmanu larvi *Culex pipiens pallens* i *Culex tritaeniorhynchus*. Oni su između ostalog vršili i tretman irigacionog kanala sa 0,01 ppm piriproksifena u vidu granula. Efikasnost na ovom kanalu je za 4-22 dana nakon tretmana iznosila preko 98%, nakon čega dolazi do značajnog pada pa tako 36 dana efikasnost je iznosila od 16,2% do 52,00%.

Kada uporedimo sve formulacije tokom velikih terenskih ispitivanja, analiza varijanse (ANOVA), pokazuje da postoji statistički značajna razlika u njihovoj efikasnosti ($p = 0,0031$). Post hoc multiplom analizom vidimo da 14. dana od tretmana tonuće granule sa diflubenzuronom pokazuju statistički značajnu razliku u poređenju sa svim ostalim formulacijama sa obe aktivne supstance (Tabela 36). Takođe tonuće granule sa piriproksifenom imaju statistički značajnu razliku u odnosu na plivajuće pelete sa piriproksifenom ($p=0,014$). Nakon 28 dana od tretmana vidimo da plivajuće tablete sa piriproksifenom imaju statistički značajnu razliku u efikasnosti u odnosu na ostale formulacije obe aktivne supstance, osim za plivajuće pelete sa diflubenzuronom i piriproksifenom (Tabela 38). Slična situacija se zapaža i 35. dana od tretmana gde plivajuće tablete sa piriproksifenom pokazuju statistički značajnu razliku u efikasnosti sa svim ostalim tonućim formulacijama i aktivnim supstancama, osim sa tonućim peletama sa piriproksifenom.

Velika terenska ispitivanja su pokazala da formulacije sa piriproksifenom pokazuju bolju efikasnost od formulacija sa diflubenzuronom, što i jeste u skladu sa literaturnim podacima. Takođe ono što daje prednost piriproksifenu u odnosu na diflubenzuron je da se on kraće koristi na teritoriji Beograda od diflubenzurona, pa je i potencijalni razvoj rezistencije manji.

Što se primenljivanih formulacija tiče u terenskim ispitivanjima na kanalima plivajuće formulacije su pokazale bolju efikasnost. Za ovo se može reći da je novi pristup u pravljenju formulacija za larvicidni tretman komaraca, jer se u ponudi na tržištu dominantno sreću larvicidi koji nemaju mogućnost da ostanu na površini vode. U Srbiji su to uglavnom formulacije gde je aktivna supstanca nanešena na granule zeolita ili peska, što je bio ranije slučaj. Činjenica je da teže granule (sa zeolitom) radnicima na terenu koji ručno rasturaju granule omogućava lakšu i precizniju aplikaciju od granula kočanjke koje su lakše i lakše ih nosi vetar. Ali nove formulacije u vidu peleta ili tableta nemaju taj problem i podjednako im je laka i precizna aplikacija kao i granulama sa zeolitom, ali za razliku od njih ostaju na površini vode nakon tretmana.

Sumiranjem rezultata malih i velikih terenskih ispitivanja možemo da sagledamo da najslabiju efikasnost imaju tonuće formulacije. Ovi rezultati se mogu objasniti time da larve najviše vremena provode na površini vode zbog disanja, a na dno silaze samo radi ishrane, ako hrane nema na površini, i kada su uplašene. Tonuće formulacije imaju slabiji rezidualni efekat u odnosu na plivajuće i iz razloga što je dno često muljevito i sa puno detritusa pa često za kratko vreme budu pokrivene muljem čime se umanjuje oslobađanje aktivne supstance. Za razliku od tonućih, plivajuće formulacije ostaju na površini vode ili u gornjim slojevima vode gde ostvaruju bliski kontakt sa larvama. Imajući u vidu da su pelete i tablete pravljene od ekoloških materijala koji ne zagađuju životnu sredinu, a takođe mogu i da posluže kao hrana za larve čime se postiže mnogo bliži kontakt larvi komaraca i aktivne supstance.

