

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Датум и орган који је именовано комисију Комисија је именована 30. 04. 2010. године од стране Наставно-научног већа Пољопривредног факултета, Универзитет у Новом Саду
2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: Ментор: Проф. Др. Марија Згомба, редовни професор за ужу н.о. Фитофармација, 29.06.2001. године, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Департман за фитомедицину и заштиту животне средине Чланови: Проф. Др. Душан Петрић, редовни професор за ужу н.о. Ентомологија, 15.11.1999. године, Пољопривредни факултет, Нови Сад, Департман за фитомедицину и заштиту животне средине Др. Петар Кљајић, научни саветник за ужу н.о. Фитофармација, 27.06.2012. Институт за пестициде и заштиту животне средине, Земун
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: ДУШАН Стојан МАРИНКОВИЋ
2. Датум рођења, општина, република: 01. 10. 1975. године, Нови Сад, Нови Сад, Србија
3. Назив факултета, назив студијског програма, дипломских академских студија-мастер и стечени стручни назив
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2008. године, Фитофармација
5. Назив факултета, назив магистратске тезе, научна област и датум одбране Пољопривредни факултет, Нови Сад; „Креирање модела за праћење биолошке ефикасности третмана намењених сузбијању комараца“; 10.07.2008. године
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука Пољопривредне науке, у.н.о. Фитофармација
III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:
ПОТЕНЦИЈАЛ ХОРИЗОНТАЛНОГ ПРЕНОСА ПИРИПРОКСИФЕНА У СУЗБИЈАЊУ КУЋНОГ КОМАРЦА <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>
IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ: Навести кратак садржај са знаком броја страна поглавља, слика, шема, графикона и сл.
Мр Душан Маринковић написао је дисертацију на 152 стране компјутером писаног текста. Дисертација садржи 66 табела, 54 слика и 141 навод литературе. На српском и енглеском језику има извод, кључне речи и УДК број. Рад садржи следећа поглавља: Увод, Преглед досадашњих истраживања, Контрола комараца, Инсектициди, Пирипроксифен, Материјал и методе рада, Резултати истраживања, Дискусија, Закључци и Литература. На крају дисертације се налази биографија кандидата.
V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:
Увод У уводу, кандидат износи податке о значају коришћења пирипроксифена (регулатора развоја инсеката) у контроли великог броја врста комараца на различитим типовима станишта, и његовом минималном утицају на корисну ентомофауну. Позитивни ефекти деловања пирипроксифена на јувенилне развојне стадијуме комарце утицали су на развијање различитих метода апликације у водену средину, као основног станишта

комараца за пре терестичну фазу развоја одраслих форми. Кандидат у уводном делу даје кратак опис методе хоризонталног трансфера пирипроксифена уз помоћ женки комараца приликом којег се остварује значајна ефикасност при сузбијању јаја/ларви/лутки комараца у мањим и тешко доступним воденим реципијентима. Унапређење методе хоризонталног трансфера пирипроксифена у будућности могла би да допринесе значајном смањеном векторског и молестантског потенцијала комараца из рода *Culex* као и комараца из других родова који имају сличан начин развића у нашем поднебљу или интродукованих инвазивних врста у региону који због векторског капацитета представљају значану претњу по здравље људи.

Преглед литературе

Кандидат, мр Душан Маринковић, проучио је велики број литературних извора који су у директној или индиректној вези са проблематиком истраживања која је недовољно проучена за врсту кућног комарца *Culex pipiens pipiens* биотип *molestus* како код нас тако и у свету. Преглед литературе је обрађен тематски, по целинама са увидом у досадашња истраживања везана за испитивање биолошке ефикасности активне материје пирипроксифена, као и њеног начина употребе у потенцијалном хоризонталном трансферу. Литература коју је кандидат проучио и приказао, добар је основ и пружа могућност за јасно тумачење сопствених резултата као и поређење са малобројним резултатима других аутора који су радили на сличној проблематици.

Радна хипотеза

Будући да је тренутно немогуће предвидети дугорочне последице изложености човека различитим синтетичким једињењима, укључујући ту и биоциде који се користе у програмима контроле и сузбијања комараца, неопходно је креирати стратегије која ће у значајној мери смањити број апликација како конвенционалних ларвицида, тако и биолошких препарата, како због екотоксиколошких ефеката, тако и због рационалних, економски оправданих третмана. Правовременом апликацијом и могућношћу хоризонталног трансфера активне материје пирипроксифена, значајно би се редуковала употреба биоцида. Дакле, на тај начин би се бројност комараца свела на толерантни ниво, смањила би се контаминација животне средине, у великој мери очувала корисна ентомофана и подигао квалитет живота људи. Способност да се проблеми уоче, дефинишу и анализирају, омогућили су кандидату да коректно постави хипотезу и њеним тестирањем реализује постављене циљеве истраживања.

Материјал и методе рада

Одрасли комарци који су коришћени за формирање колоније, прикупљени су помоћу клопке домаће производње, тип NS-2. Сакупљени комарци користили су се да би се формирала колонија комараца, која је била неопходна због континуираног добијања свих развојних стадијума развића комараца за експериментална истраживања. Комарци ове колоније, која је била изолована од потенцијалног контакта са биолошким или хемијским агенсима који би могли утицати на добијање реалних резултата о ефекту пирипроксифена на морталитет комараца, представљали су стабилни извор како јувенилних, тако и одраслих форми.

Током биолошких истраживања коришћен је аналитички стандардни пирипроксифен, чистоће 99.5% (Bayer) у формулацији прашива. Хидрофобност активне материје иницирала је креирање основног раствора пирипроксифена у ацетону који је даље омогућио апликацију и оцену биолошке ефикасности испитиване материје у воденој средини. Основни раствор (сток) масене концентрације 0.594 mg/ml добијен је растварањем 15 mg аналитичког стандарда пирипроксифена у 25 mg ацетона. Методе рада одабране су и праћене на начин који би омогућио сукцесивно/хронолошко утврђивање деловања пирипроксифена у свим развојним стадијумима развића комараца у складу са савременим, стандардним и научно признатим методама. Примењене су одговарајуће статистичке методе за обраду података и коначну припрему, анализу и презентацију резултата истраживања.

Резултати истраживања

У овом поглављу, дат је детаљан, хронолошки приказ резултата истраживања. На основу добијених резултата може се закључити да концентрације пирипроксифена од 0.0001, 0.001, 0.002, 0.007, 0.01, 0.025, 0.05 ppm проузрокују морталитет ларви у периоду од 5 до 8 дана. У том интервалу просечно у једном дану угине од 12-20% од укупног броја третираних ларви. У већини испитиваних концентрација највећи морталитет ларви био је забележен током првог и другог дана. За разлику од нижих концентрација, више 0.075, 0.1 и 1 ppm проузрокују морталитет ларви у току прва три пост третман дана. Током истраживаног периода, у оценама степена морталитета, првог пост третман дана регистрован је највиши морталитет. Добијени резултати указују да би се пирипроксифен нижих концентрација у будућности могао користити за контролу комараца нижих ларвених ступњева, када постоје временски услови које дозвољавају дужи

временски период деловања пирипроксифена, односно, да су постигнуте вредности за степен ефикасности у негативној корелацији када са апликацијом овог једињења на старије ларвене ступњеве комараца.

Из резултата истраживања ефекта пирипроксифена различитих концентрација на ларве *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, у овом докторату утврђено је да након трећег дана после апликације овог једињења ни у једном од узорака са различитом концентрацијом пирипроксифена није преостало више од 10% живих ларви комараца. Експерименти са највишим концентрацијама пирипроксифена демострирали су да након трећег пост третман дана није преживела ни једна ларва комараца. Добијени резултати о ефикасности деловања пирипроксифена на ларве *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* испољавају значајну ефикасност деловања активне материје пирипроксифена у веома кратком временском периоду, што представља значајан допринос у програмима контроле комараца. Статистички значајне разлике су у великој мери потврђене у резултатима добијеним за апликације овог регулатора рста када је примењен у вишим и нижим концентрацијама.

Резултати истраживања ефекта различитих концентрација пирипроксифена на јаја *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* посматрали су се у односу на број еклодираних и нееклодираних јаја по јајном леглу, претпостављајући да ће ефекат пирипроксифена на јаја као резултат имати већи број нееклодираних јаја него у контролним узорцима без третирања пирипроксифеном. Истраживањем у оквиру ове тезе утврђена је тенденција повећања процента нееклодираних јаја у складу са повећањем концентрације пирипроксифена, односно позитивна корелација концентрације и деловања на ембрионални развој. Даља тенденција доказивања ефекта различитих концентрација пирипроксифена на јаја утврђивана је анализом разлика у пропорцијама нееклодираних јаја у односу на примењену концентрацију пирипроксифена. Добијени резултати демонстрирају да је концентрација од 1 ppm показала најбољи ефекат на повећање инхибиције пиљења ларви за врсту *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*.