Postoji velika potreba za razvojem novih sredstava i proizvoda za suzbijanje *Aedes aegypti* i drugih važnih vrsta komaraca (Mulla i sar., 2003, Pavela i sar., 2019). Piriproksifen i diflubenzuron se dva veoma efikasna regulatora rasta insekata koji su dostupni za suzbijanje larvi komaraca (Mian i Mulla, 1982; Mulla i sar., 1986; Ayesa i sar., 2006), ali ima malo istraživanja na temu novih formulacija kako bi se postigli bolji efekti sa postojećim aktivnim supstancama. Ovo je bitno iz razloga što istraživanja i sinteza novih aktivnih supstanci za suzbijanje larvi komaraca traje izuzetno dugo i iziskuje velike količine novca, dok razvoj novih formulacija može da

se uradi za manje vremena i sa manje para. Takođe nove formulacije moraju da budu ekološki prihvatljive i ne smeju sadržati materije koje mogu štetiti životnoj sredini (Tilak i sar., 2022).

Problem sa tretmanom komaraca na teritoriji Beograda je taj da se u najvećoj meri koriste tonuće formulacije u vidu granula mahom bazirane na granulama zeolita koje su lake za aplikaciju (Đorđević i sar., 2015), ali kao što se vidi iz ovog istraživanja imaju najslabiju efikasnost. Iz ovog razloga je u narednom periodu neophodno preći na nove formulacije koje će se bazirati na plivajućim formulacijama, jer se na taj način postižu najoptimalniji efekti uz zadovoljavajući rezidualni efekat.

7. ZAKLJUČCI

Na osnovu sprovedenih laboratorijskih, malih i velikih terenskih ispitivanja efikasnosti različitih formulacija na bazi diflubenzurona i piriproksifena u suzbijanju larvi komaraca *Culex pipiens* mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. U laboratorijskim uslovima diflubenzuron i piriproksifen su pokazali zadovoljavajuću efikasnost.
2. Na osnovu ispitivanja biološke efikasnosti u malim terenskim istraživanjima najbolji rezidualni efekat nakon 35 dana je pokazala formulacija plivajućih tableta na bazi diflubenzurona od 53,33% i formulacija plivajućih peleta na bazi piriproksifena od 61,74%.
3. Na osnovu ispitivanja biološke efikasnosti u malim terenskim istraživanjima najslabiji rezidualni efekat nakon 35 dana je pokazala formulacija tonućih peleta na bazi diflubenzurona od 30,37% i formulacija tonućih tableta na bazi piriproksifena od 40,46%.
4. Na osnovu ispitivanja biološke efikasnosti u velikim terenskim istraživanjima najbolji rezidualni efekat nakon 35 dana je pokazala formulacija plivajućih tableta na bazi diflubenzurona od 44,48% i formulacija plivajućih tableta na bazi piriproksifena od 58,20%.
5. Na osnovu ispitivanja biološke efikasnosti u velikim terenskim istraživanjima najslabiji rezidualni efekat nakon 35 dana je pokazala formulacija tonućih granula na bazi diflubenzurona od 34,41% i formulacija tonućih tableta na bazi piriproksifena od 31,88%.
6. Uporednim ispitivanjem aktivnih supstanci utvrđeno je da su formulacije na bazi piriproksifena efikasnije u suzbijanju larvi komaraca *Culex pipiens* od formulacija na bazi diflubenzurona.
7. Uporednim ispitivanjem formulacija sa aspekta efikasnosti u vodenoj sredini utvrđeno je da su plivajuće formulacije efikasnije u suzbijanju larvi komaraca *Culex pipiens* od tonućih formulacija.

8. Prilikom odabira aktivne supstance koja će se koristiti na terenu neophodno je prvo utvrditi biološku efikasnost iste na larve komaraca i na osnovu dobijenih rezultata izvršiti odabir formulacije koja daje bolje efekte.
9. U cilju što efikasnijeg suzbijanja larvi komaraca na otvorenim vodenim površinama u skladu sa dobijenim rezultatima, preporučuje se upotreba plivajućih formulacija larvicida na bazi aktivnih supstanci koje obezbeđuju optimalni inicijalni i produženi rezidualni efekat u odnosu na tonuće formulacije.