Резултати везани за хоризонтални трансфер пирипроксифена приказани у овом раду дају податаке који су добијени када су женке комараца *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* биле изложене деловању овог регулатора развоја инсеката на влажној и сувој подлози. Према добијеним и анализираним резултатима, када је примењена статистичка обрада у оквиру *t*-теста прихвата се хипотеза да су разлике у просечним количинама пренесеног пирипроксифена са влажне и суве подлоге статистички значајне ($t = 7.584, p < 0.001$). С обзиром на овакаве резултате и обраде података овом статистичком методом, можемо рећи да ће комарци експонирани деловању пирипроксифена у трајању од 10 минута са влажне подлоге третиране са 1 ppm пирипроксифена пренети између 0.117-0.0147 ppm, док ће са суве подлоге пренети између 0.062-0.0074 ppm овог једињења.

У току овог истраживања прихваћена је хипотеза да разлике у просечном броју јаја женки које су биле експонирани концентрацији пирипроксифена од 1 ppm на влажној и сувој подлози нису статистички значајне ($t = -1129, p = 0.266$). Иако се није уочила статистички значајна разлика између подлога на којима је био нанесен пирипроксифен, статистички посматрано, када би се број понављања (број комараца који је коришћен у хоризонталном трансферу) повећао и на једној и на другој подлози, постоји реално очекивање да би се између подлога уочиле значајне разлике.

На основу доступне литературе, добијени резултати из овог рада представљају прво истраживање о ефекту пирипроксифена на ларве и одрасле форме комараца врсте *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*. Коришћење gravidних женки у хоризонталном трансферу пирипроксифена на потенцијална места овипозиције у воденом медију, резултирало би инхибицијом пиљења односно спречавању појаве одраслих форми комараца *Cx. p. pipiens* biotip *molestus*, који су познати као велики молестанти. Ово истраживање идентификовало је пирипроксифен као ларвицид који има потенцијал у развоју нових могућности сузбијања популација различитих врста комараца, међу којима је и кућни комарац *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* који је доминантна врста у урбаној средини.

Дискусија

У поглављу Дискусија, детаљно су анализирани остварени резултати истраживања и упоређени са резултатима других аутора који се баве сличном проблематиком, иако је доступна литература за овај тематски оквир, релативно малобројна.

Добијени резултати током наших истраживања потенцијала хоризонталног преноса пирипроксифена у сузбијању кућног комараца *Cx. p. pipiens* biotip *molestus* указују да би имплементација пирипроксифена у програме контроле и сузбијања комараца у урбаним зонама, као и у еколошки значајним стаништима, била оправдана. Поред утврђеног нивоа ефикасности неопходно је било утврдити тачну концентрацију препарата која би у хоризонталном трансферу била довољна за инхибицију развоја ларви односно лутки. Ефекат пирипроксифена, односно степен биолошке ефикасности који се реперкутује у коначном исходу на удео формираних одраслих форми комараца у односу на третирану популацију ларви, не може се одређивати само количином или бројношћу угинулих ларви и лутки, него и бројем одраслих комараца који су у потпуности завршили свој животни циклус. Деловањем различитих концентрација пирипроксифена на ларве и лутке комараца доводи до интересантних размишљања на тему деловања различитих концентрација пирипроксифена и на јаја комараца која су саставни дио животног циклуса комараца који је везан за водену средину. Одређене количине пренесеног пирипроксифена и број женки који је довољан да пренесе

одређену количину пирипроксифена у процесу хоризонталног трансфера, у поређењу са количинама ларвицида које су примењене јесте занемарљив, али истраживања показују да су те количине ипак довољне да онемогуће развој ларви комараца. На основу тога, можемо да твдимо да је мали број женки и мала количина пренетог пирипроксифена у хоризонталном трансферу, има значајну улогу у контроли бројности ове врсте комараца на тешко доступним местима у урбаним срединама. Увођењем оваквог начина сузбијања значајно би се смањивао биолошки потенцијал комараца како молестаната тако и вектора различитих оболења. Примена пирипроксифена у програмима контроле бројности комараца утицала би у знатној мери и на економске аспекте мера у оквиру програма сузбијања комараца. Пирипроксифен због дужине деловања испољава високу ефикасност и по неколико недеља. Ово би омогућило смањење броја третмана у поређењу са применом како конвенционалних тако и биолошких ларвицида, а пре свега на местима развоја урбаних комараца где често услед трајних изворишта и повољних услова развоја (температура воде) долази до континуираног полагања јаја, преклапања и формирања више генерација током сезоне.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