8. LITERATURA

- Abbott W.A.S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 (2) 265–267.
- Adamovic Z.R., Gligic A. (1980) Habitats and distribution of the mosquito species processed in the Arbovirus isolation attempts in Serbia (Yugoslavia). In: Arboviruses in the Mediterranean Countries, (Vesjenjak-Hirjan J, Porterfield JS, Arslanagic E eds), Zbl Bakt Suppl 9, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp 251–256
- Ali A., Chowdhury M.A., Hossain M.I., Ul-Ameen M., HABIBA³ D.B., ASLAM A.F.M. (1999) Laboratory evaluation of selected larvicides and insect growth regulators against field-collected *Culex quinquefasciatus* larvae from urban Dhaka, Bangladesh. *Journal of the American Mosquito Control Association* 15 (1) 43–47.
- Alto B.W., Muturi E.J., Lampman R.L. (2012) Effects of nutrition and density in *Culex pipiens*. *Med Vet Entomol.* 26(4):396–406.
- Ansari M. A., Razdan R. K., Sreehari U. (2005) Laboratory and field evaluation of hilmilin against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21 (4) 432–436.
- Ayesa P., Harrington L., Scott J. (2006) Evaluation of novel insecticides for control of dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 43: 55–60.
- Becker N., Petric D., Zgomba M. (2003) Mosquitoes and their control. *Kluwer Academic Plenum Publishers*, p 213–230.
- Bellini R., Albieri A., Carrieri M., Colonna R., Donati L., Magnani M., Pilani R., Veronesi R., Chiot G., Lanza N. (2009) Efficacy and lasting activity of four IGRs formulations against mosquitoes in catch basins of northern Italy. *European Mosquito Bulletin*, 27, 33–46.
- Berry-Cabán, C.S. (2011) DDT and silent spring: fifty years after. *J. Mil. Vet. Health* 19 (4), 19–24.

- Berticat C., Bonnet J., Duchon S., Agnew P., Weill M., Corbel V. (2008) Costs and benefits of multiple resistance to insecticides for *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *BMC Evolutionary Biology* 8, 104.
- Bradley, G.H. (1966) A review of malaria control and eradication in the U.S. *Mosq. News* 26 (4), 462–470.
- Brillinger D.R., Bryant H.L. and Segundo J.P. (1976) Identification of synaptic interactions. *Biol.Cybernetics* 35, 213-228.
- Busvine J.R. (1967) Insecticide-resistance in *Culex pipiens fatigans*. *Bull Wld Org* 37:287-92.
- Caixeta E.S., Silva C.F., Santos V.S., Olegário de Campos Júnior E., Pereira B.B. (2016) Ecotoxicological assessment of pyriproxyfen under environmentally realistic exposure conditions of integrated vector management for *Aedes aegypti* control in Brazil. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 79 (18) 799-803.
- Capinera J. (2008) *Encyclopedia of Entomology*. Springer, Dordrecht, p 2042.
- Cetin H., Yanikoglu A., Cilek J.E. (2006) Efficacy of diflubenzuron, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens* larvae in septic tank water. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22 (2) 343-345.
- Dickinson K., Paskewitz S. (2012) Willingness to Pay for Mosquito Control: How important is West Nile Virus Risk Compared to the Nuisance of Mosquitoes? *Vetor Borne Zoonotic Dis* 10:886-92.
- Djordjević M, Stajković N, Pešić B. (2014) Detection of West Nile virus from mosquito *Culex pipiens* (fam:Culicidae) in Belgrade, Serbia 2012–2013 [abstract]. *Book of Abstracts, International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna, Austria* 22:177.
- Dorbat W., Martin A. (1998) *CIPAC Handbook Volume H. Analysis of technical and formulated pesticides*. CIPAC Limited, pp 141-146.
- Dorbat W., Martin A. (2000) *CIPAC Handbook Volume M. Physico-chemical methods for technical and formulated pesticides*. CIPAC Limited. p 181.
- Douris V., Steinbach D., Panteleri R., Livadaras I., Pickett J.A., Van Leeuwen T., Nauen R., Vontas J. (2016) Resistance mutation conserved between insects

- and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 20;113(51):14692-14697.
- Đorđević M., Mirilović M., Stajković N., Janković Lj., Pešić B., Bokonjić D., Đurić S. (2015) Statistical Evaluation of the Larvicidal Effect of diflubenzuron on *Culex Pipiens* larval stages. *Acta Veterinaria-Beograd* 65 (4) 496-509.
- Fotakis EA, Mastrantonio V, Grigoraki L, Porretta D, Puggioli A, Chaskopoulou A, Osório H, Weill M, Bellini R, Urbanelli S, Vontas J. (2020) Identification and detection of a novel point mutation in the Chitin Synthase gene of *Culex pipiens* associated with diflubenzuron resistance. *PLoS Negl Trop Dis*. May 1;14(5):e0008284.
- Foy C.L., Pritchard D.W. (1996) Pesticide formulation and adjuvant technology. CRC Press, Boca Raton, FL, p 384.
- George N., Sujatha C.H., Kalyanasundaram M. (1987) Controlled release formulation of mosquito larvicide with biodegradable ingredients. *Indian J Med Res*. 86:728-32.
- Güereña-Burgueño, F. (2002) The centennial of the Yellow Fever Commission and the use of informed consent in medical research. *Salud Publica Mex*. 44 (2), 140-144.
- Gullan P.J., Cranston P.S. (2014) *The Insects*. 5th edition Blackwell Publishing. p 280.
- Günay F., Picard M., Robert V. (2020). MosKeyTool, an interactive identification key for mosquitoes of Euro-Mediterranean. Version 2.2. Available at <http://medilabsecure.com/moskeytool>. Last update: 30/07/2020.
- Hargrove J., Langley P. (1993) A field trial of pyriproxyfen-treated targets as an alternative method for controlling tsetse (Diptera: Glossinidae). *Bulletin of Entomological Research* 83 (3) 361-368.
- Hatakoshi M., Agui N., Nakayama I. (1986) 2-[1-Methyl-2(4-phenoxyphenoxy)ethoxy] pyridine as a new insect juvenile hormone analogue: Induction of supernumerary larvae in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology* 21 (2) 351-353.
- Hatakoshi M., Shono Y., Yamamoto H., Hirano M. (1991) Effects of a juvenile hormone analogue pyriproxyfen on *Myzus persicae* and *Unaspis yanonensis*. *Applied Entomology and Zoology* 26 (3) 412-414.

- Hayes E.B., Koman N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O Leary D.R., Campbell G.L. (2005) Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerg Infect Dis*, 11:1167 - 73.
- Higley L.G., Karr L.L., Pedigo L.P. (1989) Manual of entomology and pest management. Macmillan Publishing Company, New York, NY, p 282.
- Hirano M., Hatakoshi M., Kawada H., Takimoto Y. (1998) Pyriproxyfen and other juvenile hormone analogues. *Reviews in Toxicology* 2 357–394.
- Invest J.F., Lucas J.R. (2008) Pyriproxyfen as a mosquito larvicide. Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests William H Robinson and Dániel Bajomi (editors). Printed by OOK-Press Kft., H-8200 Veszprém, Pápai út 37/a, Hungary.
- Jambulingam P., Sadanandane C., Boopathi Doss P.S., Subramanian S., Zaim M. (2008) Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen 0.5% GR against *Culex quinquefasciatus*, the vector of Bancroftian filariasis in Pondicherry, India. *Acta Tropica* 107 (1) 20-24.
- Kamimura K., Arakawa R. (1991) Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Culex pipiens pallens* and *Culex tritaeniorhynchus*. *Medical Entomology and Zoology* 42 (3) 249-254.
- Killeen G. F., Fillinger U. & Knols B.G.J. (2002a) Advantages of larval control for African malaria vectors: low mobility and behavioural responsiveness of immature mosquito stages allow high effective coverage. *Malaria Journal* , 1 (8), 1 – 7.
- Killeen G.F., Fillinger U., Kiche I., Gouagna L.C., Knols B.G. (2002) Eradication of *Anopheles gambiae* from Brazil: lessons for malaria control in Africa? *Lancet Infect Dis*. Oct;2(10):618-27.
- Kioulos I., Kampouraki A., Morou E., Skavdis G., Vontas J. (2013) Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. *Pest Management Science* 70 (4) 623-627.
- Lee D. (2002) Mosquito control evaluations of an insect growth regulator, pyriproxyfen against *Culex pipiens pallens* (Diptera, Culicidae) larvae in Marsh Area, Korea. *Korean Journal of Entomology* 32 (1) 37- 41.
- Marcombe S., Darriet F., Agnew P., Etienne M., Yp-Tcha M.M., Yebakima A., Corbel V. (2011) Field efficacy of new larvicides products, for control of multi