уз напомену:

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

Часопи међународног значаја верификованог посебном одлуком (M 24)

1. Bursić V., Vuković G., Marinkovic D., Cara M., Zeremski T., Jelicic-Marlnkovic T, Zgomba M., Comparison of HPLC-DAD and LC-MS/MS for the determination and validation of pyriproxifen in water solutions. First International "Biotechnology in Agriculture" at Agricultural University of Tirana Albania, Abstract book (poster presentation). (22- 23 April 2014), ISBN: 978-9928-4217-0-8 (M 24= 3)

УКУПНО=3

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Истраживањем феномена могућег преношења инхибиторних својства биоцида, који припада групи регулатора раста инсеката (активна материја пирипроксифен), на јувенилне стадијуме развоја, преко одраслих женки комараца у оквиру докторске дисертације, рађено је поступком утврђивања степена биолошке ефикасности на ларве и преко оцене успешности/степену пиљења јаја врсте *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus*.

Женке комараца захваљујући урођеном понашању доласка на водену површину због полагања јаја, тарзусом остварују контакт са површином воде. У току истраживања, која су предмет ове дисертације, женке комараца су експонирале деловању пирипроксифена који је био нанешен на чврсту подлогу са које су женке на својим тарзусима контактом покупили и пренели пирипроксифен одређене концентрације до акватичних средина које представљају изворишта ларви. У даљем поступку, праћен је ниво/количина пренетог пирипроксифена у води у којој се даље регистровао и анализирао ефекат деловања хоризонталног трансфера пирипроксифена на ларве и јаја која су се налазила у наведеним воденим срединама.

Из истраживања које је дало могућност утврђивања нивоа деловања пирипроксифена у оквиру јувенилних стадијума и степена ефикасности на поједине развојне стадијуме у акватичној средини могу се извести следећи закључци:

Повећањем концентрације пирипроксифена не долази до повећања морталитета ларви, али је при вишим концентрацијама забележен већи морталитет у краћем временском периоду. У концентрацијама нижих вредности, закључно са 0.025 ppm, као и између виших нивоа концентрација, од 0,025 до 1,0 ppm, нема значајних разлика. Очекивало се да ће концентрација од 1 ppm имати најбољи ефекат на морталитет ларви комараца, док су резултати показали да су посматране концентрације од 0.0075 и 0.1 ppm имале исти ниво ефикасност као и највиша испитивана концентрација (1ppm). Дакле, повећање концентрације пирипроксифена изнад 0.05 ppm није имало као резултат значајно већи морталитет ларви комараца након првог дана извођења експеримента. Иницијална оцена биолошке ефикасности свих примењених концентрација пирипроксифена, која је рађена 24 часа после апликације, проузроковала је морталитет у вредностима $\geq 90\%$ од укупног броја експонираних ларви комараца. Статистичком анализом утврђен је најбољи ефекат на морталитет ларви комараца врсте *Culex pipiens pipiens* biotip *molestus* када је пирипроксифен примењен у концентрацији 0.05 ppm.

Хипотеза којом је очекивано да ће повећањем концентрације пирипроксифена у воденом раствору довести до смањеног броја јаја у јајном леглу, експериментално и статистички је потврђена. Резултати указују на тенденцију повећања процента затворених, нефункционалних јаја са повећањем примењене концентрације пирипроксифена.

Концентрација од 1 ppm није показала статистички значајну разлику у односу на друге испитиване