- resistant *Aedes aegypti* populations in Martinique (French west Indies). *Am J Trop Med Hyg* 84:118–126.
- Matsumura, Fumio. (2010) Studies on the action mechanism of benzoylurea insecticides to inhibit the process of chitin synthesis in insects: A review on the status of research activities in the past, the present and the future prospects. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 97. 133-139.
- MediLabSecure 2018 - <https://www.medilabsecure.com/moskeytool.html>
- Medlock J., Ballenghien T., Alten B., Versteuert V., Schaffner F. (2018) Field sampling methods for mosquitoes, sandflies, biting midges and ticks. VectorNet project 2014–2018. doi: 10.2900/416333.
- Mendoza F., Ibáñez-Bernal S., Cabrero-Sañudo F.J. (2008) A standardized sampling method to estimate mosquito richness and abundance for research and public health surveillance programmes. *Bull Entomol Res*. 98(4):323-32.
- Mian L., Dhillon M., Dodson L. (2017) Field Evaluation of pyriproxyfen against mosquitoes in Catch Basins in Southern California. *Journal of the American Mosquito Control Association* 33 (2) 145-147.
- Mian L.S., Mulla M.S. (1982) Biological and environmental dynamics of insect growth regulators (IGRs) as used against Diptera of public health importance. *Residue Reviews* 84: 27–112.
- Mitchell C.J., Briegel H. (1989) Inability of diapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to use blood for producing lipid reserves for overwinter survival. *Journal of Medical Entomology* 26 (4) 318–326.
- Mitsui T., Akazawa T., Christeller J.T., Tartakoff A.M. (1985) Biosynthesis of rice seed alpha-amylase: two pathways of amylase secretion by the scutellum. *Arch Biochem Biophys*. Aug 15;241(1):315-28. doi: 10.1016/0003-9861(85)90388-1. PMID: 3875316.
- Moh Seng C., Setha T., Chanta N., Socheat D., Guillet P. and Nathan M.B. (2006) Inhibition of adult emergence of *Aedes aegypti* in simulated domestic water-storage containers by using a controlled release formulation of pyriproxyfen. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* 22(1): 152-154.

- Msangi S., Lyatuu E., Kweka E.J. (2011) Field and laboratory evaluation of bioefficacy of an insect growth regulator (Dimilin) as a larvicide against mosquito and housefly larvae. *Journal of Tropical Medicine* Article ID 394541, 8 pages, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/394541>
- Mulder R. and Gijswijt M.J. (1973) The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. *Pestic. Sci.*, 4: 737-745. <https://doi.org/10.1002/ps.2780040516>
- Mulla M.S., Darwazeh H.A. (1988) Efficacy of new insect growth regulators against mosquito larvae in dairy wastewater lagoons. *Journal of the American Mosquito Control Association* 4 (3) 322-325.
- Mulla M.S., Thavara U., Tawatsin A., Chompoorsi J., Zaim M., Su T. (2003) Laboratory and field evaluation of novaluron, a new acylurea insect growth regulator, against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology* 28 (2) 241-254.
- Nayar J.K., Ali A., Zaim M. (2002) Effectiveness and residual activity comparison of granular formulations of insect growth regulators pyriproxyfen and S-methoprene against Florida mosquitoes in laboratory and outdoor conditions. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18, 196-201.
- Niessen HJ. (1975) Importance of storage stability studies in the development of pesticide formulations. *Pesticide Science* 6 (2) 181-188.
- OECD Draft Guidance Document for Storage Stability Testing of Plant Protection and Biocidal. 2015.
[www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2015\)32&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2015)32&doclanguage=en) Guidance Document. Accessed 15. Jan 2018.
- Orlob G.B. (1973) Ancient and medieval plant pathology, *Pflanzenschutz-Nachrichten* 26: 65-294
- Pampiglione S., Canestri Trotti G., Rivasi F. (1995) Human dirofilariasis due to *Dirofilaria immitis* (Noctuidae) repens: a review of world literature. *Parassitologia* 37:149-93.

- Patterson GM. (2016) Looking Backward, Looking Forward: The Long, Torturous Struggle with Mosquitoes. *Insects*. Oct 19;7(4):56.
- Paul A., Harrington L.C., Zhang L., Scott J.G. (2005) Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. *J Am Mosq ConttolAssoc*, 21:305-9.
- Pavela R., Maggi F., Iannarelli R., Benelli G. (2019) Plant extracts for developing mosquito larvicides: From laboratory to the field, with insights on the modes of action. *Acta Trop*. 193:236-271.
- Petrić D., Pajović I., Ignjatović Ćupina A., Zgomba M. (2001) *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) new mosquito species (Diptera, Culicidae) in entomofauna of Yugoslavia. Abstract of Symposia of the entomologists of Serbia, Goč, Republc of Serbia, 26-27.
- Petrić D., Zgomba M., Ignjatović Ćupina A., Marinković D., Bellini R., Schaffner F., Pajović I. (2012) Invasive mosquito species in europe and serbia, 1979 – 2011. International Symposium: Current Trends in Plant Protection Proceedings, Belgrade 2012. 496-505.
- Porretta D., Fotakis E.A., Mastrantonio V., Chaskopoulou A., Michaelakis A., Kioulos I., Weill M., Urbanelli S., Vontas J., Bellini R. (2019) Focal distribution of diflubenzuron resistance mutations in *Culex pipiens* mosquitoes from Northern Italy. *Acta Tropica* 193: 106-112.
- Prasad M.P., Rajendran G., Sabesan S., Kalyanasundaram M. (1997) Field evaluation of biodegradable controlled release formulation of fenthion against *Mansonia* mosquitos. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 28(1):208-11.
- Prato M., Polimeni M., Giribaldi G. (2013) DDT as an Anti-Malaria Tool: The Bull in the China Shop of the Elephant in the Room? *Intech Open Access Publisher*, pp. 333–364.
- Receveur J.P., Pechal J.L., Benbow M.E., Donato G., Rainey T., Wallace J.R. (2018) Changes in larval mosquito microbiota reveal non-target effects of insecticide treatments in Hurricane-Created Habitats. *Microbial Ecology* 76 (3) 719-728.

- Roy A., Singh S.K., Bajpai J., Bajpai A.K. (2014) Controlled pesticide release from biodegradable polymers. [*Central European Journal of Chemistry*](#) 12 (4) 453–469.
- Rozendaal J . A . (1997) Vector Control: Methods for Use by Individuals and Communities World Health Organization , Geneva.
- Russell, P.F. (1955). Man's mastery of malaria. In: Man's Mastery of Malaria. Oxford University Press, London.
- Sadanandane C., Boopathi Doss P.S., Jambulingam P. (2012) Efficacy of three formulations of diflubenzuron, an insect growth regulator, against *Culex quinquefasciatus* Say, the vector of Bancroftian filariasis in India. *Indian Journal of Medical Research* 136 (5) 783-791.
- Schleissmann, D.J. (1964) The *Aedes aegypti* eradication program of the U.S. Mosq. News 24 (2), 124–132.
- Schleissmann, D.J., Calheiros, L.B. (1974) A review of the status of yellow fever and *Aedes aegypti* eradication programs in the Americas. Mosq. News 34, 1–9.
- Seccacini E., Lucia A., Harburguer L., Zerba E., Licastro S., Masuh H. (2008) Effectiveness of pyriproxyfen and diflubenzuron formulations as larvicides against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 24 (3) 398–403.
- Simmons, S.W., Upholt, W.M. (1951) Disease control with insecticides: a review of the literature. Bull. World Health Organ. 3 (4), 535–556.
- Smith, J. (1904) Report of the New Jersey Agricultural Experiment Station Upon Mosquitoes Occurring within the State, Their Habits, Life History, etc.; Report of the New Jersey Agricultural Experiment Station Trenton; MacCrellish & Quigley, State Printers: Trenton, NJ, USA. p.565
- Stajković N., Matic S., Antonović S. (1991) The Species of Anopheles and Their Sensitivity Insecticides. *Pesticidi* 6:97-104.
- Stapleton, D.H. (2004) Lessons of history? Anti-malaria strategies of the International Health Board and the Rockefeller Foundation from the 1920s to the era of DDT. *Public Health Rep.* 119 (2), 206–215.
- Stevens K., Pereira R., Koehler P. (2019) Mosquitocidal chips containing the insect growth regulator pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera:

Culicidae). *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16 (12) 2152.

Streubel A., Siepmann J., Bodmeier R. (2003) Floating matrix tablets based on low density foam powder: effects of formulation and processing parameters on drug release. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 18 (1) 137–145.

Tilak R., Wankhede U., Mukherjee R. (2022) Novel pyriproxyfen based treatment for Aedes breeding control through a long-lasting formulation: Laboratory and field trials in Western Maharashtra, India. *J Vector Borne Dis.* 59(3):293-297.

Tomlin, C. D. S. (2006) *The Pesticide Manual, A World Compendium: Bacillus thuringiensis*, 14th ed.; British Crop Protection Council: Hampshire, UK, , pp 58-62.