<p>концентрације пирипроксифена приликом тестирања ефеката деловања на морталитет ларви, али је показала најбољи ефекат на повећање инхибиције пиљења ларви за врсту <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i>.</p> <p>На основу једначине математичког модела, израчуната је потенцијална концентрација пирипроксифена која ће као резултат имати 100% ефекат на инхибицију пиљења ларви из јаја у леглу. Вредност за концентрацију пирипроксифена по овом моделу је 15,23 ppm.</p> <p>Женке комараца експонирани деловању пирипроксифена у трајању од 10 минута са влажне подлоге третиране са 1 ppm пирипроксифена, током хоризонталног трансфера пренеће просечно 0.13 ppm, док ће са суве подлоге пренети просечно 0.06 ppm овог једињења. Истраживање је потврдило хипотезу да разлике у просечном броју испиљених јаја положених од стране женки које су на својим тарзусима покупиле молекуле пирипроксифена у концентрацији од 1 ppm са влажне, односно суве подлоге нису биле статистички значајне.</p> <p>Увођење овог ларвицида у сваку изворишну зону помоћу женки комараца као преносиоца у процесу хоризонталног трансфера, могло би да представља основу нових, савременијих програма сузбијања комараца у урбаним и семи урбаним подручјима.</p>
<p>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</p> <p>НАПОМЕНА: Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p> <p>Резултати истраживања су адекватно приказани и протумачени и у складу су са задатком и циљевима истраживања наведених у радној хипотези. Резултати одређивања ефикасности пирипроксифена на јувенилне фазе развоја врсте <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i> су табеларно и графички приказани хронолошким редом, јасно систематизовани уз употребу адекватних статистичких метода анализе добијених података. Остварени резултати истраживања су дискутовани и упоређени са резултатима других аутора из области, исте или сличне проблематике.</p>
<p>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</p> <p>НАПОМЕНА:</p> <p>Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање.</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме Дисертација је написана сагласно образложењу у Пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе Дисертација садржи све битне елементе.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>У климатским условима нашег подневља уз прихватање чињенице глобалног загревања, промене средњих годишњих температура и хидро режима како река тако и атмосферских падавина долази до ширења ареала појединих врста комараца. Врсте које су некада биле везане искључиво за тропска подручја или регионе мањих географских ширина, померају своју дисперзију у северније регионе, тако да је еколошка ниша комараца вектора, врста од медицинског или ветеринарског значаја, знатно проширена. Наведене околности намећу потребу увођења другачијег приступа сузбијања комараца и увођење у програме сузбијања различитих ларвицида, чиме би се повећао ниво контроле њихове бројности. У досадашњим активностима сузбијања комараца и поред укључивања ларвицида, углавном су биле опредељиване мере које припадају конвенционалном типу примене биоцида за контролу бројности одраслих форми комараца. Будући да је тренутно немогуће предвидети дугорочне последице изложености човека различитим синтетичким једињењима, укључујући ту и средства која се користе у програмима контроле и сузбијања комараца, неопходно је креирати стратегије која ће у значајној мери смањити број апликација ларвицида и екотоксиколошки ефекат. Правовременом апликацијом и могућношћу хоризонталног трансфера активне материје пирипроксифена из групе регулатора раста, значајно би се редуковала употреба како биолошких, тако и конвенционалних ларвицида, који су принципијелно кратког деловања. Могућност транспорта перзистентног регулатора раста инсеката путем одраслих женки на место развоја ларви у великој мери отворило би могућност сузбијања комараца у урбаним срединама. На тај начин би се бројност комараца svela на толерантни ниво, смањила би се контаминација животне средине, у великој мери очувала корисна ентомофана и подигао квалитет живота људи. Добијени резултати лако би се могли имплементирати у програм контроле и сузбијања комараца у урбаним зонама. На овај начин континуирано би се смањивао биолошки потенцијал комараца и систематски би се санирала њихова изворишта. Примена регулатора раста инсеката у програмима контроле бројности комараца утицала би у знатној мери на економске ефекте целокупног програма. Регулатори раста овог типа би због своје пезистентности омогућили смањен број третмана у току једне сезоне.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p>
<p>Нису регистровани</p>

X ПРЕДЛОГ:
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
да се докторска дисертација мр Душана Маринковића, под насловом „ ПОТЕНЦИЈАЛ ХОРИЗОНТАЛНОГ ПРЕНОСА ПИРИПРОКСИФЕНА У СУЗБИЈАЊУ КУЋНОГ КОМАРЦА <i>Culex pipiens pipiens</i> biotip <i>molestus</i> “, прихвати, а кандидату одобри одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

**Проф. Др. Марија Згомба, редовни професор, ужа научна област
Фитофармација, Пољопривредни факултет, Нови Сад**

**Проф. Др. Душан Петрић, редовни професор, ужа научна област
Ентомологија, Пољопривредни факултет, Нови Сад**

**Др. Петар Кљајић, научни саветник за ужу н.о. Фитофармација,
Институт за пестициде и заштиту животне средине, Земун**