Tusting L.S., Thwing J., Sinclair D., Fillinger U., Gimnig J., Bonner K.E., Bottomley C., Lindsay S.W. (2013). Mosquito larval source management for controlling malaria. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 29 2013 (8) CD008923.

Vincent J.F., Wegst UG. (2004) Design and mechanical properties of insect cuticle. *Arthropod Struct Dev.* Jul;33(3):187-99. doi: 10.1016/j.asd.2004.05.006. PMID: 18089034.

Vujić A., Stefanović A., Dragičević I., Matijević T., Pejčić L., Knežević M., Krašić D. and Veselić S. (2010) Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes (diptera: Culicidae) in flooded areas of Vojvodina, Serbia. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 62 (4), 1191-1206.

Walker K., Lynch M. (2007) Contributions of Anopheles larval control to malaria suppression in tropical Africa: review of achievements and potential. *Med Vet Entomol.* Mar;21(1):2-21.

[WHO \(2005\) Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides.](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP%202005.13.pdf)

Dostupan na:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP%202005.13.pdf

WHO (2005) Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Geneva: WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.

- WHO (2013) Larval Source Management - A supplementary measure for malaria vector control-An Operational Manual. Dostupan na: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/304899/retrieve>
- WHOPES (2013). Recommended compounds and formulations for control of mosquito larvae. Dostupno na: http://www.hygiene-publique.gov.pf/IMG/pdf/recommandations_oms_larvicides_moustiques_oct_2013.pdf
- Wickham H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wilkerson R., Linton Y.M, Fonseca D., Schultz T., Price D., Strickman D. (2015) Making mosquito taxonomy useful: A stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. PLoS One. 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone>.
- World Malaria Report 2010. Geneva, World Health Organization, 2008. http://who.int/malaria/world_malaria_report_2010/
- Xue R.D., Qualls W.A. (2013) Larvicidal activity of synthetic disinfectants and antibacterial soaps against mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 50(1):137-9.
- Yiğit N., Yazıcı E., Gül N., Saygılı F., Bayramoğlu D., Çetintürk D., Eskizengin H. (2019) Residual efficacy of diflubenzuron on mosquito larvae around Ankara province in Turkey. *Acta Biologica Turcica* 32 (2) 70-73.

Biografija

Branislav Pešić je rođen 12.04.1983. godine u Beogradu, Republika Srbija. Osnovnu školu "Užička republika" (1990-1998) završio je u Beogradu. Poljoprivrednu školu sa domom učenika PK "Beograd", smer veterinarski tehničar (1998-2002) završava sa odličnim uspehom. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu upisao je školske 2003/2004. godine, a diplomirao 2010. godine, sa prosečnom ocenom 9,06 (devet i 6/100). Doktorske akademske studije na Fakultetu veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu upiso je školske 2010/2011. godine i položio sve ispite predviđene planom i programom doktorskih akademskih studija, sa prosečnom ocenom 9,11 (devet i 11/100). Od 2012. godine zaposlen kao veterinar istraživač u Zavodu za biocide i medicinsku ekologiju, 2013. godine unapređen u koordinatora programskih aktivnosti, a od 2016. – 2019. godine obavljao poslove pomoćnika direktora za programske aktivnosti i istraživanje i razvoj biocidnih proizvoda. Od 2019. do danas zaposlen u JKP "Gradska čistoća", a od 2021. godine i kao stručni konsultant u Agrounik d.o.o.

Kao autor ili koautor do sada je objavio veći broj radova od kojih je 5 radova u časopisima međunarodnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани: Бранислав Р. Пешић

број уписа 2010/5004

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Испитивање утицаја различитих формулација ларвицида на бази дифлубензулона и пирипроксифена у сузбијању ларви комараца *Culex pipiens* L.“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 23.02.2023.

Пешић Бранислав

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Бранислав Р. Пешић

Број уписа 2010/5004

Студијски програм Докторске академске студије

Наслов рада: „Испитивање утицаја различитих формулација ларвицида на бази дифлубензулона и пирипроксифена у сузбијању ларви комараца *Culex pipiens L.*“

Ментор: Др Милутин Ђорђевић, редовни професор

Потписани: Бранислав Р. Пешић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 23.02.2023.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање утицаја различитих формулација ларвицида на бази дифлубензулона и пирипроксифена у сузбијању ларви комараца *Culex pipiens* L.“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
- ☒ 3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 23.02.2023.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.